

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITÉ SAAD DAHLAB-BLIDA 1



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master dans le domaine SNV

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie

Thème

Profil de résistance des germes isolés de prélèvements hospitaliers et étude de l'activité antimicrobienne de certaines huiles essentielles

Réalisé par :

Date de soutenance : 16/07/2023

- Mlle CHAILI Raounak
- Mr BENKADI Abderrahmane Fouad

Devant le jury :

Nom	Grade/Université	Qualité
Mme CHELGHOUM H.	MCB /USDB1	Présidente
Mme TOUAIBIA M.	MCA/USDB1	Examinatrice
Mme OUAHCHIA C.	MCB/USDB1	Promotrice
Mme HAMAIDI F.	Professeur/USDB1	Co-promotrice

Promotion: 2022/2023

Remerciements

Dans un premier temps, nous remercions le bon dieu le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, la force et surtout la persévérance d'accomplir ce travail et de le mener à terme.

Nous adressons nos sincères remerciements et gratitude à notre chère promotrice **Mme Ouahchia celia** et notre chère Co-promotrice **Mme Hamaidi fella** pour leurs aides, orientations, conseils, encadrement, leur disponibilité et le temps et la confiance qu'elles nous ont accordé pour assurer la réalisation de ce travail.

Nous exprimons nos profonds remerciements à l'ensemble de membre de jury :

Nous tenons a gratifier Mme **Chelghoum** d'avoir accepté de présider le jury de ce travail.

Nous adressons nos vifs remerciements à Mme **Touaibia** pour l'intérêt qu'elle a apporté a notre travail en acceptant de l'examiner.

Nous remercions de tout cœur tout le personnel de laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida, particulièrement le chef service **Mr Tafahi D, Mlle Haci M** et **Mme Benhmed S** pour leur soutien et leur aides.

Nous exprimons notre profonde gratitude aux doctorants **Mlle Henni Z, Mr Boutekfa Y, Mr Sebsi A, Mr Hammedeche A** et **Mme Boulesname** pour leurs conseils et orientations.

Nous tenons également à remercier **Mr AOUED M.** de l'entreprise YAZRO (Tipaza) et **Mr SADOUK M.** du service de la protection des forêts (Tipaza)

Enfin, merci a toutes personnes ayant contribué a la réalisation de ce travail de pré ou de loin, mille merci.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à

Maman chérie, Il est difficile de mettre en mots toute l'affection, l'amour et la gratitude que je ressens envers toi. Tu es la personne qui m'a donné la vie, qui m'a guidé avec amour et qui a façonné la personne que je suis aujourd'hui.

Mon papa chérie, mon idole, ma source d'encouragement et de force, ma fierté, jete dédie ces mots empreints d'amour et de reconnaissance. Tu es bien plus qu'un père pour moi, tu es mon héros, mon guide et ma source d'inspiration, très honorée et si chanceuse d'être ta fille.

À mon cher frère Abderraouf et mes chères sœurs Khadidja, Hind et Marwa pour leur présence dans le meilleur comme dans le pire.

À ma grand-mère chérie.

À mes cousines Aya, Maissa, Basmala et Ranime.

À mes cousins, Alaa, Nabil et Amine.

À ma sœur que la vie m'a offert, Soraya, Il est difficile d'exprimer par des mots toute la gratitude, l'amour et l'admiration que j'ai pour toi. Tu es bien plus qu'une amie, tu es ma confidente, ma complice et ma sœur de cœur.

À mes meilleures copines qui m'ont aider à surmonter tous les obstacles, Iness, Marwa, Halla, Hanaa, Manel, Imen, Chahinez, Bouchra et Chem.

À mes chères copines Feriel, Meriem, Sarah, Imen, Ibtissem, Imen, Fethia, Sihem, Boutheina, Yousra, Hasna et Fatima pour les bons moments qu'on a partagé ensemble

À mon écrivain préféré, Guillaume Musso, pour son talent exceptionnel parvient à m'immerger dans un univers où les soucis s'effacent, et la magie des mots prend le dessus.

Et enfin, je dédie ce travail à toute la promotion de microbiologie 2022-2023.

Racouak

Dédicace

Je dédie ce modeste travail a

Mon cher père spirituel Haruki Murakami, vos écrits ont été l'essence de ma vie.

Mon auteur préféré TappeiNagatsuki , votre univers est une œuvre d'art incroyable.

Abderrahmane

Liste des tableaux

Tableau I. Taxonomie actuelle de la famille <i>Enterobacteriaceae</i>	4
Tableau II. Taxonomie actuelle de l'espèce <i>Pseudomonas</i>	8
Tableau III. Taxonomie actuelle de l'espèce <i>Acinetobacter baumannii</i>	10
Tableau IV. Sites et nombre de prélèvements par service	14
Tableau V. Résultats de la coloration de Gram	23
Tableau VI. Résultats des tests d'orientation	23
Tableau VII. Résultats de l'identification biochimique des <i>Enterobacteriaceae</i>	24
Tableau VIII. Résultats de l'identification biochimique des <i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i>	29
Tableau IX. Fréquence des bactéries isolées à Gram négatif.	31

Liste des figures

Figure 1 : <i>Eucalyptus globulus</i>	13
Figure 2 : <i>Origanum vulgare</i>	13

Figure 3 : Organigramme des différentes étapes du protocole expérimental.....	16
Figure 4 : Réalisation de l'antibiogramme d'une souche de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	19
Figure 5 : Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau	20
Figure 6 : Répartition des prélèvements positifs selon les services	22
Figure 7 : Répartition des bactéries isolées à Gram négatif	30
Figure 8 : Taux de répartition des BGN selon les services	32
Figure 9 : Profil de l'antibiorésistance des entérobactéries vis à vis des antibiotiques testés	33
Figure 10 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur une souche d' <i>E.coli</i>	33
Figure 11 : Profil de l'antibiorésistance des <i>Pseudomonas</i> vis à vis des antibiotiques testés.	35
Figure 12 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	35
Figure 13 : Profil de l'antibiorésistance d' <i>A. baumannii</i> vis à vis des antibiotiques testés .	36
Figure 14 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur <i>Acinetobacter baumannii</i>	37
Figure 15 : Synergie de type BLSE + chez une souche d' <i>Enterobacter cloacae</i>	37

Liste des abréviations

- AAC : Aminoglycoside-6'-Iz ACetyltransferase
- AMC : Amoxicilline + acide clavulanique
- AMP : Ampicilline
- AMPc : Adénosine monophosphate cyclique
- AMEs : Aminoglycoside-Modifying Enzymes
- ANT : Aminoglycoside-2''-O-Nucleotidyl-Transferase

- APH : Aminoglycoside PHosphotransferase
- API : Analytical Profile Index
- ATCC : American Type Culture Collection
- ATM : Aztreonam
- BGNF : Bactéries à Gram Négatif Fermentaire
- BGNnF : Bactéries à Gram Négatif non Fermentaire
- BHIB : Brain Heart Infusion Broth
- BLSE : Bêta-Lactamases à Spectre Étendu
- BMR : Bactéries Multi-Résistantes
- C : Chloramphénicol
- CCV : Chirurgie Cardio-Vasculaire
- CHU : Centre Hospitalo-Universitaire
- CIP : Ciprofloxacine
- CL : Colistine
- CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMI : Concentration Minimale Inhibitrice
- CN30 : Céfalexine
- COT : Sulfaméthoxazole
- CTX : Céfotaxime
- CZ : Ceftazidim
- DMSO : Diméthylsulfoxyde
- DZI : Diamètres des Zones d'Inhibition
- GEN : Gentamicine
- GN : Gélose Nutritive
- GYR : Gyrase
- HE : Huiles Essentielles
- HK : Hektoen
- IAS : infections associées aux soins de santé
- IMP : Imipénème
- AK : Amikacine
- MCF : MacFarland
- NA : Acide nalidixique
- OMS : Organisation Mondiale de la Santé
- PLP : Protéines Liées aux Pénicillines
- PMQR : Plasmid-Mediated Quinolone Resistance
- PRL : Pipéracilline
- QNR : Quinolone Resistance
- TC : Ticarcilline
- TIM : Ticarcilline + acide clavulanique
- TOB : Tobramycine

RÉSUMÉ

L'environnement des patients dans les établissements de soins de santé s'est révélé être un réservoir de micro-organismes multi résistants potentiellement dangereux pouvant entraîner des infections nosocomiales. La nécessité de lutter contre ces infections nosocomiales a conduit à un regain d'intérêt pour la recherche de nouveaux antimicrobiens.

150 échantillons ont été prélevés à partir de plusieurs sites de l'environnement hospitalier des services : de néphrologie, de chirurgie vasculaire, d'urologie et du bloc opératoire d'un établissement hospitalier spécialisé situé dans la wilaya de Blida durant la période allant du mois de Janvier 2023 jusqu'au mois de juin 2023.

L'ensemble des prélèvements étaient positifs et étaient répartis comme suit : 28% dans le bloc opératoire, 26,67% dans le service de néphrologie, 23,33% dans le service de chirurgie cardiovasculaire et 22% dans le service d'urologie.

Parmi les souches bactériennes isolées à Gram négatif, les entérobactéries étaient prédominantes avec un taux de 60,53% suivies par d'autres bactéries à Gram négatif avec un taux de 20,18% puis par les *Pseudomonas* avec un taux 14,91% et enfin par les *Acinetobacter* avec un taux de 4,39%.

L'évaluation de la sensibilité et de la résistance aux antibiotiques a montrée l'existence de souches résistantes dont 98,55% d'entérobactéries résistantes à l'AMP, à l'ATM et à l'AMC. Pour les *Pseudomonas*, des souches ont présenté une résistance à la TC et à l'ATM et au TIM. Les souches d'*Acinetobacter* ont montré une résistance totale à la CZ, à la CIP, à la TOB, à la TIM et à la PRL. Les tests complémentaires nous ont permis de déceler des souches d'entérobactéries productrices de BLSE de Classe A avec un taux de 25,8%.

Mots clés : Environnement hospitalier, Infections nosocomiales, Bactéries multi résistantes, Résistance aux antibiotiques.

ABSTRACT

The patient environment in healthcare settings has continually proven to harbor a reservoir of potentially harmful, and even lethal multidrug-resistant organisms. Increased interest in the prevention of hospital-acquired infections has led to a renewed interest in tackling this growing problem.

150 samples were taken from several hospital sites in the nephrology, vascular surgery, urology and operating room departments of a hospital in the wilaya of Blida over a period from January 2023 to June 2023.

All results were positive and distributed as follows: 28% in the operating theater, 26.67% in the nephrology department, 23.33% in the cardiovascular surgery department and 22% in the urology department.

Among the isolated Gram-negative bacterial strains, enterobacteria were the most prevalent at a rate of 60.53% ,followed by other Gram-negative bacteria at a rate of 20.18% , Pseudomonas at a rate of 14.91% and Acinetobacter at a rate of 4.39% .

The antibiogram demonstrated the presence of resistant strains, with 98.55% of *Enterobacteriaceae* showing resistance to AMP, to ATM, and to AMC. Among *Pseudomonas* strains, were resistant to TC and ATM, and exhibited resistance to TIM. *Acinetobacter* showed resistance to CZ, CIP, TOB, TIM, and PRL. Additional tests allowed us to detect strains of class A extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Enterobacteriaceae* at a rate of 25.8%.

Keywords: Hospital environment, Nosocomial infections, Multidrug-resistant bacteria, Antibiotic resistance.

ملخص

أثبتت بيئة المريض في أماكن الرعاية الصحية باستمرار أنها تحتوي على مخزون من الكائنات الحية المقاومة للأدوية المتعددة والتي يحتمل أن تكون ضارة وحتى مميتة. أدى الاهتمام المتزايد بالوقاية من العدوى المكتسبة من المستشفيات إلى تجديد الاهتمام بمعالجة هذه المشكلة المتنامية.

تم أخذ 150 عينة من عدة مستشفيات في أقسام أمراض الكلى وجراحة الأوعية الدموية والمسالك البولية وغرف العمليات في مستشفى بولاية البلدة على مدى الفترة من يناير 2023 إلى يونيو 2023.

كانت جميع النتائج إيجابية وتوزعت على النحو التالي: 28% في غرفة العمليات ، 26.67% في قسم أمراض الكلى ، 23.33% في قسم جراحة القلب والأوعية الدموية ، و 22% في قسم المسالك البولية.

من بين سلالات البكتيرية المعزولة سالبة الجرام ، كانت البكتيريا المعوية هي الأكثر انتشارًا بمعدل 60.53% ، تليها بكتيريا سالبة الجرام الأخرى بمعدل 20.18% ، بكتيريا *Pseudomonas* بمعدل 14.91% ، و *Acinetobacter* بمعدل 4.39%.

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية وجود سلالات مقاومة ، حيث أظهرت 98.55% من البكتيريا المعوية *Enterobacteriaceae* مقاومة لـ AMP ، لـ ATM ، و لـ AMC. من بين سلالات *Pseudomonas* ، كان مقاومة لـ ATM و TC ، وأبدى مقاومة لـ TIM. أظهرت *Acinetobacter* مقاومة لـ CZ و CIP و TOB و TIM و PRL. سمحت لنا الاختبارات التكميلية باكتشاف سلالات منتجة للبيبتاكتاماز ذات الطيف الموسع من الدرجة A بحيث أن سلالة *Enterobacteriaceae* أظهرت معدل 25.8%.

: بيئة المستشفى ، عدوى المستشفيات ، البكتيريا المقاومة للأدوية المتعددة ، مقاومة المضادات الحيوية ، الكلمات المفتاحية

Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Résumé

Abstract

ملخص

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER 3

I.1 Environnement hospitalier 3

I.2 Propagation des BMR dans le milieu hospitalier 3

**II. BACILLES GRAM NEGATIF FERMENTAIRES ET
RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES** 4

II.1 *Enterobacteriaceae* 4

II.1.1 Généralités et classification 4

II.1.2 Habitat 4

II.1.3 Pouvoir pathogène 4

II.1.4 Entérobactéries trouvées dans l'environnement hospitalier 5

II.1.5 Résistance aux antibiotiques 6

II.1.5.1 Résistance naturelle ou intrinsèque 6

II.1.5.2 Résistance acquise	7
III. BACILLES GRAM NÉGATIF NON-FERMENTAIRES ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES.....	7
III.1 <i>Pseudomonas</i>	8
III.1.1 Généralité et classification	8
III.1.2 Résistance aux antibiotiques	9
III.1.2.1 Résistance naturelle.....	9
III.1.2.2 Résistance acquise.....	9
III.2 <i>Acinetobacter baumannii</i>	10
III.2.1 Généralité et classification	10
III.2.2 Résistance aux antibiotiques	10
III.2.2.1 Résistance naturelle.....	10
III.2.2.2 Résistance acquise.....	11
IV. ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES HUILES ESSENTIELLES	11
IV.1 Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Origanum</i>	12
IV.2 Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus</i>	12

PARTIE EXPERIMENTALE

I.MATERIEL ET METHODES	13
I.1.Matériel	13
I.1.1 Matériel non biologique	13
I.1.2 Matériel biologique.....	13
I.1.2.1 Matériel végétal	13
I.1.2.2 Prélèvements	14
I.2 Méthodes.....	15
I.2.1 Méthode de prélèvement.....	15

I.2.2 Examen macroscopique	16
I.2.3 Isolement et purification	17
I.2.4 Coloration de Gram	17
I.2.5 Tests d'orientation	17
I.2.6 Identification biochimique	18
I.2.7 Antibiogramme	18
I.2.8 Test de synergie	19

II. RÉSULTATS ET DISCUSSION

II.1 Répartition des résultats selon les prélèvements effectués	22
II.2 Répartition des prélèvements positifs selon les services	21
II.3 Résultats de la coloration de Gram et des tests d'orientation	22
II.4 Résultats de l'identification biochimique.....	24
II.5 Répartition et fréquence des bactéries isolées à Gram négatif.....	30
II.6 Répartition des bactéries isolées selon les services.....	32
II.7 Résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance des bactéries isolées	33
II.7.1 Antibiorésistance chez les <i>Enterobacteriaceae</i>	33
II.7.2 Antibiorésistance chez <i>Pseudomonas</i>	34
II.7.3 Antibiorésistance chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	36
II.8 Résultat du test BLSE	37
II.9 Répartition des bactéries multi résistantes (BMR).....	38
CONCLUSION	39

REFERENCS BIBLIOGRAPHIQUES.

ANNEXES.

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Le rôle de l'environnement dans l'hébergement et la transmission d'organismes multirésistants est devenu plus clair à la suite d'une série de publications établissant un lien entre la contamination de l'environnement et le risque accru d'infections nosocomiales. L'incidence de la résistance aux antimicrobiens augmente également, entraînant une hausse de la morbidité et de la mortalité associées aux infections nosocomiales (**Chemaly et al., 2014**).

Au niveau de l'hôpital, des facteurs intrinsèques tels que le regroupement de patients très vulnérables, le recours fréquent à des procédures invasives et la consommation élevée d'antibiotiques sont des facteurs qui contribuent au développement de l'antibiorésistance dans les infections nosocomiales (**Golkar, 2014**).

Parmi les infections nosocomiales couramment rencontrées, les bactéries à Gram négatif (BGN) sont les plus mises en cause, notamment en raison du taux nettement plus élevé de complications qui leur sont associées (**Al-Tawfiq, 2020**).

En outre, des études antérieures ont indiqué que les bactéries à Gram négatif deviennent résistantes à la plupart des antibiotiques disponibles, créant une situation très inquiétante (**Rossolini, 2014**). Il devient donc crucial de surmonter et de s'attaquer à la double crise antibiorésistance-infection nosocomiales en comprenant les schémas d'acquisition et de propagation des résistances (**Al-Tawfiq, 2020**).

Cette situation nécessite des efforts pour aider à combattre ces problèmes. L'une des solutions possibles consiste à utiliser des huiles essentielles pour lutter contre les bactéries résistantes aux antibiotiques (**Raut et Karuppaiyil, 2014**).

Ce projet de fin d'étude s'insère dans la thématique de 'l'équipe 2' du laboratoire Biotechnologies, Environnement et Santé. Dans le but d'exploiter l'effet antimicrobien de deux huiles essentielles *Origanum vulgare* et *Eucalyptus globulus*, qui sont connues pour avoir des propriétés antibactériennes sur les bactéries à Gram négatif en particulier les *Enterobacteriaceae*, les *Pseudomonas* et les *Acinetobacter* multi résistantes, prélevés à partir d'échantillons provenant de différents sites de prélèvement de surface dans un établissement hospitalier spécialisé de la Wilaya de Blida.

Les objectifs que nous nous sommes fixés sont :

- Isolement, purification et identification biochimique des BGN.

- Détermination des profils de résistance des bactéries isolées vis-à-vis de différents antibiotiques
- Etude de la sensibilité des bactéries isolées vis à vis de deux huiles essentielles (l'HE d'*Origanum* et l'HE d'*Eucalyptus* et détermination de leur CMI

Rappels bibliographiques

I. ENVIRONNEMENT HOSPITALIER

I.1 Environnement hospitalier

L'environnement hospitalier englobe généralement tous les éléments solides, liquides ou gazeux en contact avec le personnel, les patients et les visiteurs au sein d'une structure hospitalière. Cet environnement comprend différents éléments tels que les surfaces, l'eau, l'air (médical ou atmosphérique), les dispositifs médicaux, les aliments, les déchets et les solutions et qui peuvent être contaminés par des microorganismes (**Saouide el Ayne, 2014**).

Ces agents pathogènes peuvent persister de quelques heures à plusieurs mois. Leur circulation est favorisée par le personnel soignant.

Les surfaces hospitalières en contact étroit avec les patients, telles que les barreaux et les têtes de lit, les tables de chevet, les robinets et les poignées dans les services (surfaces fortement touchées), sont considérées comme facilement contaminables et risquent de transmettre des agents pathogènes aux patients (**Facciola et al., 2019**) qui sont à l'origine des infections nosocomiales ou infections associées aux soins de santé (IAS). Parmi ces pathogènes nosocomiaux, on peut retrouver les bactéries bacillaires à Gram négatif appartenant aux *Enterobacteriaceae* et le groupe des non entérobactéries représenté majoritairement par *Pseudomonas* et *Acinetobacter* (**Peleg et Hooper, 2010**).

I.2 Propagation des BMR dans le milieu hospitalier

L'environnement hospitalier joue un rôle dans l'arbitrage et la transmission des organismes multi résistants aux médicaments qui peuvent se propager en causant une augmentation du risque d'infections associées aux soins de santé (**Chemaly et al., 2014**).

L'émergence de ces BMR peut se produire soit de manière directe par le patient lui-même, ou de manière indirecte par le transport manuel par les mains du personnel soignant (manuportages) ou des visiteurs (**Duval, 2019**).

II. BACILLES GRAM NEGATIF FERMENTAIRES ET RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

II.1 *Enterobacteriaceae*

II.1.1 Généralités et classification

Les *Enterobacteriaceae* constituent l'une des plus importantes familles des bactéries du fait de leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, leur rapidité de multiplication et leur fréquente résistance aux antibiotiques (Aké, 2014).

La famille des entérobactéries englobe plus de 40 genres et plus de 130 espèces différentes (Tableau I). Leur classification repose sur leurs caractères biochimiques mais également sur leurs caractères génotypiques tels que le ribotypage et l'hybridation ADN/ADN. Les plus fréquemment isolées en bactériologie clinique appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia* (Rock et Donnenberg, 2014).

Tableau I. Taxonomie de la famille *Enterobacteriaceae*

Domaine	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobacteriaceae</i>

(Rock et Donnenberg, 2014)

II.1.2 Habitat

Les entérobactéries se trouvent dans le sol, l'eau ainsi que dans le tube digestif chez l'Homme et les animaux (Brenner et Farmer, 2015).

II.1.3 Pouvoir pathogène

Ils sont responsables d'une vaste gamme d'infections, tant dans la communauté que dans les milieux hospitaliers, ils sont incriminés dans la plupart des infections urinaires, la bactériémie de la cavité péritonéale et des voies respiratoires. Ils peuvent être détectés dans de

nombreux autres sites, tels que le liquide céphalo-rachidien, le liquide synovial et les abcès (Peleg et Hoper, 2010).

II.1.4 Entérobactéries trouvées dans l'environnement hospitalier

✚ ***Escherichia coli*** : C'est l'agent pathogène le plus fréquemment rencontré. Il se caractérise par des tiges cylindriques droites, mesurant entre 1,1 et 1,5 μm de largeur et entre 2,0 et 6,0 μm de longueur, se présentant soit individuellement, soit en paires. Il possède des flagelles péritriches qui lui confèrent une motilité, bien qu'il puisse également être immobile. C'est une bactérie aérobie. Elle ne produit pas d'oxydase. En tant que chimio-organotrophe, elle dépend de sources organiques pour sa croissance. Son développement optimal se produit à une température de 37°C, en présence d'aération et à un pH de 7,0 (Scheutz et Stroockbine, 2015).

✚ ***Klebsiella*** : Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des bacilles droits, mesurant environ 0,3 à 1,0 μm de largeur et 0,6 à 6,0 μm de longueur. Elles peuvent être disposées individuellement, par paires ou en courtes chaînes. Elles sont souvent entourées d'une capsule protectrice. généralement immobiles, elles sont facultativement anaérobies, ce qui signifie qu'elles peuvent vivre en présence ou en absence d'oxygène. Elles ont à la fois un métabolisme respiratoire et un métabolisme fermentaire. Elles se développent sur des milieux de culture contenant des extraits de viande et forment des colonies qui peuvent être plus ou moins dômes, brillantes et collantes, selon la souche bactérienne et la composition chimiques du milieu de culture. Parmi les espèces du genre *Klebsiella*, *Klebsiella pneumoniae* ; *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella granulomatis* sont les plus incriminées dans les pathologies humaines (Grimont et Grimont, 2015).

✚ ***Enterobacter*** : En forme de bâtonnets droits, ces bactéries mesurent généralement entre 0,6 et 1,0 μm de largeur et entre 1,2 et 3,0 μm de longueur. Capables de se déplacer grâce à la présence des flagelles répartis sur toute leur surface, elles sont classées comme facultativement anaérobies. Elles peuvent facilement se développer sur des milieux de culture ordinaires. La plupart des souches de ces bactéries présentent une réaction positive au test de Voges-Proskauer. Les souches cliniques les plus courantes sont : *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter cancerogenus* et *Enterobacter sakazakii* (Grimont et Grimont, 2015).

✚ **Citrobacter** : Environ 1,0 µm de largeur et de 2,0 à 6,0 µm de longueur, les espèces sont généralement dépourvues de capsule et sont mobiles grâce à des flagelles péritriche, elles possèdent à la fois un métabolisme respiratoire et un métabolisme fermentaire. Elles peuvent se développer facilement dans les milieux de culture ordinaire. Négatives au test de l'oxydase et positives au test de la catalase, elles sont chimio-organotrophes. La plupart des souches de ces bactéries peuvent utiliser le citrate comme seule source de carbone. *Citrobacter freundii* et *Citrobacter koseri* sont connues pour être associées à des maladies chez l'Homme (**Grimont et Grimont , 2015**).

✚ **Proteus** : Ce genre se manifeste sous forme des tiges droites mesurant entre 0,4 et 0,8 µm de largeur et entre 1,0 et 3,0 µm de longueur. La ciliature est péritriche. Les espèces sont anaérobies facultatifs, chimio-organotrophes et possèdent un métabolisme à la fois respiratoire et fermentaire. Présentent une réaction positive au catalase contrairement à l'oxydase, les espèces de ce genre varient dans leur capacité à produire de l'indole ainsi que dans les résultats des tests de Voges-Proskauer et de citrate de Simmons. *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* sont les plus fréquemment isolées dans les contextes cliniques (**Penner, 2015**).

✚ **Serratia** : Se présentent sous forme de tiges droites, mesurant de 0,5 à 0,8 µm de largeur et de 0,9 à 2,0 µm de longueur, Généralement mobiles grâce à la présence de flagelles péritriches, ces bactéries sont facultativement anaérobies et sont capables de réduire le nitrate en absence d'oxygène. Lorsqu'elles se développent sur un milieu nutritif en gélose, leurs colonies sont généralement opaques, légèrement irisées et peuvent présenter une coloration blanche, rose ou rouge. Elles sont fortement productrices de la catalase contrairement à l'oxydase. *Serratia marcescens* est celle qui est la plus fréquemment isolée dans le contexte des infections humaines (**Grimont et Grimont, 2015**).

II.1.5 Résistance aux antibiotiques

II.1.5.1 Résistance naturelle ou intrinsèque

Les entérobactéries sont naturellement résistantes aux pénicillines, aux Macrolides, aux Lincosamides, aux Synergistines et aux Glycopeptides. Elles sont habituellement sensibles aux β-Lactamines, aux Phénicolés, aux Tétracyclines, aux Sulfamides, au Triméthoprime, aux Nitrofuranes, à la Fosfomycine, à la Colistine et aux Aminosides (Kanamycine, Gentamicine, Tobramycine, Amikacine, et Nétilmicine) (**Patridge, 2015**).

II.1.5.2 Résistance acquise

La résistance acquise se limite aux souches spécifiques d'une espèce donnée. Elle est le résultat d'une altération du matériel génétique de la bactérie. (Lozniewski et Rabaud, 2010).

➤ Résistance des Entérobactéries aux β -lactamines

✚ **Résistance non enzymatique** : Imperméabilité, Excrétion de l'antibiotique par un mécanisme d'efflux, Modification des protéines liées aux pénicillines (PLP) (Blair et Piddock, 2009 ; Lagha, 2015).

✚ **Résistance enzymatique** : Production des Bêta-lactamases, (β -lactamases à spectre étendu « BLSE ») (Peirano et Pitout, 2010).

➤ Résistance des Entérobactéries aux aminosides

Le mécanisme prédominant de résistance aux aminoglycosides repose sur l'acquisition d'enzymes bactériennes inactivatrices qui altèrent les antibiotiques. Ces enzymes incluent les phosphotransférases (APH), les nucléotidyltransférases (ANT) et les acétyltransférases (AAC) (Partridge, 2015).

➤ Résistance des Entérobactéries aux quinolones

Les mécanismes de résistance aux quinolones sont généralement d'origine chromosomique, bien que des gènes plasmidiques (PMQR) aient été observés. Les niveaux élevés de résistance sont souvent causés par des mutations dans les gènes codant pour les topoisomérases (*gyrA*, *gyrB*, *parC* et *parE*). Les résistances de faible niveau sont associées aux PMQR. En pratique clinique, la résistance aux quinolones est principalement due à des altérations des cibles (mutations dans *gyrA* et *parC*) (Guillard et al., 2020).

III. BACILLES GRAM NÉGATIF NON-FERMENTAIRES ET RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

Les bactéries à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) constituent un groupe hétérogène de protéobactéries dont les plus répandues sont *Pseudomonas spp*, suivies d'*Acinetobacter spp* (Gajdacs et al., 2019). Ces bactéries peuvent être à l'origine de graves infections associées aux soins de santé chez les patients dont le statut immunitaire est réduit, tels que les patients âgés, les patients en soins intensifs et les patients immunodéprimés. Les

infections causées peuvent toucher de différents systèmes, telles que les infections des voies urinaires, les pneumonies et les infections de la peau et des tissus mous et la bactériémie (Yadav *et al.*, 2020).

III.1 *Pseudomonas*

III.1.1 Généralité et classification

Le genre *Pseudomonas* contient plus de 140 espèces, dont la plupart sont saprophytes. La plupart des *Pseudomonas* sont connus pour provoquer des maladies chez l'Homme et sont associés à des infections opportunistes. Environ 80 de % des *Pseudomonas* identifiés dans les échantillons cliniques sont constituées de *Pseudomonas aeruginosa* et *Pseudomonas maltophilia* (Nadeem *et al.*, 2009).

P. aeruginosa est une bactérie hétérotrophe, mobile, Gram-négatif, sous forme de bâtonnet, d'une longueur de 1 à 5 μm et d'une largeur de 0,5 à 1,0 μm . C'est un aérobie facultatif qui se développe par respiration aérobie et anaérobie avec le nitrate comme accepteur terminal d'électrons. *P. aeruginosa* se développe bien à 37 °C, mais elle peut survivre à des températures plus larges allant de 4 à 42 °C. Elle est souvent résistante à de nombreuses classes d'antibiotiques et d'agents thérapeutiques, ce qui la rend problématique en cas d'infection, car elle peut être difficile à traiter (Diggle et Whiteley, 2020). La taxonomie actuelle de l'espèce est représentée dans le tableau II.

Tableau II. Taxonomie actuelle de l'espèce *Pseudomonas*

Domaine	<i>Bacteria</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>

(Diggle et Whiteley, 2020)

III.1.2 Résistance aux antibiotiques

III.1.2.1 Résistance naturelle

Pseudomonas aeruginosa est naturellement résistante à plusieurs familles d'antibiotiques notamment les Bêtalactamines par la production du céphalosporinase chromosomique inductibles du gène AmpC, l'exportation des antibiotiques hors de la cellule par le système d'efflux membranaire MexAB-OprM et par la diminution de la taille des porines qui donne une faible perméabilité membranaire aux β -lactamines (**Mohanty et al., 2021**).

III.1.2.2 Résistance acquise

Résistance aux Bêtalactamines

Ces enzymes sont exclusivement codées par des plasmides. Les B-lactamases de classe A d'Ambler (sérine-B lactamases, sensibles aux inhibiteurs) les plus fréquentes chez *P. aeruginosa* sont celles du groupe PSE. (**Barbier et Michel 2010**).

Résistance aux fluoroquinolones

La ciprofloxacine est la fluoroquinolone la plus active sur *P. aeruginosa*, Elle est exclusivement chromosomique. Elle émerge par mutation des gènes des topoisomérases II (*gyrA*) et IV (*parC*) et/ou de ceux régulant l'expression des systèmes d'efflux (**Barbier et Michel 2010**).

Résistance aux aminosides

La résistance aux aminosides est liée le plus souvent à l'acquisition d'enzymes inactivatrices (notamment AAC (6')-I et APH (3')-II) et/ou d'un efflux actif (*MexXYoprM*)(**Barbier et Michel 2010**).

III.2 *Acinetobacter baumannii*

III.2.1 Généralité et classification

Acinetobacter apparaît sous la forme de petits coccobacilles à Gram négatif, aérobies, catalase-positif, oxydase-négative, omniprésents dans la nature. *Acinetobacter baumannii* cible généralement les patients hospitalisés les plus vulnérables, ceux qui sont gravement malades. La pneumonie nosocomiale reste l'infection la plus courante causée par ce micro-organisme (Delbos, 2012). La taxonomie actuelle de l'espèce est représentée dans le tableau III.

Tableau III. Taxonomie actuelle de l'espèce *Acinetobacter baumannii*

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Pseudomonadota</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Moraxellaceae</i>
Genre	<i>Acinetobacter</i>
Espèce	<i>Acinetobacter baumannii</i>

(Doughari et al., 2011)

III.2.2 Résistance aux antibiotiques

III.2.2.1 Résistance naturelle

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* présentent une résistance naturelle à la pénicilline G, à l'amoxicilline et aux céphalosporines de première et deuxième génération. Elles résistent aussi à certaines β -lactamines par une association de plusieurs mécanismes incluant une taille réduite des protéines de membrane externe et une production limitée de porine (Figueiredo, 2011).

III.2.2.2 Résistance acquise

Résistance aux Bêtalactamines:

Elle peut être obtenue par différents mécanismes, notamment l'inactivation par hydrolyse grâce à la production de bêta-lactamases A, B et C. Elle peut également résulter de l'augmentation de l'efflux, qui correspond à l'élimination active de l'antibiotique hors de la cellule. De plus, la diminution de l'influx, c'est-à-dire la réduction de l'entrée de l'antibiotique dans la cellule, peut contribuer à la résistance. (**Kyriakidis et al., 2021**).

Résistance aux aminosides :

Cette résistance peut résulter de trois mécanismes distincts : les enzymes modifiant les aminoglycosides (AME) qui affaiblissent la capacité de liaison des AG, l'altération du site cible par les méthyltransférases de l'ARNr 16S et l'absorption limitée des AG à la suite d'une perte de perméabilité ou d'une suractivité des pompes d'efflux (**Kyriakidis et al., 2021**).

Résistance aux Fluoroquinolones :

Elle peut se produire par trois mécanismes différents : des mutations cibles dans la gyrase et la topoisomérase IV, qui affaiblissent les interactions quinolone-enzyme respectives ; une résistance transmise par le plasmide, médiée par les protéines Qnr, les AME AAC(6')-Ib-cr et AAC(6')-Ib-cr5, et par des pompes d'efflux codées par le plasmide et une résistance dérivée des chromosomes résultant soit d'une faible expression des porines, soit d'une surexpression des pompes d'efflux codées par les chromosomes (**Kyriakidis et al., 2021**).

IV ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES HUILES ESSENTIELLES

Les huiles essentielles, également appelées essences, sont des composés volatils extraits de diverses parties des plantes. Ces métabolites secondaires sont responsables des caractéristiques odorantes des plantes (**Bonnaïous, 2013 ; Hilan et al., 2011**). L'activité biologique des huiles essentielles dépend de leur composition chimique et en particulier de la nature de leurs composés majoritaires (**Jovanka et al., 2011**).

Concernant l'activité antibactérienne des huiles essentielles, elles ont une plus grande affinité et perméabilité à travers la membrane cellulaire des bactéries du fait qu'elles sont des molécules hydrophobes, donc elles provoquent une expansion du contenu cellulaire (**Chouhan et al., 2017**).

IV.1 Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Origanum*

Responsables des propriétés antimicrobiennes d'*Origanum*, le carvacrol et le thymol se lient aux protéines membranaires et augmentent la perméabilité de la membrane cellulaire bactérienne. Ils représentent les deux phénols primaires, constituant près de 78-85% de l'huile essentielle d'*Origanum*. (Lombrea et al., 2020).

Selon Semirgiotis et al., (2020), cet effet antimicrobien pourrait être attribué à une altération des composants lipidiques de la membrane plasmique bactérienne, entraînant la fuite du contenu intracellulaire. Cette altération touchera les acides gras lors de la croissance bactérienne (Barbosa et al. 2020).

IV.2 Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus* est due à divers composants tels que le 1,8-cinéole (eucalyptol), le citronellal, le citronellol, l'acétate de citronellyl, le p-cymène, l'eucamalol, le limonène, le linalol, le bêta-pinène, le gamma-terpinène, l'alpha-terpinol, l'alloocimène et l'aromadendrone (Chandorkar et al., 2021).

Elle possède des effets antibactériens contre un large éventail de micro-organismes tels que les bactéries à Gram positif et à Gram négatif, bien que le mécanisme exact d'action soit inconnu, plusieurs facteurs ont été proposés, tels que la capacité à perturber la paroi cellulaire et les membranes, entraînant une fuite d'ATP et de métabolites. De plus, la nature hydrophobe de l'huile permet une perméabilité cellulaire accrue, entraînant une fuite des organites cellulaires. Cependant, il existe une lacune dans la recherche, où il n'est pas clair dans quelle mesure ces huiles sont efficaces particulièrement contre les bactéries multi résistantes (Elangovan et Mudgil, 2023).

MATERIEL ET METHODES

I. MATÉRIÉL ET MÉTHODES

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida durant une période de cinq mois s'étalant du 21 janvier au 8 juin 2023.

I.1. Matériel

I.1.1 Matériel non biologique

Il est représenté principalement par les milieux de cultures, la verrerie et les appareillages (Voir annexeI).

I.1.2 Matériel biologique

Il est représenté par les prélèvements des bactéries isolées, les plantes récoltées et les souches de référence (ATCC).

I.1.2.1 Matériel végétal

La récolte des feuilles d'*Eucalyptus globulus* et de la partie aérienne d'*Origanum vulgare* a été réalisée dans la wilaya de Tipaza.

L'identification des deux espèces a été réalisée par le personnel de la conservation des forêts de la wilaya de Tipaza.



Figure 1 : *Eucalyptus globulus* (photo originale ,2023).



Figure 2 : *Origanum vulgare* (photo originale ,2023).

I.1.2.2 Prélèvements

Les prélèvements ont été effectués à partir de différents sites (tableau IV) au niveau des services: de néphrologie, de chirurgie vasculaire, d'urologie et du bloc opératoire d'un établissement hospitalier spécialisé situé dans la wilaya de Blida.

Le choix des sites a été motivé par le besoin de couvrir l'ensemble de l'environnement du malade au sein de cet établissement hospitalier.

Tableau IV. Sites et nombre de prélèvements par service

Lieux de prélèvements	Sites de prélèvement	Nombre de prélèvement
Service de néphrologie	Lit	40
	Potence	
	Armoire	
	Table à manger	
	Table de coin	
	Poignée de porte	
	Robinet	
Service d'urologie	Lit	33
	Potence	
	Armoire	
	Table à manger	
	Table de coin	
	Poignée de porte	
	Robinet	
Service de chirurgie cardio vasculaire	Lit	35
	Potence	
	Armoire	
	Table à manger	
	Table de coin	
	Poignée de porte	
	Robinet	
Bloc opératoire	Masque respiratoire	42
	Table opératoire	
	Potence	
	Réspirateur électrique	
	Scopes	
	Scialytiques	
	Interrupteurs	
Total : 150 prélèvements		

I.2 Méthodes

I.2.1 Méthode de prélèvement

Les prélèvements ont été réalisés par la méthode d'écouvillonnage comme suit :

On humidifie l'extrémité d'un écouvillon stérile avec un bouillon nutritif (BHIB) et on élimine l'excès en pressant l'écouvillon contre la paroi du tube. On trace ensuite à l'aide de l'écouvillon des stries rapprochées sur la surface du site en tournant l'écouvillon entre le pouce et l'index, puis on replonge l'écouvillon dans le tube contenant le bouillon nutritif tout en s'assurant que l'écouvillon est immergé dans le bouillon pour maintenir la viabilité des micro-organismes. Les prélèvements sont ensuite acheminés vers le laboratoire pour les incuber à 37°C pendant 18h à 24h.

Les différentes étapes du protocole expérimental suivi dans cette étude sont présentées dans la figure 3.

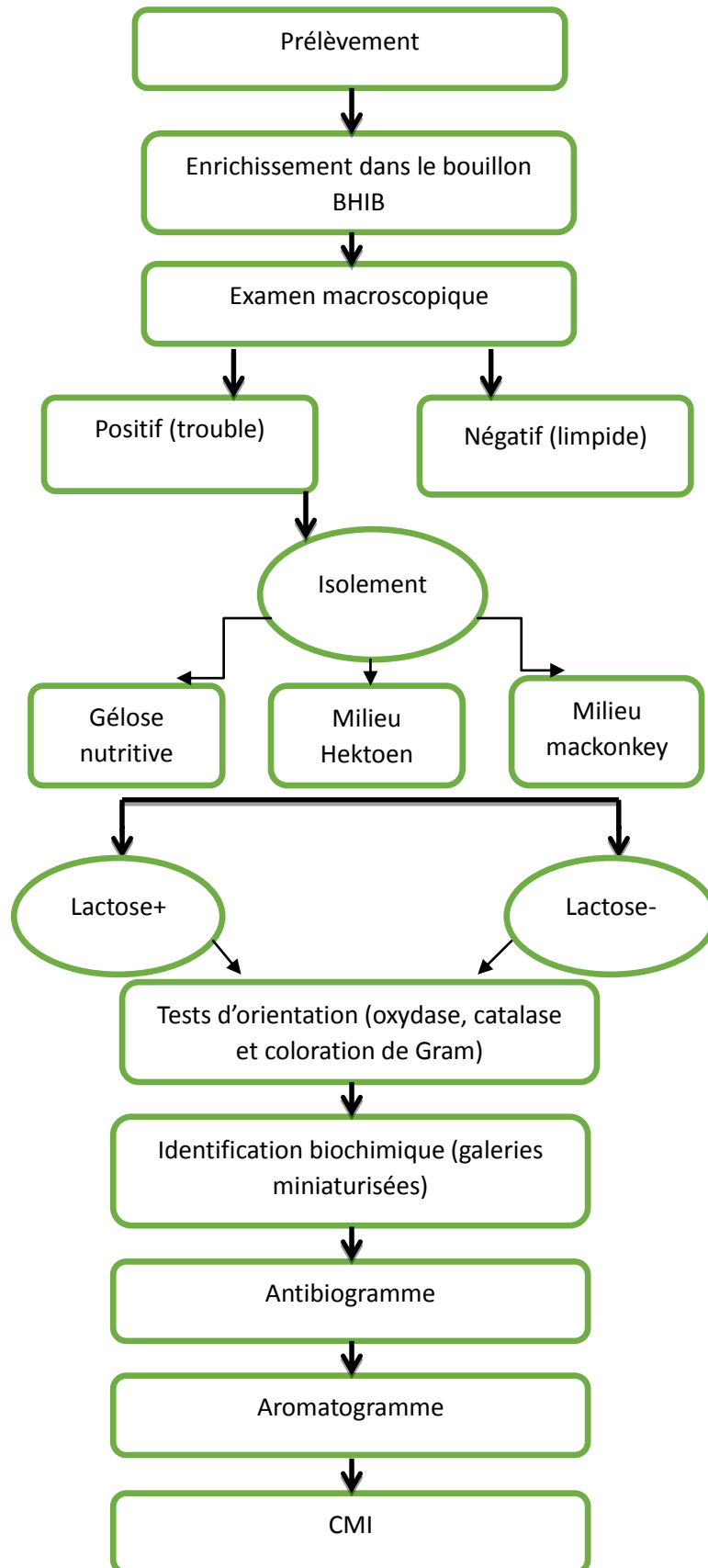


Figure 3 : Organigramme des différentes étapes du protocole expérimental

I.2.2 Examen macroscopique

Après incubation, les prélèvements doivent faire l'objet d'une observation macroscopique (à l'œil nu). Cette dernière permet de déterminer la présence ou l'absence d'une croissance bactérienne (présence ou absence d'un trouble).

I.2.3 Isolement et purification

Seuls les tubes présentant un trouble subiront un isolement suivant la méthode des 4 cadrons sur des milieux de cultures spécifiques (gélose nutritive (GN), gélose Hektoen (HK) et gélose Macconkey). Les boîtes sont ensuite incubées pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Dans le cas où le prélèvement est polymicrobien, on doit réaliser une purification sur le même milieu jusqu'à obtention d'une culture pure.

I.2.4. Coloration de Gram (voir Annexe I)

I.2.5 Tests d'orientation

- **Test de catalase**

La catalase est une enzyme qui catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2), produit toxique du métabolisme aérobie de nombreuses bactéries en H_2O et $1/2 O_2$.

Avec une pipette boutonnée, on prélève une colonie et on la dépose dans une goutte d'eau oxygénée déjà déposée sur une lame propre. La lecture se fait immédiatement :

- Catalase + : dégagement de bulle d' O_2 .
- Catalase - : absence de bulle d' O_2 .

- **Test d'oxydase**

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture.

A l'aide d'un disque imprégné du réactif N-diméthylparaphénylène diamine, on dépose une colonie bien isolée et on l'écrase sur le disque. La lecture se fait immédiatement :

- Si le disque se colore en violet : oxydase +.
- Si le disque reste incolore: oxydase -.

I.2.6 Identification biochimique

Après orientation par les examens macroscopiques, microscopiques et les tests d'orientation, l'identification biochimique a été réalisée par les galeries miniaturisées API 20 E et Api 20NE.

➤ Galeries miniaturisées

API 20E est un système standardisé pour l'identification des entérobactéries et des bacilles à Gram négatif non fastidieux, comprenant 21 testes biochimiques (Annexe II).

API 20 NE est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux, qui comporte 20 tests (Annexe II).

I.2.7 Antibiogramme

C'est un test *in vitro* qui permet de déterminer la sensibilité des bactéries vis-à-vis de plusieurs antibiotiques afin d'adapter une antibiothérapie ou pour un suivi épidémiologique.

Ce test peut être effectué par plusieurs méthodes, dans notre étude nous avons choisi la méthode de diffusion des disques sur milieu solide. Cette méthode se base sur l'utilisation des disques des différents antibiotiques à des concentrations bien déterminées. Nous avons suivi la méthode de standardisation de l'antibiogramme publiée par le CLSI et recommandée par l'OMS (CLSI, 2020).

➤ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, on prépare une suspension de la bactérie en raclant des colonies identiques bien isolées à l'aide d'une anse de platine que l'on décharge ensuite dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile jusqu'à obtention d'une suspension dont la densité égale à 0,5McF.

➤ Ensemencement

Il est effectué sur gélose Mueller Hinton via la méthode d'écouvillonnage. Après avoir bien homogénéisé la suspension, on trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum puis on l'essore en le pressant contre la paroi interne du tube pour le décharger au maximum.

On frotte ensuite l'écouvillon de haut en bas sur la surface de la gélose en stries serrées, en tournant la boîte 60° deux fois. On fait pivoter l'écouvillon en même temps sur lui-même et on termine l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut retremper l'écouvillon à chaque fois dans la suspension bactérienne.

➤ Application des disques d'antibiotiques

A l'aide d'une pince stérile, on dépose les disques d'antibiotiques (voir annexes) de manière à ce que la boîte ne doit pas contenir plus que 6 antibiotiques. La distance entre eux antibiotiques doit être de 30 mm (Figure 4).

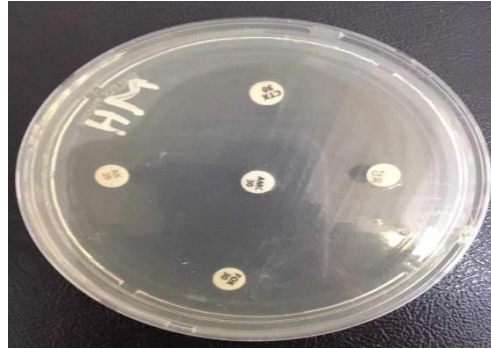


Figure 4: Réalisation de l'antibiogramme d'une souche de *Klebsiella pneumoniae*.

➤ Incubation

L'incubation des boîtes se fait à 37°C pendant 18 à 24h.

➤ Interprétation

Après incubation, l'inhibition de la croissance autour du disque d'antibiotique se traduit par une zone circulaire exempte de culture. Les diamètres de ces zones sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse afin de les comparer avec les diamètres critiques figurants dans les tables de lecture conformément aux normes du CLSI (CLSI, 2020).

Après comparaison, le germe est qualifié de sensible (S), résistant (R) ou intermédiaire (I) (CLSI, 2020).

I.2.8 Test de synergie

La réalisation de ce test a pour but la recherche de la BLSE (Betalactamase à spectre étendu) chez les entérobactéries. Il se fait dans des conditions standards de l'antibiogramme, tout en utilisant les inhibiteurs de la β -lactamase (Sbiti et al., 2017).

On dépose un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 20/10 μ g) au centre de la boîte entouré par 3 disques de C3G, céfotaxime (CTX 30 μ g), céftazidime (CAZ 30 μ g), céftriaxone (CRO 30 μ g) et un disque de monobactame, aztréonam (ATM 30 μ g) à une distance de 20 mm. Puis on incube les boîtes à 37 °C pendant 24h.

La production de BLSE peut se traduire par la production de synergie : Image de bouchon de champagne.

I.2.9 Extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau

On place tout d'abord la matière végétale dans l'alambic, puis on fait bouillir de l'eau dans la chaudière pour générer de la vapeur d'eau qu'on fait passer à travers les plantes. Cette vapeur circule et chasse la plupart des composés volatils de la masse végétale, puis la vapeur traverse un tube froid (condenseur) où elle sera condensée et séparée en phase aqueuse (HA) et en phase organique (HE) à l'aide d'une ampoule à décanter (Figure 5).



Figure5: Extraction des huiles essentielles par entrainement à la vapeur d'eau (**originale, 2023**)

➤ Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle est estimé par rapport à la masse d'huile essentielle obtenue et à la masse de la matière végétale fraîche utilisée. Il est exprimé en pourcentage et est calculé selon la formule utilisée par **kaid-sliman, (2004)**:

$$\text{RHE} = (M_{\text{HE}} / M_{\text{VF}}) \times 100$$

- RHE : Rendement en huile essentielle (%)
- MHE : masse d'huile essentielle récupérée (g)
- MVE : masse végétale fraîche utilisé pour l'extraction(g)

RESULTATS ET DISCUSSION

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Sur une période d'étude allant du mois de Janvier jusqu'au mois de juin 2023, 150 échantillons ont été prélevés à partir de plusieurs sites de l'environnement hospitalier au niveau de service : néphrologie, de chirurgie cardiovasculaire, d'urologie et du bloc opératoire appartenant à un établissement hospitalier situé dans la wilaya de Blida.

II.1 Répartition des résultats selon les prélèvements effectués

Sur les 150 échantillons prélevés provenant de divers services, il a été constaté que tous étaient positifs, ce qui correspond à un taux de positivité de 100%.

Ce taux très élevé nous fait penser à la propagation des infections nosocomiales souvent due à la contamination croisée. Les moyens les plus courants de transmission des agents pathogènes se produisent entre les mains du personnel de santé et les patients (**Drees et al., 2008**).

Toutefois, il est important de noter que l'environnement hospitalier peut également contribuer à la propagation des agents pathogènes. En effet, des études ont démontré qu'en cas de situations endémiques ou épidémiques, il existe une contamination de l'environnement et un transfert de bactéries entre les patients et leur environnement (**Oliveira et Damasceno, 2010**).

Dans une étude transversale menée en Éthiopie dans certains services de l'HUCSH (Hawassa University Comprehensive Specialized Hospital) par **Bitew et al., (2021)** le taux de positivité rapporté était de 74,67%.

Selon **Bitew et al., (2021)**, cette différence des taux de positivité est peut-être due à une désinfection inadéquate du matériel médical, aux types de désinfectants utilisés, à des pratiques professionnelles inadéquates et à la nature du matériel médical et des surfaces inanimées étudiés.

II.2 Répartition des prélèvements positifs selon les services

Sur les 150 prélèvements positifs, le taux le plus élevé est retrouvé au niveau du bloc opératoire (28%) suivi par le service de néphrologie (26,67%) ensuite par le service d'urologie (22%) puis le service de chirurgie cardiovasculaire (23,33%) (Figure 6).

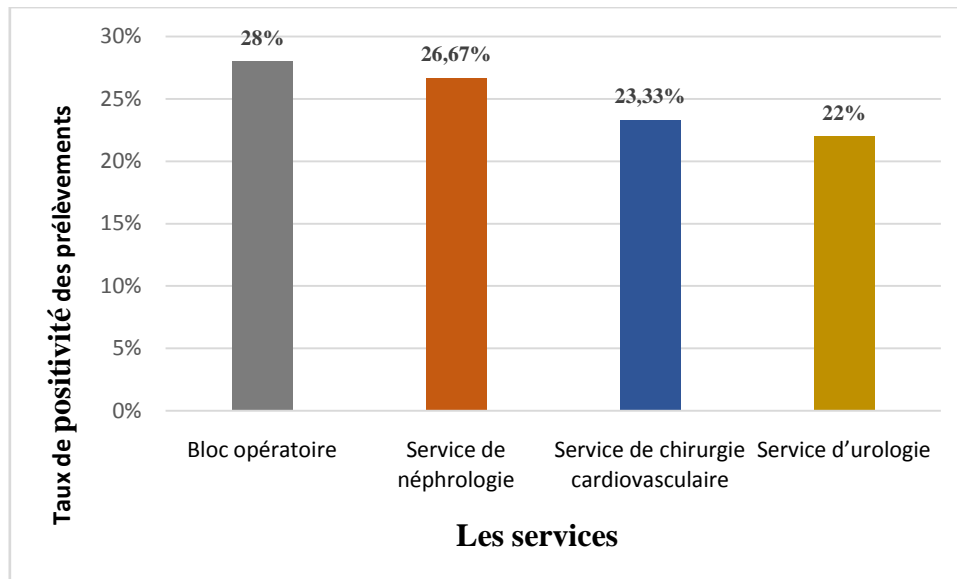


Figure 6 : Répartition des prélèvements positifs selon les services

Dans une étude descriptive réalisée dans l'hôpital en Éthiopie du Sud par **Bitew et al., (2021)**, Les auteurs ont analysé la contamination bactérienne du matériel de soins des patients et d'objets inanimés dans certains services. Les résultats des prélèvements positifs étaient : 76.4% (n=23) dans le service de chirurgie, 71,8% (n=23) dans l'unité de soins intensifs néonataux et 66.6% (n=22) dans le service de pédiatrie.

Selon **Bitew et al., (2021)**, cette différence des taux de positivité est peut-être due à une désinfection inadéquate du matériel médical, aux types de désinfectants utilisés, à des pratiques professionnelles inadéquates et à la nature du matériel médical et des surfaces inanimées étudiés.

Les surfaces et dispositifs médicaux sont colonisés par les microorganismes en milieu hospitalier, Ceux-ci peuvent être issus des patients, de l'air, des visiteurs et du personnel soignant Les établissements de santé constituent un écosystème favorable aux bactéries multi résistantes pour deux raisons, d'une part, 25% des patients hospitalisés reçoivent en permanence des antibiotiques avec une pression de sélection des germes; d'autre part, la transmission interhumaine, très facile, des bactéries en raison de la promiscuité et de la densité des soins(**Chaouia et al.,2019**).

II.3 Résultats de la coloration de Gram et des tests d'orientation

Sur 150 prélèvements positifs, 98 prélèvements étaient positifs pour les Gram -.

Le tableau V et VI montrent les résultats de la coloration de Gram et des tests d'orientation.

Tableau V. Résultats de la coloration de Gram (G×100)


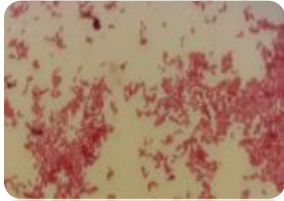
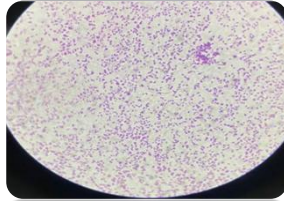



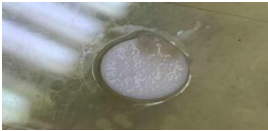
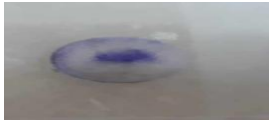
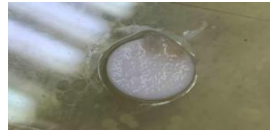
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
		
Gram-	Gram-	Gram-

Tableau VI. Résultats des tests d'orientation



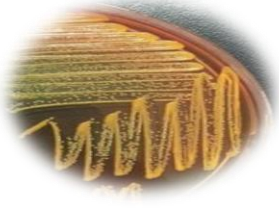

Tests d'orientation			
Tests/ Souches	Entérobactéries	<i>Pseudomonas</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
Test catalase	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Positif</div>	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Positif</div>	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Positif</div>
Test oxydase	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Négatif</div>	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Positif</div>	 <div style="border: 1px solid black; padding: 5px; width: fit-content; margin: 0 auto;">Négatif</div>

II.4 Résultats de l'identification biochimique

➤ Résultats de l'identification des *Enterobacteriaceae*

Les résultats obtenus après culture, isolement et identification biochimique par galerie API 20E sont représentés dans le tableau VII.

Tableau VII. Résultats de l'identification biochimique des *Enterobacteriaceae*.

Espèce	Culture	Api 20 E																																																																																																				
<i>Escherichia coli</i>	 <p>Sur gélose MacConkey: Colonies roses ayant aspect œuf sur plat (lactose +).</p>	 <table border="1"> <tr> <td>O</td><td>A</td><td>L</td><td>O</td><td>C</td><td>H</td><td>U</td><td>T</td><td>I</td><td>V</td><td>G</td><td>G</td><td>M</td><td>I</td><td>S</td><td>R</td><td>S</td><td>M</td><td>A</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>N</td><td>D</td><td>D</td><td>D</td><td>T</td><td>2</td><td>R</td><td>D</td><td>N</td><td>P</td><td>E</td><td>L</td><td>A</td><td>N</td><td>O</td><td>H</td><td>A</td><td>E</td><td>M</td><td>R</td> </tr> <tr> <td>P</td><td>H</td><td>C</td><td>C</td><td>T</td><td>S</td><td>É</td><td>A</td><td>D</td><td></td><td>L</td><td>U</td><td>N</td><td>O</td><td>R</td><td>A</td><td>C</td><td>L</td><td>Y</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>G</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>E</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td> </tr> </table>	O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A	N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R	P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A	G					E																+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+
O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A																																																																																			
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R																																																																																			
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A																																																																																			
G					E																																																																																																	
	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	-	+	-	+	+	-	+																																																																																			
<i>Escherichia vulneris</i>	 <p>Sur gélose Hektoen: Petites colonies oranges (lactose +) bien délimitées.</p>	 <table border="1"> <tr> <td>O</td><td>A</td><td>L</td><td>O</td><td>C</td><td>H</td><td>U</td><td>T</td><td>I</td><td>V</td><td>G</td><td>G</td><td>M</td><td>I</td><td>S</td><td>R</td><td>S</td><td>M</td><td>A</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>N</td><td>D</td><td>D</td><td>D</td><td>T</td><td>2</td><td>R</td><td>D</td><td>N</td><td>P</td><td>E</td><td>L</td><td>A</td><td>N</td><td>O</td><td>H</td><td>A</td><td>E</td><td>M</td><td>R</td> </tr> <tr> <td>P</td><td>H</td><td>C</td><td>C</td><td>T</td><td>S</td><td>É</td><td>A</td><td>D</td><td></td><td>L</td><td>U</td><td>N</td><td>O</td><td>R</td><td>A</td><td>C</td><td>L</td><td>Y</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>G</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>E</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td></td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td> </tr> </table>	O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A	N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R	P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A	G					E																+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+
O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A																																																																																			
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R																																																																																			
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A																																																																																			
G					E																																																																																																	
	+	-	-	-	-	+	-	-	-	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+																																																																																			

Klebsiella pneumoniae



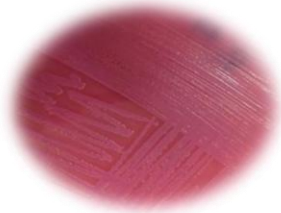
Sur gélose MacConkey:

Grosses colonies roses muqueuses, collantes et brillantes (lactose+).



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	H	A	L	Y	R
G					E														
+	-	+	-	+	-	+	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+

Citrobacter freundii



Sur gélose MacConkey:

Petites colonies roses et plates qui fermentent le lactose .



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	H	A	L	Y	R
G					E														
+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+	+

Citrobacter koseri



Sur gélose Hektoen:

Petites colonies oranges lactose + à contour irrégulier



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	H	A	L	Y	R
G					E														
+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+

Serratia marcescens



Sur gélose Hektoen:

Petites colonies oranges arrondies qui fermentent le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	R
G					E														A
+	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	-	+	-	+	-

Serratia ficaria



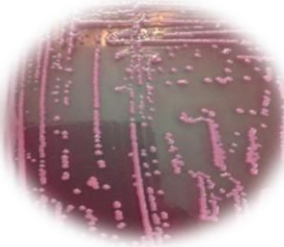
Sur gélose Hektoen:

Grosses colonies oranges muqueuses et bombées fermentant le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	R
G					E														A
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	+	-	-	-	+

Serratia plymuthica



Sur gélose MacConkey

Grosses colonies roses légèrement bombées fermentant le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	R
G					E														A
+	-	-	-	+	-	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	-	+	+	+

Enterobacter cloacae



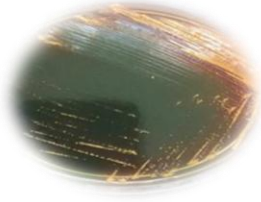
Sur gélose Hektoen:

Grosses colonies oranges plates à contour irrégulier fermentant le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	H	A	E	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	A	C	L	M	A
G					E														R
+	+	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Enterobacter sakazakii



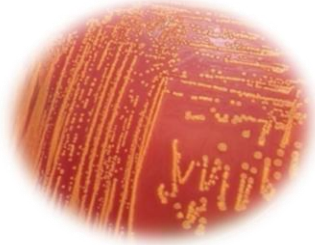
Sur gélose Hektoen:

petites colonies oranges plates fermentant le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	H	A	E	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	A	C	L	M	A
G					E														R
+	-	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	+	+	-	+	+

Enterobacter cancerogenus



Sur Hektoen

Grosses colonies oranges plates fermentant le lactose



O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	T	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	O	H	A	E	A
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	R	A	C	L	M	A
G					E														R
+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	+	+	+	-	+	-	-	-	+

Klebsiella oxytoca



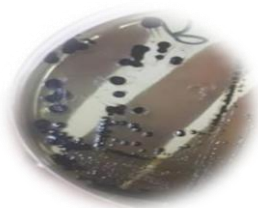
Sur Gélose Héктоen :

Grossa colonies oranges (lactose+) gonflées et muqueuses .



	ONPG	ADH	LDC	ODC	CTT	H2S	UREE	TDA	IND	VP	GEL	GLU	MAN	INO	SOR	RHA	SAC	MEL	AMY	ARA	
	+	+	+	+	+	-	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+

Proteus mirabilis



Sur gélose Hektoen:

Grosses colonies envahissantes qui ne fermentent pas le lactose mais produisent le H₂S.



	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
NDPH	D	D	D	D	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R
G	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	A	A	C	L	Y	A
	-	-	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-

Pantoea spp



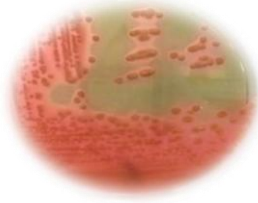
Sur gélose Hektoen:

Colonies identiques à celles d'*E.coli*, orange (lactose +) ayant un aspect œuf sur plat.



	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
NDPH	D	D	D	D	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R
G	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	R	A	A	C	L	Y	A
	+	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	-	+

***Leclerciaadecar
boxylata***



Sur gélose Hektoen:

Grosses colonies sèches
difficiles à racler



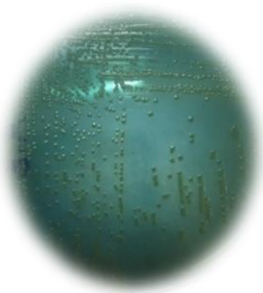

O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A
N	D	D	D	2	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A
G					E														
+	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-	+	+	-	-	+	-	+	+	+

➤ **Résultats de l'identification de *Pseudomonas* et *Acinetobacter***

Les résultats obtenus après culture, isolement et identification biochimique par galerie API NE sont représentés par le tableau VIII.

Tableau VIII. Résultats de l'identification biochimique des *Pseudomonas* et *Acinetobacter*.

<i>Pseudomonas</i> et <i>Acinetobacter</i>																																																																																																						
Espèce	Culture	Api																																																																																																				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<p>Sur gélose Hektoen : Colonies vertes et bombées dont elles ne fermentent pas le lactose, produisant un pigment vert (pyoverdine) et caractérisées par une odeur florale.</p>	<table border="1"> <tr> <td>N</td><td>T</td><td>G</td><td>A</td><td>U</td><td>E</td><td>G</td><td>P</td><td>G</td><td>A</td><td>M</td><td>M</td><td>N</td><td>M</td><td>G</td><td>C</td><td>A</td><td>M</td><td>C</td><td>P</td> </tr> <tr> <td>O</td><td>R</td><td>L</td><td>D</td><td>R</td><td>S</td><td>E</td><td>N</td><td>L</td><td>R</td><td>N</td><td>A</td><td>A</td><td>A</td><td>N</td><td>A</td><td>A</td><td>D</td><td>L</td><td>I</td> </tr> <tr> <td>3</td><td>P</td><td>U</td><td>H</td><td>E</td><td>C</td><td>L</td><td>G</td><td>U</td><td>A</td><td>E</td><td>N</td><td>G</td><td>L</td><td>T</td><td>P</td><td>I</td><td>T</td><td>T</td><td>C</td> </tr> <tr> <td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td> </tr> </table>	N	T	G	A	U	E	G	P	G	A	M	M	N	M	G	C	A	M	C	P	O	R	L	D	R	S	E	N	L	R	N	A	A	A	N	A	A	D	L	I	3	P	U	H	E	C	L	G	U	A	E	N	G	L	T	P	I	T	T	C	+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+																				
N	T	G	A	U	E	G	P	G	A	M	M	N	M	G	C	A	M	C	P																																																																																			
O	R	L	D	R	S	E	N	L	R	N	A	A	A	N	A	A	D	L	I																																																																																			
3	P	U	H	E	C	L	G	U	A	E	N	G	L	T	P	I	T	T	C																																																																																			
+	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	-	+																																																																																			
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<p>Sur gélose nutritive: Grosses colonies à bord irrégulier produisant pyoverdine</p>	<table border="1"> <tr> <td>O</td><td>A</td><td>L</td><td>O</td><td>C</td><td>H</td><td>U</td><td>T</td><td>I</td><td>V</td><td>G</td><td>G</td><td>M</td><td>I</td><td>S</td><td>R</td><td>S</td><td>M</td><td>A</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>N</td><td>D</td><td>D</td><td>D</td><td>2</td><td>2</td><td>R</td><td>D</td><td>N</td><td>P</td><td>E</td><td>L</td><td>A</td><td>N</td><td>O</td><td>H</td><td>A</td><td>E</td><td>M</td><td>R</td> </tr> <tr> <td>P</td><td>H</td><td>C</td><td>C</td><td>T</td><td>S</td><td>É</td><td>A</td><td>D</td><td></td><td>L</td><td>U</td><td>N</td><td>O</td><td>R</td><td>A</td><td>C</td><td>L</td><td>Y</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>G</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td>E</td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td><td></td> </tr> <tr> <td>-</td><td>+</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td> </tr> </table>	O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A	N	D	D	D	2	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R	P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A	G					E															-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
O	A	L	O	C	H	U	T	I	V	G	G	M	I	S	R	S	M	A	A																																																																																			
N	D	D	D	2	2	R	D	N	P	E	L	A	N	O	H	A	E	M	R																																																																																			
P	H	C	C	T	S	É	A	D		L	U	N	O	R	A	C	L	Y	A																																																																																			
G					E																																																																																																	
-	+	-	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-																																																																																			

<i>Acinetobacter baumannii</i>	 <p>Sur gélose Hektoen: Petites colonies vertes brillantes à bord régulier dont elles ne fermentent pas le lactose</p>	 <table border="1" style="width: 100%; text-align: center; border-collapse: collapse;"> <tr> <td>N</td><td>T</td><td>G</td><td>A</td><td>U</td><td>E</td><td>G</td><td>P</td><td>G</td><td>A</td><td>M</td><td>M</td><td>N</td><td>M</td><td>G</td><td>C</td><td>A</td><td>M</td><td>C</td><td>P</td> </tr> <tr> <td>O</td><td>R</td><td>L</td><td>D</td><td>R</td><td>S</td><td>E</td><td>N</td><td>L</td><td>R</td><td>N</td><td>A</td><td>A</td><td>A</td><td>N</td><td>A</td><td>D</td><td>L</td><td>I</td><td>A</td> </tr> <tr> <td>3</td><td>P</td><td>U</td><td>H</td><td>E</td><td>C</td><td>L</td><td>P</td><td>U</td><td>A</td><td>E</td><td>N</td><td>G</td><td>L</td><td>T</td><td>P</td><td>I</td><td>T</td><td>T</td><td>C</td> </tr> <tr> <td></td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>-</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td><td>+</td> </tr> </table>	N	T	G	A	U	E	G	P	G	A	M	M	N	M	G	C	A	M	C	P	O	R	L	D	R	S	E	N	L	R	N	A	A	A	N	A	D	L	I	A	3	P	U	H	E	C	L	P	U	A	E	N	G	L	T	P	I	T	T	C		-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+
N	T	G	A	U	E	G	P	G	A	M	M	N	M	G	C	A	M	C	P																																																															
O	R	L	D	R	S	E	N	L	R	N	A	A	A	N	A	D	L	I	A																																																															
3	P	U	H	E	C	L	P	U	A	E	N	G	L	T	P	I	T	T	C																																																															
	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-	-	+	+	+	+	+																																																															

II.5 Répartition et fréquence des bactéries isolées à Gram négatif

La répartition des bactéries à Gram négatif isolées est présentée par la figure 7 qui montre une prédominance des entérobactéries (60,53%), suivi par le genre *Pseudomonas* (14,91%) puis par *Acinetobacter baumannii* (4,39%).

Les autres groupes bactériens sont représentés par 20,18%.

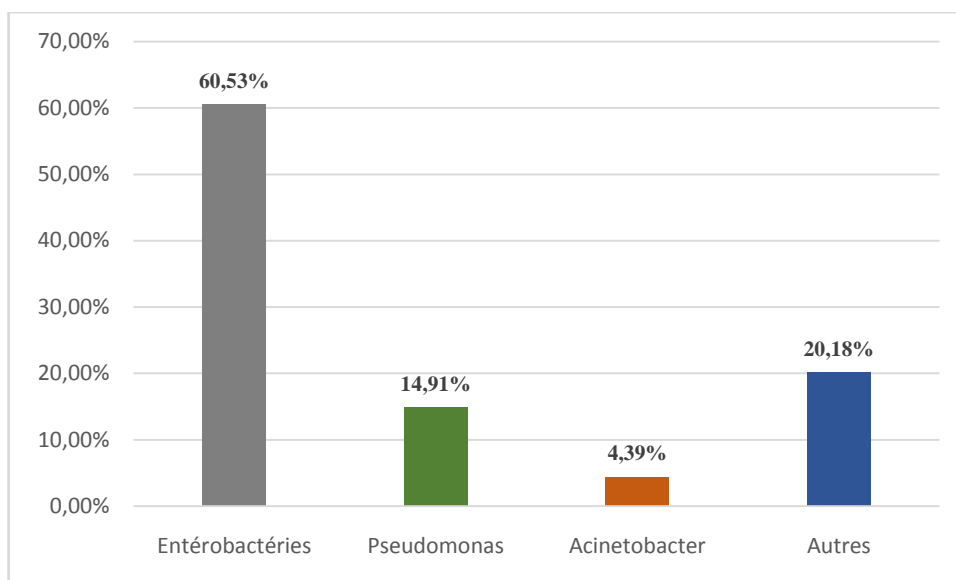


Figure7: Répartition des bactéries isolées à Gram négatif

En général, les bactéries à Gram négatif sont la source la plus potentielle d'infections nosocomiales (**Bakkali et al., 2015 ; Ghadiri et al., 2012**) en particulier les entérobactéries

en raison de leur capacité à acquérir de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Partridge 2015 ; Peleg et al., 2010 ; Lemmen et al., 2004) avec la possibilité de persister sur des surfaces sèches pendant des jours et voire des mois (Kramer et al., 2006).

Le tableau IX présente la fréquence des BGN isolés qui montre qu'*Escherichia coli* est l'entérobactérie la plus fréquemment isolée dans notre étude avec un pourcentage de 18,42%. Cette bactérie colonise naturellement l'intestin humain et est à l'origine de diverses infections opportunistes.

Tableau IX. Fréquence des bactéries isolées à Gram négatif

Famille/ Genre	Espèce	Fréquence
<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	18,42%
	<i>Escherichia vulneris</i>	1,75%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9,65%
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1,75%
	<i>Enterobacter cloacae</i>	8,77%
	<i>Enterobacter cancerogenus</i>	0,88%
	<i>Enterobacter sakazakii</i>	2,63%
	<i>Proteus mirabilis</i>	4,39%
	<i>Leclercia decarboxylata</i>	1,75%
	<i>Serratia marcescens</i>	0,88%
	<i>Serratia ficaria</i>	0,88%
	<i>Serratia plymuthica</i>	0,88%
	<i>Citrobacter freundii</i>	0,88%
	<i>Citrobacter koseri</i>	0,88%
<i>Pantoea pp</i>	6,14%	
<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	13,16%
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1,75%
<i>Acinetobacter</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	4,39%
Autres		20,18%

Nos résultats sont similaires à l'étude de Saadi et al., (2021) dans un hôpital situé dans la Wilaya de Chlef. Ces auteurs ont trouvé que la contamination bactérienne des surfaces hospitalières et équipements médicaux est due essentiellement aux entérobactéries avec un taux de 42,59%. *Escherichia coli* était l'entérobactérie la plus fréquemment isolée avec un pourcentage de 11,11%.

II.6 Répartition des bactéries isolées selon les services

La répartition des bactéries isolées selon les services est présentée dans la figure 8.

La figure, montre une prédominance des entérobactéries (88,89%) dans le bloc opératoire , suivi par le service d'urologie (61,67) suivi par le service de néphrologie (57,50%) et puis par le service de chirurgie cardio-vasculaire (54,84%).

Par rapport aux *Pseudomonas*, le taux le plus élevé était dans le service de CCV (19,35%), suivi par le service de néphrologie (15%) suivi par le service d'urologie (14,71%) et absence totale dans le bloc opératoire.

Concernant les espèces d'*Acinetobacter baumannii*, on les avait retrouvé seulement dans le service d'urologie (9%) et service de CCV (6%).

Le service de néphrologie présentait le taux le plus élevé concernant les autres bactéries à Gram négatif (27,50%).

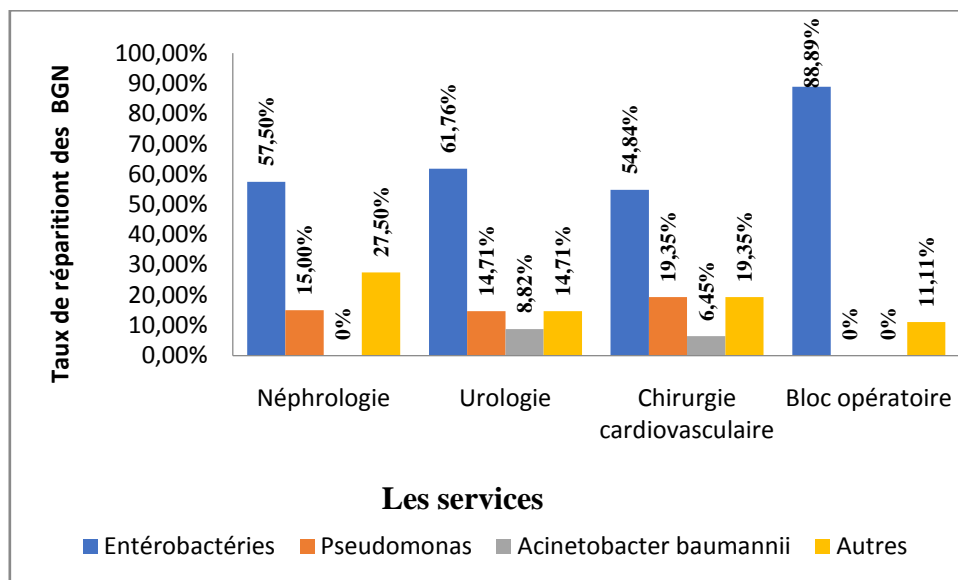


Figure 8 : Taux de répartition des BGN selon les services

Selon **Bitew et al.,(2021)**, ces divergences dans la prévalence et les types d'isolats bactériens dans les différents services pourraient être dues à des fluctuations dans les normes des pratiques d'hygiène et des méthodes d'assainissement de l'environnement appliquées dans les hôpitaux.

II.7 Résultats de l'évaluation de l'antibiorésistance des bactéries isolées

Nous avons testé la sensibilité et/ou la résistance des entérobactéries, des espèces du genre *Pseudomonas* et d'*Acinetobacter baumannii* vis-à-vis des antibiotiques selon la standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale 8^{ème} Édition 2020.

II.7.1 Antibiorésistance chez les *Enterobacteriaceae*

Selon les résultats de l'antibiogramme illustrés par les figures 9 et 10, parmi les souches d'entérobactéries, nous avons noté une résistance élevée à l'AMP (98,55%), à l'ATM (60,87%), à l'AMC (59,42%), au CZ (57,97%) et à la CTX (49,28%).

Tandis qu'une sensibilité a été notée vis-à-vis de la GEN (78,26%), à l'AK (75,36%), au C (72,46%), au COT (69,57%) et à l'IMP (65,22%).

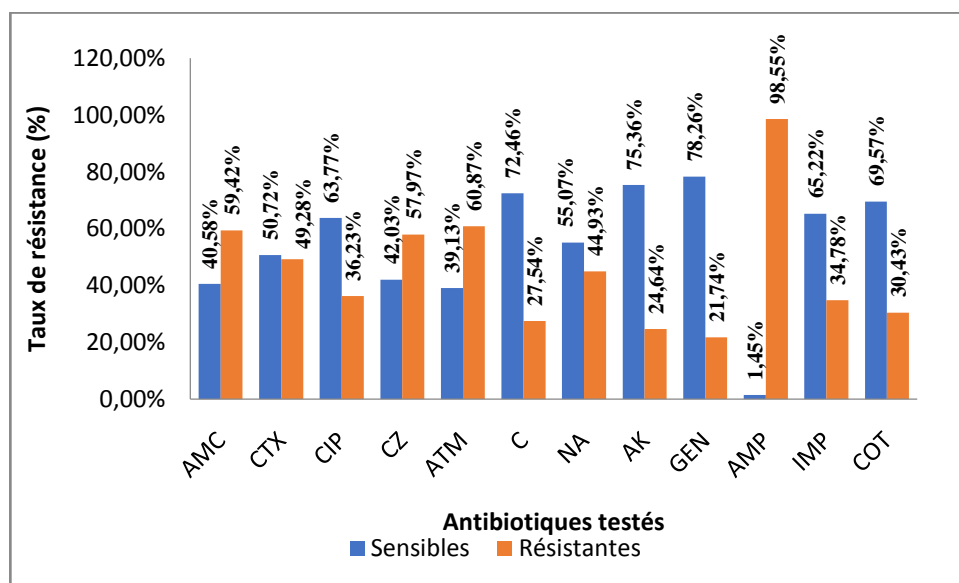


Figure 9: Profil de l'antibiorésistance des entérobactéries vis à vis des antibiotiques testés.

Concernant l'évaluation de l'antibiorésistance des entérobactéries vis-à-vis des aminopencillines, les résultats obtenus concordent avec ceux d' **Ango et al., (2020)**, qui ont mené une étude au niveau du service de réanimation au CHU de Treichville en Côte d'Ivoire. En effet les auteurs ont noté que parmi 31 souches d'entérobactéries, il y avait une résistance à l'AMP (93,54%), à l'AMC (77,41%), au CZ (61,29%) et au CTX (61,29%). Cependant

dans la même étude, les auteurs ont indiqué que les entérobactéries se sont montrées très ou peu résistantes vis-à-vis des céphalosporines et des monobactames.

D'après **Da et al., (2022)**, la résistance aux antibiotiques tels que les céphalosporines, monobactames et les aminopenicillines pourrait se faire par production d'enzymes détruisant l'antibiotique comme la sécrétion de la B-lactamase à spectre élargie. Ce mécanisme de résistance est le plus fréquemment trouvé chez les entérobactéries et qui leur confère une résistance aux B-lactamines.

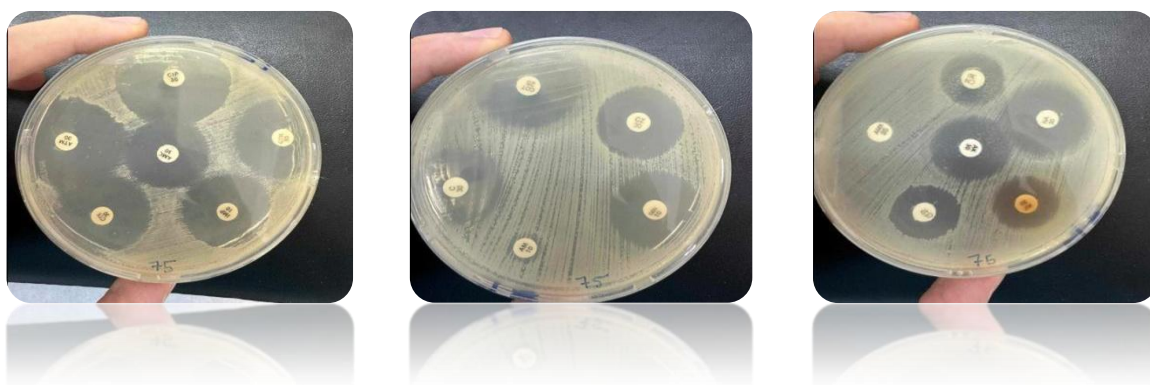


Figure 10 : Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur une souche d'*E.coli*.

II.7.2 Antibiorésistance chez *Pseudomonas*

D'après les résultats de l'antibiogramme illustrés dans la figure 11, nous avons constaté que parmi les souches de *Pseudomonas*, y avait une forte résistance à la TC (88,24%) , à l'ATM (88,24%) , à l'AK (88,24%) , au TIM (82,35%) tandis qu'une résistance moyenne à l'IMP (47,06%) et une faible résistance au CIP (23,53%) ont été marquée.

D'autre part, il y avait une sensibilité au GEN (82,35%) , au CIP (76,47%) , à la TOB (67.70%) et à l'IMP (52,94%).

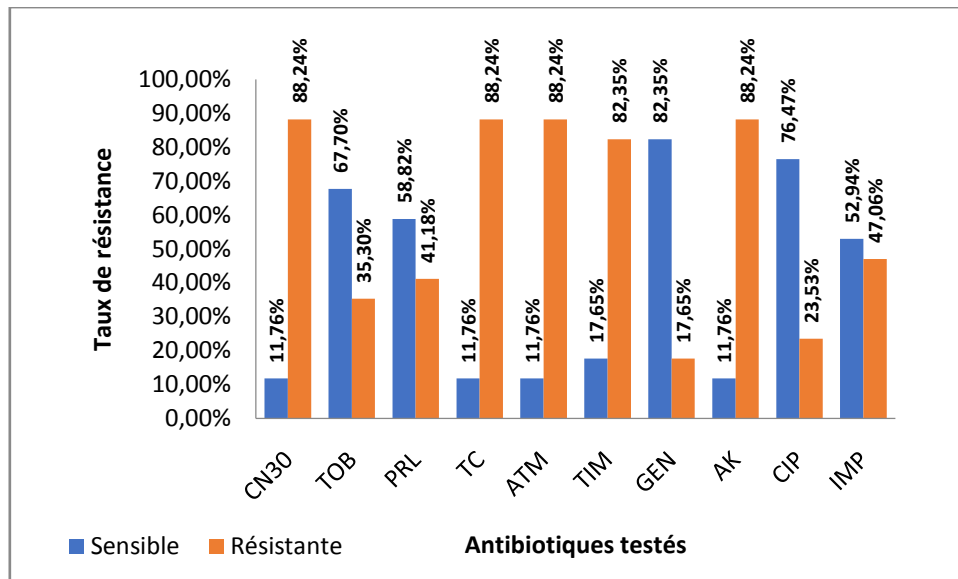


Figure 11: Profil de l'antibiorésistance des *Pseudomonas vis* à vis des antibiotiques testés

Dans une étude descriptive sur 117 échantillons environnementaux dans deux hôpitaux de soins tertiaires au Bangladesh, rapportée par **Karabi et al., (2022)**, ces auteurs ont trouvé que parmi les 82 isolats de *P. aeruginosa*, il y a avait une résistance au CIP (63%), à l'ATM (54%) et à l'AK (37%) et vis-à-vis de l'IMP (41%).

Nous avons enregistré un taux de résistances très élevé (88,24%) à l'égard de l'ATM en comparaison avec la même étude (54%).

Selon **Jorth et al.,(2017)**, la résistance des *Pseudomonas* aux ATM pourrait être due aux mutations chromosomiques. Dans leur étude, les auteurs ont identifié 19 gènes mutés de manière récurrente associés à la résistance à l'aztréonam. Les mutations les plus fréquemment observées affectent les régulateurs transcriptionnels négatifs du système d'efflux mexAB-oprM et la cible de l'aztréonam.

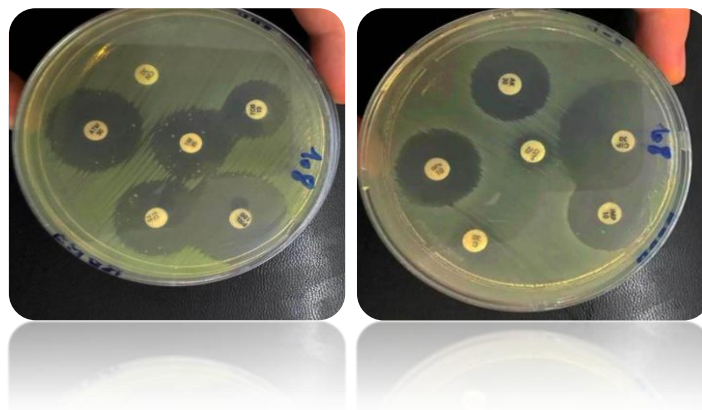


Figure 12:Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa*.

II.7.3 Antibiorésistance chez *Acinetobacter baumannii*

D'après les résultats illustrés dans la figure 13, les souches d'*A. baumannii* ont présenté une résistance totale (100%) contre la CZ, la CIP, la TOB, la TIM, la PRL et la TC. La plupart des souches ont également montré une résistance à l'AK (80%) et à la GEN (60%)

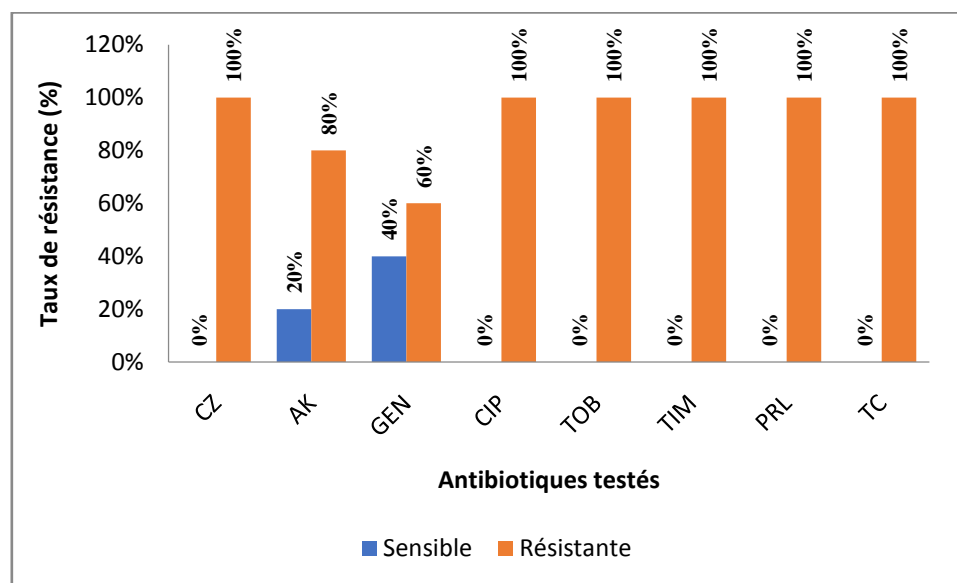


Figure 13: Profil de l'antibiorésistance d'*A. baumannii* vis à vis des antibiotiques testés

Nos résultats corroborent avec ceux de **Liaqid (2012)** qui a mené une étude sur la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentaires au niveau du C.H.U de Tlemcen en Algérie, et a relevé un taux de résistance élevé à la CIP (97,14%), à l'AK (82,85%) et à la GEN (74,28%). Cependant la céfalexine (CN30) était inactive sur toutes les souches.

Dans d'autres travaux réalisés par **Mellouli et al., (2021)** et **Debabza (2015)**, le taux de résistance à la TC était respectivement 96,4% et de 100% ce qui est en accord avec nos résultats (100% de résistance à la TC).

Selon **Liaqid (2012)**, cette résistance est expliquée par le fait que *A. baumannii* possède des mécanismes de résistances naturelles aux β lactamines, correspondent principalement à la production d'une céphalosporinase (ou β -lactamase de type AmpC) chromosomique.

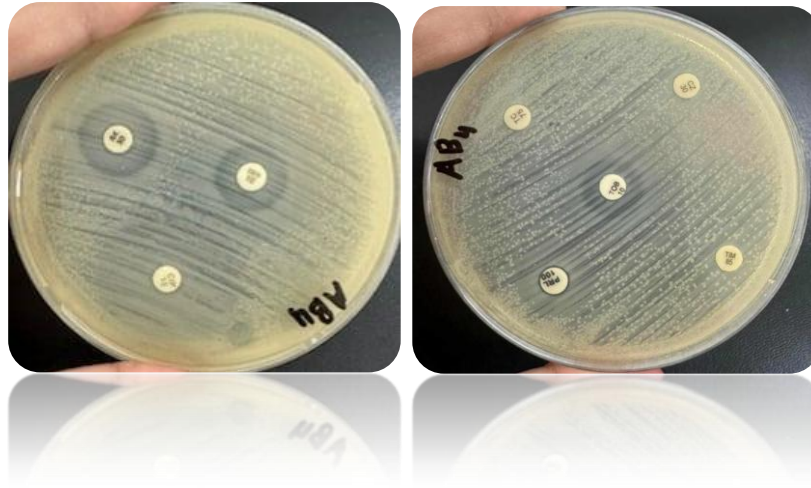


Figure 14: Zones d'inhibitions des antibiotiques testés sur *Acinetobacter baumannii*.

II.9 Résultat du test BLSE

Sur la totalité des souches d'entérobactéries, 20,29% étaient productrices de BLSE (figure 16) Tandis que 77,71% n'étaient pas productrices de BLSE.

Nos résultats se rapprochent de ceux décrits par **Zahar et al., (2010)** dont le taux rapporté par les auteurs était de 25,8%.

La production des bêta-lactamases (BLSE) à spectre étendu est assez fréquente chez les entérobactéries (BLSE) car ce sont des enzymes capables d'hydrolyser et donc d'inactiver les antibiotiques de type bêta-lactame tels que les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames. De multiples variantes de BLSE ont été détectées et regroupées en plusieurs familles structurelles et évolutives, dont TEM, SHV, CTX-M, PER, VEB, GES, BES, TLA et OXA. Parmi celles-ci, CTX-M et TEM sont les BLSE les plus courantes (**Paterson et Bonomo, 2005**).



Figure 15 : Synergie de type BLSE⁺ chez une souche d'*Enterobacter cloacae*.

II.10 Répartition des bactéries multi résistantes (BMR)

Sur la totalité des souches qui ont été testées vis-à-vis des antibiotiques nous avons enregistré un taux de 51,65% de BMR isolées à partir du milieu hospitalier. Les entérobactéries occupaient la première place 61,70%, suivies par *Pseudomonas aeruginosa* 27,66% et *Acinetobacter baumannii* 40,64%.

Nos résultats ne corroborent pas ceux d'une étude réalisée par **Sserwada et al.,(2017)** à l'hôpital central de Kawolo en Ouganda où le taux des BMR à Gram négatif rapporté était de 27% .

Selon **Odoyo et al.,(2023)**, les bactéries présentes dans les environnements hospitaliers ont la capacité de former des biofilms sur des surfaces telles que les instruments médicaux, les cathéters et les surfaces des équipements hospitaliers en s'enveloppant dans une matrice protectrice, ce qui leur confère une résistance contre les agents antimicrobiens, la désinfection et la dessiccation.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'environnement hospitalier est considéré comme un réservoir de bactéries Gram négatif, en particulier les bactéries multi-résistantes, qui se propagent par des voies directes ou indirectes et causent des infections nosocomiales. Ces infections sont un reflet de l'état d'hygiène des établissements de santé, elles peuvent être à l'origine de l'augmentation de la morbidité et de la mortalité.

Cette étude nous a permis de déterminer la fréquence des bactéries à Gram négatif les plus retrouvées dans l'environnement hospitalier ainsi que leur profil de résistance vis-à-vis des antibiotiques et des huiles essentielles.

Sur un total de 150 prélèvements issus du milieu hospitalier des différents services (Service de néphrologie, service d'urologie, service de CCV et le bloc opératoire), la totalité des échantillons ont été testés positifs, tandis que seulement 98 échantillons ont été positifs pour les bacilles Gram-négatif. A partir des 98 prélèvements, nous avons isolés des entérobactéries suivies par *Pseudomonas* puis par *Acinetobacter baumannii*. Les autres bactéries Gram négatif étaient présentes avec un effectif de 23.

Les résultats de l'antibiogramme, nous ont permis de noter une résistance élevée chez les entérobactéries à l'AMP, à l'ATM, à l'AMC, au CZ et à la CTX. Tandis qu'une sensibilité a été notée vis-à-vis de la GEN, l'AK, la C, au COT et à l'IMP.

Pour les *Pseudomonas*, nous avons constaté que parmi les souches de *Pseudomonas*, il y avait une forte résistance à la TC à l'ATM, à l'AK, au TIM tandis qu'une résistance moyenne à l'IMP et une faible résistance au CIP a été notée. D'autre part, une sensibilité à la GEN au CIP à la TOB et à l'IMP a été révélée.

Concernant *Acinetobacter baumannii*, les souches ont présenté une résistance totale contre la CZ, la CIP, la TOB, la TIM, la PRL et la TC. La plupart des souches ont montré une résistance à l'AK et à la GEN.

Ces résultats d'antibiogramme nous ont permis de remarquer que 51,65% des souches étaient des BMR

Le test complémentaire visant à révéler les bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) a permis d'identifier la présence de souches d'entérobactéries productrices de BLSE avec un taux de 20,29%.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

A

- **Abi-Ayad. M ; Abi-Ayad. F.Z ; Lazzouni. H.A ;Rebiahi. S.A. (2011).**Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen) JOURNAL OF NATURAL PRODUCT AND PLANT RESOURCES.2011;1:33–36.
- **Akel. Z. (2014).** Profil épidémiologique des Enterobactéries productrices de carbapenemases isolées au CHU ibn- sina Rabat, Thèse de doctorat, Université Mohammed V de Rabat.
- **Ango, P., Konan, K., Kouamé, K., Sai, S., Tchimou, A., Adingra, S., Diomandé, S., & Boua, N. (2019).** Écologie Microbienne des Surfaces et Dispositifs Médicaux au Service de Réanimation du Centre Hospitalier et Universitaire (CHU) de Treichville. HEALTH SCIENCES AND DISEASE, 21(1).
- **Al-Tawfiq. J.A ;Rabaan. A.A ;Saunar. J.V ; Bazzi. A.M. (2020).** Antimicrobial resistance of gram-negative bacteria: A six-year longitudinal study in a hospital in Saudi Arabia, Journal of infection and public health, vol. 13,5 (2020): p 737-745.

B

- **Bakkali, M., Hmid, K., Kari, K., Zouhdi, M., Mzibri, M., &Laglaoui, A. (2015).** Characterization of bacterial strains and their resistance status in hospital environments, Journal of Tropical Diseases, 4. 180.
- **Barbier. F ; Michel. W. (2010).** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ,Medecine sciences : M/S (Paris) 2010 ; 26 : 960–968.
- **Barbosa. L.N ; Alves, F.C.B ; Andrade. B.F.M.T ; Albano. M ; Rall. V.L.M. ; Fernandes. A.A.H ;Buzalaf. M.A.R ; de Leite. A.L ; de Pontes. L.G ; dos Santos. L.D (2020).** Proteomic Analysis and Antibacterial Resistance Mechanisms of *Salmonella Enteritidis* Submitted to the Inhibitory Effect of *Origanum vulgare* Essential Oil, Thymol and Carvacrol, Journal of proteomics vol. 214 (2020), 103625.
- **Béjaoui. A ; Chaabane. H ; Jemli. M ;Boulila. A ; Boussaid. M. (2013).**Essential oil composition and antibacterial activity of *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* Desf.at different phenological stages.Journal of medicinal food, 16(12), 1115–1120.
- **Bencheikh. M ;Gueddah. A ;Soualat. K ; Ben-aissi. H ;Benslama. A ; Harrar. A et Khennouf. S.(2021).**POLYPHENOLIC CONTENTS, ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIAL ACTIVITIES OF AQUEOUS EXTRACTS OF *L. and Trigonella foenum-greacum*. Journal of Applied Biological Sciences, 15(1), 53–63.

- **Birru. M ; Mengistu. M ; Siraj. M ; Aklilu. A ; Boru. K ; Woldemariam. M ;Biresaw. G ; Seid. M ; Manilal. A. (2021).** Magnitude, Diversity, and Antibigrams of Bacteria Isolated from Patient-Care Equipment and Inanimate Objects of Selected Wards in Arba Minch General Hospital, Southern Ethiopia. *Research and reports in tropical medicine* vol. 12 39-49.
- **Blair. J.M ; Piddock. L.J. (2009).** Structure, function and inhibition of RND efflux pumps in Gram-negative bacteria: an update. *Current opinion in microbiology*, 12(5), 512–519.
- **Bonnafous. C. (2013).** Traité scientifique aromathérapie aromatologie et aromachologie. Editions Dangles ;Escalquens, Chemical composition, antibacterial and antibiotic modulatory effect of Croton. *Industrial Crops And Products*, 44 : 630– 633.224.559.
- **Bouazza. F ;Hassikou. R ;Satrani. B ; Ghanmi. M ;Ennadir. J ;Khedid. K. (2014).** In vitro antibacterial activity of Thymus satureioides, Mentha pulegium, and Origanum vulgare essential oils against Escherichia coli isolated from raw sheep milk. *International Journal of Agriculture Innovations and Research*, 3(1), 210-217.
- **Boukhatem. M.N ; Ferhat. A ; Kameli. A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles: revue de littérature, *Revue Agrobiologia* 9(2): 1653-1659.
- **Brenner. D.J and Farmer.J.J.(2015).***Enterobacteriaceae*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman).

C

- **Chemaly. R.F ; Simmons. S ; Dale. C.Jr ;Ghantoji. S.S ; Rodriguez. M ; Gubb. J ; Stachowiak. J ; Stibich. M. (2014).** The role of the healthcare environment in the spread of multidrug-resistant organisms: update on current best practices for containment. *Therapeutic advances in infectious disease* 2, no. 3-4 : 79-90.
- **Chandorkar. N ; Tambe. S ; Amin. P ;Madankar. C. (2021).**A systematic and comprehensive review on current understanding of the pharmacological actions, molecular mechanisms, and clinical implications of the genus *Eucalyptus*. *Phytomedicine Plus*, 1(4), 100089.
- **Chaoui. L ; Mhand. R ;Mellouki. F ;Rhallabi. N.(2019).**Contamination of the Surfaces of a Health Care Environment by Multidrug-Resistant (MDR) Bacteria, *International journal of microbiology*.
- **Chouhan S, Sharma K, Guleria S. (2017).**Antimicrobial Activity of Some Essential Oils- Present Status and Future Perspectives, *Medicines*, 4(3), p.58.

D

- **Da Costa de Souza. G ; Roque Borda. C. A ; Pavan. F. R. (2022).** Beta-lactam resistance and the effectiveness of antimicrobial peptides against KPC producing bacteria. *Drug Development Research*, 83(7), 1534-1554.
- **Debabza. M. (2015).** Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Thèse de doctorat d'état, Université Badji Mokhtar-Annaba, pp. 5-60-61-62-63-64-65.
- **Diggle. S.P ; Whiteley. M.** Microbe Profile: *Pseudomonas aeruginosa*: opportunistic pathogen and lab rat. *Microbiology*, 166(1), p.30.
- **Doughari. H.J ;Ndakidemi. P.A ; Human I.S ; Benade. S.** The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter spp* : an overview, *Microbes and environments*, 26(2), pp.101-112.
- **Duval. RE ;Grare M ; Demoré. B (2019).** Fight Against Antimicrobial Resistance: We Always Need New Antibacterials but for Right Bacteria, *Molecules*, 24(17), p.3152.

E

- **Elangovan. S ;Mudgil. P.(2023).** Antibacterial Properties of *Eucalyptus globulus* Essential Oil against MRSA: A Systematic Review, *Antibiotics*, 12(3), p.474.

F

- **Facciola. A ; Pellicano. G. F ; Visalli. G ; Paolucci. I. A ; VenaziRullo. E ; Ceccarelli. M ; La Fauci. V. (2019).** The role of the hospital environment in the healthcare-associated infections: a general review of the literature. *European Review for Medical & Pharmacological Sciences*, 23(3).
- **Figueiredo. S. (2011).** *Acinetobacter spp*. Réservoir de gènes de carbapénèmes. Médecine humaine et pathologie. Université Paris Sud , Doctoral dissertation, Paris 11.
- **Fontanay. S ;Mougenot. M. E ; Duval. R. E. (2015).** Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel*, 5(2), 109-118.

G

- **Gajdács M, Burián K, Terhes G. (2019).** Resistance Levels and Epidemiology of Non-Fermenting Gram-Negative Bacteria in Urinary Tract Infections of Inpatients and Outpatients (RENFUTI): A 10-Year Epidemiological Snapshot, *Antibiotics*, 8(3), p.143.

- **Ghadiri. H ; Vaez. H ; Khosravi. S ; Soleymani. E. (2012).** The antibiotic resistance profiles of bacterial strains isolated from patients with hospital-acquired bloodstream and urinary tract infections, *Critical care research and practice*.
- Grimont. P.A.D. and Grimont.F.(2015).***Klebsiella*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman).
- **Golkar. Z ; Bagasra. O ; Pace. D.G. (2014).** Bacteriophage therapy: a potential solution for the antibiotic resistance crisis, *The Journal of Infection in Developing Countries*, 8(02), pp.129-136.
- **Guillard. T ; Jacquier. H ; Muggeo. A ; Cambau. E. (2020).** Entérobactéries et fluoroquinolones : mécanismes de résistance et antibiogramme, Volume, Issue, /2020, Pages, ISSN 2211-9698

H

- **Hammer. K.A ; Carson. C.F ; Riley. T.V. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts, *Journal of applied microbiology*, 86(6), pp.985-990.

J

- Jorth. P ; McLean. K ; Ratjen. A ; Secor. P.R ; Bautista. G.E ; Ravishankar. S ;Rezayat. A ;Garudathri. J ; Harrison. J.J ; Harwood. R.A ;Penewit. K ; Waalkes. A ; Singh. P.K ;Salipante. S.J. (2017).**Evolved Aztreonam Resistance Is Multifactorial and Can Produce Hypervirulence in *Pseudomonas aeruginosa*, *MBio*, 8(5), pp.10-1128.
- **Jovanka. L ; Ivana. C ; Goran. T ; Sava. P ; Slavica. S ; Tamara. C. G ; Ljiljana. K. (2011).**In vitro antibacterial activity of essential oils from plant family *Lamiaceae*.*Rom Biotech Lett*, 16(2), 6034-6041.

K

- Kaid Slimane. I.L.(2004).**Contribution à l'étude de la composition chimique et du pouvoir antibactérien des huiles essentielles de *Cistusladaniferus* de la région de Tlemcen, Mémoire ing. D'état en Biologie, Option : Contrôle de Qualité et Analyse. Univ. Tlemcen, pp: 23-25.
- **Karabi Saha ; NayelDaneesh Kabir ; Rayhanul Islam ; Md ; Mohammed Badrul Amin ; Kazi InjamamulHoque ; KakaliHalder ; Ahmed Abu Saleh ; AnowarKhasru Parvez. Md ; Khurshida Begum ; Jahangir Alam. M ; Mohammad Aminul Islam. (2022).** Isolation and characterisation of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* from hospital environments in tertiary care hospitals in Dhaka, Bangladesh, *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, Volume 30,2022,Pages 31-37,ISSN 2213-7165,

- **Kramer. A ; Schwebke. I ; Kampf. G. (2006).** How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review, BMC infectious diseases, 6(1), pp.1-8.
- Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. (2021)** *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms, Pathogens, 10(3), p.373.

L

- Lagha. N. (2015).** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de Doctorat : Sciences. Tlemcen, Algérie : Université Abou bekrBelkaïd. 80 p.
- **Lemmen. S.W ; Häfner. H ; Zolldann. D ; Stanzel. S ; Lütticken. R. (2004).**Distribution of multi-resistant Gram-negative versus Gram-positive bacteria in the hospital inanimate environment,Journal of Hospital Infection, 56(3), pp.191-197.
- **Liaïd. A. (2012).** Étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif non fermentantes au niveau du C.H.U de Tlemcen. Mémoire de magister. Option : Maîtrise de la qualité microbiologique et du développement microbien. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, 95 p.
- **Lombrea. A ; Antal. D ; Ardelean. F ; Avram. S ; Pavel. I.Z ; Vlaia. L ; Mut. A.M ; Diaconeasa. Z ; Dehelean. C.A ; Soica. C. (2020).** A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil,International Journal of Molecular Sciences, 21(24), p.9653.
- **Lozniewski. A ; Rabaud. C. (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques .Infections associées aux soins : CCLIN Sud-Est ; 4 :1.

M

- **Martinez. J.L. (2009).** The role of natural environments in the evolution of resistance traits in pathogenic bacteria,Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences, 276(1667), pp.2521-2530.
- Mahfouf. N. (2018).** Étude de l'espèce *Origanumvulgare*. Botanique. Thèse de doctorat. Option : Écotoxicologie, Environnement et Santé (Algérie), Université Chadli Benjedid - El Tarf. 105p.
- **Mellouli. A ; Maamar. B ; Bouzakoura. F ; Messadi. AA ; Thabet. L. (2021).** Colonisation Et Infection à *Acinetobacter Baumannii* Dans Une Unité De Réanimation Des Brûlés En Tunisie, Annals of Burns and Fire Disasters, 34(3), p.218.

- **Mohanty. S ;Baliyarsingh. B ; Nayak. S. K. (2021).** Antimicrobial Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: A Concise. Antimicrob. Resist. A One Health Perspect, 49, 177-192.
- **Mota Vde. S ; Turrini. R.N ; Poveda. Vde B. (2015).**Atividadeantimicrobiana do óleo de *Eucalyptus globulus*, xilitol e papaína: estudopiloto, Revista da Escola de Enfermagem da USP, 49, pp.0216-0220.

N

- **Nabila. S ; El Ayne ; Adil. E ; Abedelaziz. C ; Nabila. A ; Samir. H ; Abdelmajid. S. (2014).** Rôle de l'environnement hospitalier dans la prévention des infections nosocomiales : Surveillance de la flore des surfaces à l'hôpital El Idrissi de Kenitra- Maroc. European Scientific Journal, ESJ, 10(9).
- **Nadeem. S. G ; Qasmi. S. A ;Afaque. F ; Saleem. M ; Hakim. S. T. (2009).** Comparison of the in vitro susceptibility of Clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in a local hospital setting in Karachi, Pakistan. British Journal of Medical Practitioners, 2(4), 35-39.
- **Negreiros. M. D. O ; Pawlowski. Â ; Soares. G. L. G ; Motta. A. D. S. D ;Frazzon. A. P. G. (2016).**In vitro antimicrobial activity of essential oils from *Heterothalamus* Less.(*Asteraceae*) against clinically relevant bacterial and fungal species. Revista Brasileira de Biociências: Brazilian Journal of Biosciences. Porto Alegre. Vol. 14, n. 1 (jan./mar. 2016), p. 26-31.

P

- Partridge. S. R. (2015).**Resistance mechanisms in *Enterobacteriaceae*. Pathology, 47(3), 276–284.
- **Paterson. D.L ; Bonomo. R.A. (2005).** Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update, Clinical microbiology reviews, 18(4), pp.657-686.
- **Peirano. G ;Pitout. J.D. (2010)** Molecular epidemiology of *Escherichia coli* producing CTX-M beta-lactamases: the world wide emergence of clone ST131 O25:H4, International journal of antimicrobial agents, 35(4), pp.316-321.
- **Peleg. A.Y and Hooper.D.C.(2010).**Hospital-Acquired Infections Due to Gram-Negative Bacteria. New England Journal of Medicine, 362, 1804-1813.
- **Penner. J.L. (2015).***Proteus*. In Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman).

- **Ponce. A. G ; Fritz. R ; Del Valle. C. E ; Roura. S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *Lebensmittel- Wissenschaft und -Technologie*, 36, (pp 679-684).

R

- **Raut. J.S. and Karuppayil, S.M. (2014).** A Status Review on the Medicinal Properties of Essential Oils. *Industrial Crops and Products*, 62, 250-264.

- **Rock. C ;Donnenberg. M. S. (2014).** Human pathogenic *Enterobacteriaceae*.

- **Rossolini. G.M ; Arena. F ;Pecile. P ; Pollini. S. (2014).** Update on the antibiotic resistance crisis, *Current opinion in pharmacology*, 18, pp.56-60.

- **Russotto. V ;Cortegiani. A ; Raineri. S.M ; Giarratano. A. (2015).** Bacterial contamination of inanimate surfaces and equipment in the intensive care unit, *Journal of intensive care*, 3(1), pp.1-8.

S

- **Saadi. S ; Allem. R ;Sebaihia. M ; Merouane. A ; Bakkali. M. (2021).** Bacterial contamination of neglected hospital surfaces and equipment in an Algerian hospital: an important source of potential infection, *International journal of environmental health research*, 32(6), pp.1373-1381.

- **Saghi. H ; Bahador. A ; Khaledi. A ;Atae. K. R ; AMIRI. D. F ; Esmaceli, D. (2015).** Antibacterial effects of *Origanum vulgare* essence against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from selected hospitals of Tehran, Iran.

- **Sbiti. M ; Lahmadi. K ; Louzi. L. (2017).** Profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi , *Pan African Medical Journal*, 28(1).

- **Scheutz. F. and Strockbine.N.A.(2015).** *Escherichia*. In *Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria* (eds M.E. Trujillo, S. Dedysh, P. DeVos, B. Hedlund, P. Kämpfer, F.A. Rainey and W.B. Whitman).

- **Simirgiotis, M. J., Burton, D., Parra, F., López, J., Muñoz, P., Escobar, H., & Parra, C. (2020).** Antioxidant and antibacterial capacities of *Origanum vulgare* L. essential oil from the arid Andean Region of Chile and its chemical characterization by GC-MS. *Metabolites*, 10(10), 414.

O

- **Odoyo. E ; Matano. D ; Tiria. F. et al. (2023).** Environmental contamination across multiple hospital departments with multidrug-resistant bacteria pose an elevated risk of

Références bibliographiques

healthcare-associated infections in Kenyan hospitals, *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 12(1), pp.1-9.

W

-Weber. D.J ; Anderson. D ;Rutala. W.A. (2013).The role of the surface environment in healthcare-associated infections, *Current opinion in infectious diseases*, 26(4), pp.338-344.

Z

-Zahar. J.R ; Bille. E ; Schnell. D ; Lanternier. F ; Mechai. F ; Masse. V ; Lortholary. O. (2009). Diffusion communautaire des entérobactéries sécrétrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE). *Médecine/sciences*, 25(11), 939–944.

ANNEXES

Annexe I

❖ Matériel non biologique

- Boite de pétri
- Ecouvillons
- Lames et lamelles
- Pince métallique
- Pied à coulisse
- Pipette pasteur stérile
- Tubes à essai stériles
- Tubes sec

Appareillage

- Etuve 37°C
- Microscope optique
- Autoclave

Milieux de culture

❖ Gélose Nutritive

Composition pour 1 litre du milieu

- Peptone...10g
- Extrait de viande..... 3g
- Extrait de levure.....3g
- Chlorure de sodium.....5g
- Agar...18g
- pH.....7,3±0,2



❖ Milieu Mueller Hinton

Composition pour 1 litre du milieu

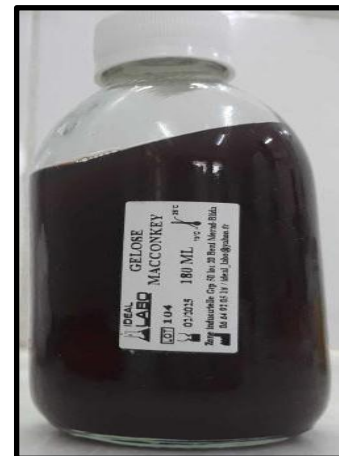
- Peptone 17,5g
- Extrait de viande2g
- Amidon 1,5g
- Agar 17g
- pH final7, 3 ± 0,1



❖ Gélose MacConkey

Composition pour 1 litre du milieu

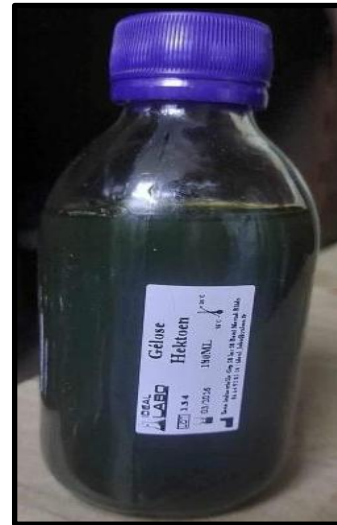
- Peptone pancréatique de gélatine 17g
- Tryptone.....1,5g
- Peptone pepsique de viande..... 1,5g
- Lactose 10g
- Sels biliaires 1,5 g
- Chlorure de sodium..... 5g
- Rouge neutre.....30 mg
- Cristal violet.....1 mg
- Agar 13,5g
- pH 7,1 ± 0,2



❖ **Gélose Hektoen**

Composition pour 1 litre du milieu

- Peptone pepsique de viande.....15g
- Extrait de viande.....3g
- Extrait de levure.....3g
- Chlorure de sodium.....5g
- Sels biliaries.....4g
- Lactose.....12g
- Salicine... ..2g
- Saccharose12g
- Fuchsine acide0,1g
- Bleu de Bromothymol65 mg
- Agar... ..18g
- pH 7,5 ± 0,2

**Les réactifs utilisés dans les tests d'orientation****Tableau X.** réactifs utilisés dans les tests d'orientation

Réactif	Test	Photo
Violet de Gentiane + Lugol + Fuschine + Alcool	Coloration de Gram	

Eau oxygénée	Catalase	
Disque d'oxydase	Oxydase	

Les solutions et les disques imprégnés

- L'eau physiologique
- L'huile à immersion
- L'huile de vaseline
- Disques d'antibiotiques
- Disques vierges stériles

❖ Matériel biologique

- Les prélèvements positifs

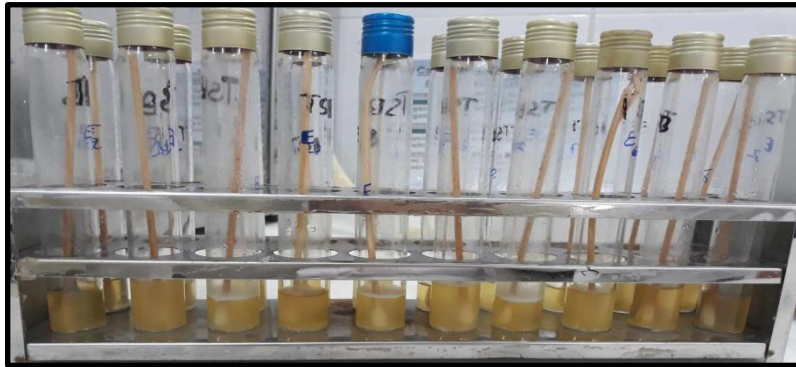


Figure 16 : Les prélèvements positifs (Photo originale, 2023)

Annexes II

❖ Coloration de Gram

Cette coloration permet de mettre en évidence les caractéristiques de la paroi bactérienne, afin de distinguer entre les Gram négatifs et les Gram positifs. Les bactéries Gram négatif sont riches en lipide et pauvres en peptidoglycane (20%), contrairement les bactéries Gram positif sont pauvres en lipides alors que leur paroi est constituée principalement par le peptidoglycane (80%).

Commençant par la réalisation de frottis qui se fait comme suit :

- On étale une goutte de suspension bactérienne sur la lame et on la fixe a la chaleur
- Coloration: Recouvrir la lame de violet de gentiane et laisser agir 1 minute.
- Rincer avec l'eau de robinet
- Fixation: Recouvrir de lugol et laisser agir 1 minute.
- Rincer a l'eau de robinet
- Décoloration: recouvrir la lame avec l'alcool et laisser agir pendant 30 secondes puis rincer avec l'eau de robinet
- Recolorer avec la Fushine diluée et laisser agir 1 minute.
- Laver a l'eau de robinet et sécher entre 2 papiers.

□ Déposer une goutte d'huile à immersion sur la lame et l'observer avec un microscope optique (objectif X100).

Après observation, les bactéries Gram négatif apparaissent en rose et les bactéries Gram positif apparaissent en violet.

❖ **Protocole de préparation de la galerie Api 20 E**

➤ **Préparation de la galerie**

-Remplir le fond de la boîte par l'eau distillée stérile pour humidifier la galerie, puis déposer la galerie dans la boîte stérilement.

➤ **Préparation de l'inoculum**

-A partir d'une culture jeune (de 18 à 24h), on prélève quelques colonies isolées et identiques à partir de notre gélose, puis les mettre dans 5 ml d'eau physiologique.

➤ **Inoculation de la galerie**

- A l'aide d'une seringue stérile, on inocule les microtubes en plaçant la pointe de la seringue contre la paroi de micro tube et en inclinant la galerie vers l'avant afin d'éviter l'apparition des bulles d'air.

-Pour les tests : ADH, ODC, LDC, H₂S et URE, on doit inoculer leurs tubes et créer une atmosphère d'anaérobiose tout en remplissant les cupules par l'huile de vaseline.

-Pour le test CIT, VP et GEL, remplir le tube et la cupule. Pour les autres tests, remplir les cupules seulement.

-Fermer la boîte et incuber pendant 18 à 24h à 37°C.

-Après incubation, la lecture se fait par l'ajout des réactifs pour certains tests :

Indole : Kovacs / **TDA** : réactif TDA / **VP** : réactifs VP1/VP2 (Laisser agir 10 min avant la lecture).



Figure17:Galerie Api 20E(Photo originale, 2023)

Tableau XI. Différents tests d'api 20E

Test	Intérêt	Test	Intérêt
ONPG	Test de l'enzyme β -galactosidase par hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside	GEL	Production de l'enzyme gélatinase
ADH	Décarboxylation de l'acide aminé arginine par l'arginine dihydrolase	GLU	Fermentation du glucose
LDC	Décarboxylations de l'acide aminé lysine par la lysine décarboxylase	MAN	Fermentation du mannose
ODC	Décarboxylations de l'acide aminé ornithine par l'ornithine décarboxylase	INO	Fermentation de l'inositol

CIT	Utilisation du citrate comme seule source de carbone	SOR	Fermentation du sorbitol
H2S	Production de sulfure d'hydrogène	RHA	Fermentation du rhamnose
URE	Production de l'uréase	SAC	Fermentation du saccharose
TDA	Détection de l'enzyme tryptophane désaminase	MEL	Fermentation du mélibiose
IND	Production d'indole à partir de tryptophane par l'enzyme tryptophanase	AMY	Fermentation de l'amygdaline
VP	Détection de l'acétoïne produite par fermentation du glucose	ARA	Fermentation de l'arabinose

➤ Réactifs utilisés pour la lecture de certains tests



Figure 18 : Réactifs utilisés pour la lecture de certains tests d'Api 20 E (**Photo originale, 2023**)

❖ Protocole de préparation de la galerie Api 20 NE

La préparation de l'inoculum est identique à celle de l'API 20 E sauf que :

- Du NO₃ jusqu'à PNPG seulement les tubules sont remplis avec la suspension bactérienne.
- Pour remplir du GLU au PAC, on doit prendre 200µl de la suspension bactérienne et la transférer dans l'ampoule d'API AUX Medium et l'homogénéiser puis inoculer les tubes et les cupules tout en évitant les bulles d'air.
- Les tests GLU, ADH, URE s'effectuent en anaérobiose.
 - L'incubation de 18 à 24h à 37 °C.
 - La lecture se fait par l'ajout des réactifs : NIT1, NIT2 pour NO₃ et Kovacs pour RTP et la poudre de zinc est utilisée dans le cas où le NO₃ est négatif.
 - Pour les autres tests la lecture se fait selon le virage de couleur et la présence des troubles.



Figure 19 : Galerie Api 20NE (**Photo originale, 2023**)

➤ Réactifs utilisés pour la lecture de certains tests



Figure 20 : Réactifs utilisés pour la lecture de certains tests d'Api 20NE
(Photo originale, 2023).