REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

Université de Blida 1



Faculté des sciences de la nature et de la vie

Département de biologie

Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention du diplôme de master en Biologie

Option: Microbiologie

Sous le thème

Profil de résistance des germes et évaluation de l'activité antimicrobienne de certaines huiles essentielles

Soutenu le : 16/07/2023

Réalisé par :

■ M^{lle}. AISSA Meriem

• M^{lle}. BENHAMED Soumia

Devant le jury :

Mme CHELGHOUM H .	MCB	Université Blida -1	Présidente
Mme TOUAIBIA M.	MCA	Université Blida -1	Examinatrice
Mme OUAHCHIA C.	MCB	Université Blida -1	Promotrice
Mme HAMAIDI F.	Pr	Université Blida -1	Co-Promotrice

Promotion: 2022 – 2023

Remerciements

Dans un premier temps on remercie le bon Dieu, le tout puissant, de nous avoir donné la santé, la volonté et la patience pour mener à terme notre formation de master et de pouvoir réaliser ce mémoire.

Nous tenons à exprimer nos profonds remerciements à l'ensemble du membre de jury:

Nous tenons à gratifier

Mme. CHELGHOUM H.

D'avoir accepté de présider le jury de ce mémoire.

Nous adressons nos vifs remerciements à Mme. TOUAIBIA M.

Pour l'intérêt qu'elle a porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de le juger.

Nous remercions également notre promotrice

Mme. OUAHCHIA et notre Co-promotrice Mme. HAMAIDI

Pour leur encadrement, orientation et pour la confiance qu'elles nous ont témoignée tout au long de ce travail.

Nous voudrons remercier plus particulièrement

Dr. BENDJAZIA, Dr. OUANES, Dr. ZEMOULI

Pour son aide et son soutien.

Nous remercions énormément

Mr. TEFAHI et Les doctorants Mr. BOUTEKFA et Mme. HENNI.

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

A fin de n'oublier personne, nos vifs remerciements s'adressent a tous ceux qui nous ont aidé à la réalisation de ce modeste mémoire.

Dédicac

Avant tout je remercie 'ALLAH' le tout puissant et miséricordieux de m'avoir accordé la force, le courage et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail. J'ai la chance d'avoir été accompagnée à chaque étape de ce fastidieux périple par les personnes que j'aime.

A Mes Très Chers Parents

Tous les mots du monde ne sauraient exprimer l'immense amour que je vous porte, ni la profonde gratitude que je vous témoigne pour tous les efforts et les sacrifices que vous n'avez jamais cessé de consentir pour mon instruction et mon bien-être.

A mes frères : Abdel elnour et Lokman

Vous avez fait preuve de patience et de dévouement. Les mots ne sauraient exprimer l'étendue de mon affection et de ma gratitude.

A ma grande famille :

Vous avez toujours été à mes côtés, votre amour et votre confiance en moi m'ont poussé vers l'avant et j'espère être à la hauteur de vos espérances.

A ma très chère sœur et binôme Soumia.

Avec qui j'ai fait un beau parcours sur le travail de ce mémoire.

A mes amis : Hafsa , Asmaa , lylia , Rahil , khadidja , Zineb , Maissa :

Vous m'avez apporté beaucoup de bonheur, de fous rires et une bonne humeur tout au long de mon cursus. Je vous remercie pour tous les bons moments que nous avons passés ensemble en quête de savoir, pour vos encouragements, votre aide, votre disponibilité, et pour tout ce que vous m'avez apporté.

Une dédicace toute particulière à Areej, lydia, Rima, Rania:

L'université était le point de notre connaissance et nous avons passé des moments plus que merveilleux ensemble, Aucun mot ne pourrait exprimer l'attachement, l'amour et la tendresse que j'éprouve pour vous mes puces

Et enfin à tous ceux qui me sont chers.



Dédicac

Avec un énorme plaisir je dédie ce modeste travail

A ma Très Chère Mère

Source inépuisable de tendresse, de patience et de sacrifice. Ta prière

et ta Bénédiction m'ont été d'un grand secours tout au long de ma vie. Quoique je puisse dire et écrire, je ne pourrais exprimer ma grande affection et ma profonde reconnaissance. Puisse Dieu tout puissant, te préserver et t'accorder santé, longue vie et Bonheur.

A mon Très Cher Père

Tu trouvera dans ce travail le fruit de toutes tes peines et tous tes efforts. En ce jour, j'espère réaliser l'un de tes rêves. Aucune dédicace ne saurait exprimer mes respects, ma reconnaissance et mon profond amour.

Puisse Dieu te préserve et te procure santé et bonheur.

A mon frère Habib et sa femme Imane et leurs fille Ritel, Mon frére Abdellah et sa femme Amel ainsi que leurs fille Ines, Ma sœur Messouda et son mari Hamza et leurs enfants Amel, Hicham et Anes, Ma sœur Khadidja et son mari Amine, Mon frére abdelkader et a toutes la famille Benhamed et Laouar

Aucune dédicace ne peut exprimer la profondeur des sentiments fraternels et d'amour, d'attachement que j'éprouve à votre égard. Puisse dieu vous protéger, garder et renforcer notre fraternité.

A mes chères amies Asmaa, Amina, Sonia, Ikram, Areej, Lydia et Hafsa Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi.

A mon Binôme Meriem

Avec qui j'ai fait un beau parcours sur le travail de ce mémoire.

A toute la promotion de microbiologie 2022 - 2023

Qu'Allah vous accorde le succès à vous tous.



Liste des tableaux

Tableau I. Total de prélèvements recueillis 11
Tableau II. Échelle d'estimation de l'activité antibactérienne 20
Tableau III. Résultats de l'identification morphologiques des souches isolées (Étude macroscopique) 28
Tableau IV. Résultats de coloration de Gram (urine-pus) 30
Tableau V. Résultats des tests de catalase et d'oxydase 31
Tableau VI. Résultats de l'identification biochimique des souches bactériennes32
Tableau VII. Répartition globale des différentes espèces isolées à partir des urines
Tableau VIII. Répartition globale des différentes espèces isolées à partir du pus35
Tableau IX. Profil d'antibiorésistance des Staphylococcus haemolyticus isolées à partir des urines 36
Tableau X. Répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements urinaires et purulentes

Liste des figures

Figure 1 : Cibles des antibiotiques et mécanismes de résistance aux antibiotiques	. 8
Figure 2 : Partie des plantes utilisées pour l'extraction des huiles essentielles	12
Figure 3 : Organigramme récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU et de l'ECB du pus	. 14
Figure 4: Principales étapes de l'identification bactérienne	15
Figure 5: Antibiogramme par méthode de diffusion des disques	17
Figure 6 : Taux de prélèvements urinaires positifs	22
Figure 7: Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le sexe	23
Figure 8 : Répartition des prélèvements urinaires positifs selon l'âge	23
Figure 9 : Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le type de culture	24
Figure 10 : Taux de prélèvements purulents positifs	24
Figure 10 : Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe	. 25
Figure 11 : Répartition des prélèvements purulents positifs selon l'âge	25
Figure 12 : Répartition des prélèvements purulents selon le type de culture	26
Figure 13 : Observation microscopique des différents éléments cellulaires des urin	
Figure 14 : Observation microscopique à l'état frais du pus, B) Frotti coloré au bleu de méthylène	28
Figure 15: Résultats du test de coagulase: a) coagulase positif, b) coagulase négatif	31
Figure 16 : Répartition des bactéries isolées à partir des urines selon le groupe bactérien	33

Figure 17 : Répartition des bactéries isolées à partir du pus selon le groupe
bactérien
Figure 18 : Profil d'antibiorésistance des Entérobactéries isolées à partir des urines
Figure 19 : Résultats de l'antibiogramme de quelques souches : A : Entérobactéries, B : P.
aeruginosa C : Staphylococcus haemolyticus
Figure 20: Profil d'antibiorésistance des entérobactéries isolées à partir du pus38
Figure 21 : Profil d'antibiorésistance des Staphylococcus aureus isolées à partir du
pus
Figure 22 : Profil d'antibiorésistance des Pseudomonas aeruginosa isolées à partir du
pus

Liste des abréviations

AK: Amikane.

AMC: Amoxicilline +acide clavulanique.

AMP: Ampiciline.

AMX: Amoxicilline.

BGN: Bacille à Gram négatif.

BGNNF: Bacille à Gram négatif non fermentaire.

BHIB: Bouillon cœur cerveau.

BMR: Bactérie multi résistante.

C: Chloramphénicol.

CAZ: Céftazidime.

CIP: Ciprofloxacine.

CLI: Clindamycine.

CMB: Concentration minimale bactéricide.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

CN: Gentamicine.

COT : Trémithoprime + sulfémoxazol.

CTX: Céfotaxine.

CZ: Céfazoline.

DZI: Diamètres de zone d'inhibition.

ECB: Examen cytobactériologique.

ECBU: Examen cytobactériologique des urines.

EHS: Établissement Hospitalier Spécialisé.

EPH: Etablissement public hospitalier.

ERY: Erythromycine.

FC: Acide fusidique.

FOS: Fosfomycine.

GB: Globule blanche.

GN: Gélose nutritif.

GR : Globule rouge.

GSC: Gélose au sang cuit.

HE: Huile essentielle.

IMP: Imipénème.

LPS: Lipopolysaccharides.

MH: (Muleller-Hinton).

MHE: Masse d'huile essentielle récupérée.

MHF: Masse végétale fraiche utilisé pour l'extraction.

NA: Acide nalidixique.

ODC: Ornithine décarboxylase.

OFX: Ofloxacine.

OMS: Organisation mondiale de la Santé.

OX: Oxacilline.

PAL: Phosphatase alcaline.

PIP: Pipéraciline.

PNN: Polynucléaires neutrophiles.

PYra: Pyrrolidonyl-arylamidase.

R: Résistant.

RHE: Rendement en huile essentielle.

RIF: Rifampicine.

S: Sensible.

TEI: Teicoplanine.

TET: Tétracycline.

TIC: Ticarciline.

TIM: Ticarciline + acide clavularique.

TOB: Tobramycine.

TOT : Transplantation d'organes et des tissus.

URE : Urée.

VAN: Vancomycine.

Résumé

La résistance aux antibiotiques est devenue une menace sérieuse pour la santé publique mondiale. La recherche de nouvelles substances à effet antimicrobien constitue un besoin pressant dans la lutte contre les infections bactériennes.

L'objectif de notre étude est d'identifier et d'établir le profil de résistance des bactéries incriminées dans les infections urinaires et purulentes et d'évaluer l'effet antibactérien des huiles essentielles.

Cent cinquante-et-un (151) prélèvements d'urines et cent six (106) prélèvements de pus provenant de différents établissements de santé ont été analysés au niveau du laboratoire d'(EHS) de transplantation d'organes et des tissus à Blida (TOT). Les résultats obtenus ont montré que 29,14% des prélèvements urinaires étaient positifs ainsi que 61,32% des prélèvements de pus.

Au total, 89,79% des souches bactériennes isolées à partir des prélèvements urinaires étaient des bactéries à Gram négatif de la famille des entérobactéries avec une prédominance d'*Escherichia coli* (57,14%). 48% des souches bactériennes isolées à partir des prélèvements purulents étaient des bactéries à Gram positif avec une prédominance de *Staphylococcus aureus* (45,33%).

L'étude de l'antibiorésistance a montré que les souches d'*Enterobacteriaceae* isolées étaient résistantes à la majorité des antibiotiques appartenant à la famille des β–lactamines. Les souches de *Staphylococcus aureus* ont exprimé une résistance très élevée vis- à-vis de l'érythromycine et de l'acide fusidique .Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étaient totalement résistantes à la Ticarcilline (100%).

Les résultats de l'antibiogramme ont permis de mettre en évidence des souches de bactéries multi résistantes (BMR) représentant 17,74% des isolats.

Mots clés : Infections urinaires, infections purulentes, bactéries muti-résistantes, antibiogramme, huiles essentielles.

Abstract

Antibiotic resistance has become a serious threat to global public health. The search for new substances with an antimicrobial effect is a pressing need in the fight against bacterial infections.

The aim of our study was to identify and establish the resistance profile of bacteria involved in urinary tract and purulent infections, and to assess the antibacterial effect of essential oils.

One hundred and fifty-one (151) urine samples and one hundred and six (106) pus samples from various health establishments were analysed at the (EHS) organ and tissue transplant laboratory in Blida (TOT). The results showed that 29.14% of the urine samples were positive and 61.32% of the pus samples.

A total of 89.79% of bacterial strains isolated from urinary samples, were Gramnegative bacteria of the Enterobacteriaceae family, with a predominance of *Escherichia coli* (57.14%). 48% of bacterial strains isolated from purulent samples, were Gram-positive bacteria, with a predominance of *Staphylococcus aureus* (45.33%).

The study of antibiotic resistance showed that the Enterobacteriaceae strains isolated were resistant to the majority of B-lactam antibiotics. *Staphylococcus aureus* strains were highly resistant to erythromycin and fusidic acid *.Pseudomonas aeruginosa* strains were totally resistant to Ticarcillin (100%).

Antibiotic susceptibility testing revealed strains of multi-resistant bacteria (MRB), representing 17.74% of isolates.

Key words: Urinary tract infections, purulent infections, multi-resistant bacteria, antibiotic susceptibility testing, essential oil.

ملخص

أصبحت مقاومة المضادات الحيوية تهديدا خطيرا للصحة العامة العالمية. البحث عن مواد جديدة مضادة للميكروبات هو حاجة ملحة في مكافحة العدوى البكتيرية.

الهدف من دراستنا هو تحديد ملف مقاومة البكتيريا المتورطة في الالتهابات البولية والصديدية وتقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيوت الاساسية.

تم تحليل مائة وواحد وخمسين (151) عينة بول و مائة و ستة (106) عينات القيح من مرافق صحية مختلفة في مختبر زراعة. الأعضاء والأنسجة في البليدة (EHS), أظهرت النتائج أن 29.14٪ من عينات البول كانت إيجابية و61.32٪ من عينات الصديد كانت إيجابية.

من مجموعة البكتيريات المعزولة من العينات البولية, 89.79٪ بكتيريا سالبة الغرام من عائلة البكتيريا المعوية مع هيمنة Staphylococcus aureus ومن مجموعة البكتيريات المعزولة من عينات القيح تم عزل 48٪ بكتيريا إيجابية مع هيمنة (45.33٪).

الكلمات المفتاحية:

الالتهابات البولية، الالتهابات القيحية، البكتيريا متعددة المقاومة، المضادات الحيوية، الزيت العطري

Table des matières

Remerciements
Dédicaces
Liste des tableaux
Liste des figures
Liste des abréviations
Résume
Abstract
منخص
Introduction
Chapitre I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE
I. GÉNÉRALITÉS SUR LES INFECTIONS URINAIRES ET SUR LESINFECTIONS
PURULENTES3
I.1.Infections urinaires
I. 2.Infections purulentes
II. APERÇU SUR QUELQUES GROUPES DE MICROORGANISMES
4
II.1. Bacilles à Gram négatif fermentaires (Famille des
Enterobacteriaceae)
II.1.1 Habitat et pouvoir pathogène
II.1.2 Caractères morphologiques
II.1.3 Caractères culturaux
II.1.4 Caractères biochimiques communs
II.2 Bacilles à Gram négatif non fermentaires (Pseudomonas aeruginosa)5

II.2.1 Habitat et pouvoir pathogène 5
II.2.2 Caractères morphologiques5
II.2.3 Caractères culturaux5
II.2.4 Caractères biochimiques5
II.3 Cocci à Gram positif5
II.3.1 Staphylococcus aureus
II.3.1.1 Habitat et pouvoir pathogène5
II.3.1.2 Caractères morphologiques6
II.3.1.3 Caractères culturaux6
II.3.1.4 Caractères biochimiques6
II.3.2 Staphylococcus haemolyticus6
II.3.2.1 Habitat et pouvoir pathogène
II.3.2.2 Caractères morphologiques6
II.3.2.3 Caractères culturaux6
II.3.2.4 Caractères biochimiques7
III. ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORESISTANCE7
III.1 Antibiotiques
III .2 Antibiorésitance
III .2 .1 .Types de résistance7
III .2 .1 .1 Résistance naturelle
III .2 .1 .2 Résistance acquise
III .2 .2 Mécanisme de résistance aux antibiotiques8
IV. Activité antibactérienne des huiles essentielles9
IV.1 Huiles essentielles9
IV. 1.1 Définition9
IV.1 .2 Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan

L.)	9
IV.1 .3 Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'eucalyptus	10
Chapitre II : PARTIE EXPÉRIMENTALE	
I. MATÉRIELET MÉTHODESI.1 Matériel	
a. Matériel non biologique	11
b. Matériel biologique	11
b.1 .Types de prélèvements	11
b.2.Matériel végétal	12
I.2 Méthodes	12
I.2.1 Méthodes de prélèvement	12
a. Prélèvement des urines	12
b. Prélèvement du pus	12
I.2.2 Méthodologiede diagnostic	13
I.2.2.1 Examen cytobactériologique des urines	13
I.2.2.2 Examen cytobactériologique du pus	13
I.2.2.3 Isolement et purification des bactéries	13
I.2.3 Tests de sensibilité aux antibiotiques	15
I.2.3.1 Automate pour identification et antibiogramme « Vitek 2 Compacte »	16
I.2.3.2 Antibiogramme par méthode de diffusion sur gélose	16
a.Préparation de l'inoculum	16
b. Ensemencement	16
c. Application des disques d'antibiotiques	16
d. Incubation	17
e. Lecture et interprétation des résultats	17
I.2.4 Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau	17
I.2.5 Rendement en huile essentielle	
1.7.6 Evaluation de l'activité antihactérienne des huiles essentielles	18

II. RESULTATS ET DISCUSSION

II.1 Données épidémiologiques
II.1.1 Répartitions des prélèvements urinaires
II.1.2 Répartition des prélèvements purulents24
II.2 Données microbiologiques
II.2. 1.Aspect macroscopique des urines
II. 2. 2. Résultats de l'examen cytologique des urines (examen microscopique)
II.2.3. Résultats de l'examen cytologique du pus (examen microscopique)
II.3 .1.Résultats de l'identification morphologiques des souches isolées (étude macroscopique)
II. 3 .2. Résultats de la coloration de Gram (Etude microscopique) 30
II.3.3 Résultats des tests d'orientation31
a-Résultats des tests de catalase et d'oxydase
b- Test de coagulase31
II. 3. 4. Résultats de l'identification biochimique des bactéries
II. 4. Répartition des bactéries selon le type de prélèvement32
a. Urine32
b. Pus32
II.5 Répartition des bactéries selon l'espèce bactérienne
a .Urines34
b. Pus35
II.6 Profil d'antibiorésistance des hactéries isolées à partir des prélèvements

A. Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des urines	36
A.1. Entérobactéries	36
A.2. Staphylococcus haemolyticus	36
A.3. Pseudomonas aeruginosa	37
B. Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir du pus	37
B.1. Entérobactéries	37
B.2. Staphylococcus	38
B.3. Pseudomonas aeruginosa	39
II. 7. Répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements	urinaires et
purulentes	40
CONCLUSION	
CONCLUSION	47
Références bibliographiques	
Références bibliographiques	
Annexes	

INTRODUCTION

Les maladies infectieuses sont le résultat du développement d'agents pathogènes microscopiques dans l'organisme et peuvent être d'origine bactérienne, virale ou mycosique. Parmi ces infections, on distingue les infections urinaires et les infections purulentes (Abu-Harirah et al., 2020; Pilly, 2014).

L'intérêt porté ces dernières années aux infections urinaires et purulentes et leur prise en charge en thérapeutique anti-infectieuse restent encore d'actualité. En effet, ces infections constituent un véritable problème de santé publique non seulement par leur fréquence, mais également par leur difficulté de traitement (**Rajput et al., 2023**).

Les agents antimicrobiens ou les antibiotiques sont des substances qui ont la capacité de tuer les bactéries ou de les empêcher de se multiplier. L'utilisation d'antibiotiques de manière inappropriée entraîne l'apparition de bactéries résistantes aux antibiotiques (**Rajput et al., 2023**). En effet, la fréquence élevée des résistances aux antibiotiques constatées chez les bactéries pathogènes complique les conduites thérapeutiques. Il est donc important d'une part d'évaluer l'efficacité de ces médicaments et d'autre part de rechercher de nouvelles molécules antimicrobiennes (**Islam et al., 2008**).

Actuellement, de nombreuses études ont confirmé que les plantes médicinales et aromatiques constituent une source prometteuse de molécules bioactives (Lamassiaude-Peyramaure, 2008).

Il a été démontré que certaines huiles essentielles possèdent des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales etc. Ces huiles essentielles constituent une importante source de composés biologiquement actifs. L'étude des propriétés antimicrobiennes des extraits de plantes, en particulier des huiles essentielles est une piste à explorer (**Prabuseenivasan et** *al.*, **2006**).

A cet effet, et dans le cadre de la recherche de nouvelles substances (molécules bioactives) à effet antibactérien nous nous sommes intéressées à l'origan (*Origanum vulgare*) et à l'eucalyptus (*Eucalyptus radiata*), deux espèce végétales largement répandus dans le Nord algérien (**Lobstein et** *al.*, **2018 ; vasudeva, 2015**).

L'origan et l'eucalyptus sont très utilisés pour leurs nombreuses vertus thérapeutiques notamment comme antiseptiques et anti-infectieux (Demars, 2022 ; Pezzani et al., 2017 ; Franchomme, 2001).

Notre projet de fin d'étude de master qui s'insère dans la thématique de l'équipe 2 « Diversité et multirésistance des micro-organismes dans l'environnement » du laboratoire Biotechnologies, Environnement et santé (Blida 1). Pour cela, nous nous sommes fixés les objectifs suivants :

- ➤ Isolement, purification et identification des bactéries responsables des infections urinaires et des infections purulentes à partir de patients ;
- Etude de la résistance et de la sensibilité des isolats vis-à-vis de quelques antibiotiques
- ➤ Evaluation du pouvoir antibactérien des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* L. et d'*Eucalyptus radiata* sur les bactéries multirésistantes (BMR) isolées.

Synthèse bibliographique

I. GÉNÉRALITÉS SUR LES INFECTIONS URINAIRES ET SUR LES INFECTIONS PURULENTES

I.1.Infections urinaires

On parle d'infection urinaire, lorsqu'on détecte dans les urines une présence anormale des germes dont la concentration est supérieure à 10⁵ germes/mL d'urine (**François et al., 2013 ; Atmani et al., 2007**) avec une leucocyturie pathologique supérieure ou égale à 10⁴ germes/d'urine. C'est ce qu'on appelle bactériurie significative (**Sissoko, 2006**).

Il existe différentes voies de contamination :

- La voie ascendante: C'est la voie la plus fréquente, elle est spontanée ou provoquée et est due à la remontée des germes du méat urétral à la vessie. (Cisse, 2019).
- La voie hématogène: Cette voie de pénétration est plus rare et se produit lors de bactériémie ou de septicémie surtout chez l'immunodéprimé ou le diabétique (Caron, 2003).
- La voie lymphatique: Les germes intestinaux traverseraient les anastomoses entre le colon et le rein droit (Sissoko, 2006).

I. 2. Infections purulentes

Le pus est un liquide fluide épais, provenant de la destruction des bactéries par les cellules chargées de la défense immunitaires (**Sharma et al., 2021**), le pus est principalement composé de débris de globules blancs (**Reeding et al., 2017**).

Il existe deux modes de contamination:

- Contamination endogène: La flore microbienne présente dans la région du site opératoire au moment de l'intervention, elle est responsable de la majorité des infections purulentes.
 Les bactéries proviennent soit des tractus respiratoire, uro-génitale ou gastro-intestinal (Guetarni, 2014).
- Contamination exogène: Les infections du site opératoire d'origine exogène ne sont pas très fréquentes par rapport à la source endogène. Elles ne sont estimées qu'à 10% des infections purulentes et sont également appelées infections croisées (Guetarni, 2014).

II. APERÇU SUR QUELQUES GROUPES DE MICROORGANISMES

II.1. Bacilles à Gram négatif fermentaires (Famille des Enterobacteriaceae)

II.1.1 Habitat et pouvoir pathogène

Les entérobactéries sont des hôtes du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux où ils sont retrouvés soit à l'état pathogène soit à l'état commensal (**Dénis et al., 2016**). On les retrouve également dans l'environnement (**Dembélé, 2020**).

II.1.2 Caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif, dont la taille varie selon l'espèce. Ils sont mobiles par ciliature peritriche ou immobiles, non sporulés, capsulés ou non (selon les espèces) et pouvent posséder des pilis (Gadou, 2019).

II.1.3 Caractères culturaux

Ce sont des espèces aéro-anerobies facultatives, elles se cultivent sur milieu non enrichis (GN), à une température optimale variant selon l'espèce (35 à 37 °C). Pour la plupart des espèces, les colonies formées sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (**Dénis et al., 2016**). On distingue 5 types de colonies : colonies S (Smooth) colonies R (Rugueuses), colonies M (Muqueuses), colonies envahissantes ou colonies naines (**Akel, 2014**).

II.1.4 Caractères biochimiques communs

Ces espèces ont la capacité de réduire les nitrates en nitrites, de fermenter le lactose avec ou sans production de gaz. Certaines espèces utilisent le citrate de Simmons comme seule source de carbone et ont la capacité de produire de l'indole, de l'uréase et de l'acétoïne (Avril et al., 2000).

Cette famille contient plus de 30 genres et 130 espèces, les plus fréquentes sont : Klebsiella, Escherichia, Yersinia, Proteus, Providencia, Salmonella et Serratia (**Tidrarine**, **2019**).

II.2 Bacilles à Gram négatif non fermentaires (Pseudomonas aeruginosa)

II.2.1 Habitat et pouvoir pathogène

Ce sont des bactéries que l'on retrouve dans l'environnement hospitalier et les endroits humides. Du fait de leur résistance à de nombreux antibiotiques et antiseptiques, elles se comportent comme des pathogènes opportunistes souvent à l'origine d'infections nosocomiales d'origine exogène surtout chez les sujets fragilisés (diabétiques, cancéreux) (Delarras, 2014).

II.2.2 Caractères morphologiques

Ce sont des bacilles à Gram négatif de 0,5 à 0,8 µm de diamètre sur 1,5 à 3,0 µm de longueur, se présentant de manière isolée ou groupée par deux ou en courtes chaînes, mobiles et non sporulés. La membrane externe contient des porines dont le nombre et la taille susceptibles de varier, conditionnent la perméabilité aux antibiotiques. La structure des LPS (lipopolysaccharides) de cette membrane est également très hétérogène (**Dénis et al., 2016**; **Delarras, 2014**).

II.2.3 Caractères culturaux

La culture est facile sur milieux ordinaires et sur de nombreux milieux utilisés pour l'étude des entérobactéries, elle se fait strictement en aérobiose. La température optimale de croissance est de 30°C (Saussereau, 2013), mais certaines souches supportent des températures élevées allant jusqu'à 42°C. Les cultures dégagent une odeur très caractéristique de seringa (Saussereau, 2013).

II.2.4 Caractères biochimiques

Ce sont des bactéries à métabolisme strictement respiratoire, qui fermentent pas les sucres et qui possèdent une nitrate réductase, une catalase et une oxydase. D'autres caractères sont utiles pour l'identification de l'espèce: indole (-), urée (-) (**Dénis et al. ,2016**).

II.3 Cocci à Gram positif

II.3.1 Staphylococcus aureus

II.3.1.1 Habitat et pouvoir pathogène

C'est un germe ubiquitaire que l'on peut retrouver partout dans le sol, les poussières, les eaux. Chez l'homme il se trouve au niveau des muqueuses et des zones cutanées humides

(**Dénis et al., 2016**). Les infections à *S. aureus* sont très fréquentes et apparaissent sous des aspects cliniques très variées. Elles peuvent être suppuratives, nécrotiques ou entériques (**Fongoro, 2022**).

II.3.1.2 Caractères morphologiques

Les staphylocoques sont des Cocci sphériques à Gram positif de 0,5 à 1µm de diamètre immobiles, non sporulées qui ne possèdent pas de capsule visible au microscope optique sauf dans de très rares souches. Certains sont entourées d'une Pseudocapsule (**Dénis et al., 2016**).

II.3.1.3 Caractères culturaux

S. aureus est aéro-anaérobie facultatif et pousse facilement sur milieu ordinaire. La température de croissance est de 37°C mais la culture peut être possible entre 10 et 45°C, avec un pH optimal de 7,5. Il produit un pigment jaune doré (**Dénis et al. ,2016**).

II.3.1.4 Caractères biochimiques

Staphylococcus aureus a un métabolisme aérobie prédominant et anaérobie facultatif. Ces bactéries possèdent une catalase, une coagulase, une phosphatase, ainsi que des nucléases thermostables mais pas d'oxydase (Walana et al., 2020).

II.3.2 Staphylococcus haemolyticus

II.3.2.1 Habitat et pouvoir pathogène

C'est un germe qui se trouve au niveau des muqueuses et dans la flore cutanée normale. Les staphylocoques à «coagulase négative» sont principalement impliqués dans certaines infections nosocomiales (**Koksal et** *al.*, **2006**).

II.3.2.2 Caractères morphologiques

Ce sont des Cocci à Gram positif, regroupées en amas, immobiles, non sporulées, non capsulées et mesurant de 0,8 à 1µm de diamètre (**Freney et** *al.*, **2007**).

II.3.2.3 Caractères culturaux

Comme tous les Staphylocoques, cette espèce n'a pas d'exigence nutritive particulière. Son métabolisme respiratoire est aérobie-anaérobie facultatif. Les colonies apparaissent rondes bombées, en 18 heures, à 37°C. Une hémolyse de type bêta apparaît sur gélose au

sang. Sur le milieu de Chapman, les colonies sont majoritairement mannitol (+) (**Archambaud** et *al.*, 2003).

II.3.2.4 Caractères biochimiques

S. haemolyticus est catalase (+), oxydase (-), DNAse (-). Son identification repose sur des tests biochimiques (galeries miniaturisées). Les caractères majeurs sont la présence de pyrrolidonyl-arylamidase (PyrA), d'arginine dihydrolase et l'absence d'uréase (URE), de phosphatase alcaline (PAL), d'ornithine décarboxylase(ODC) (Archambaud et al., 2003).

III. ANTIBIOTIQUES ET ANTIBIORÉSISTANCE

III.1 Antibiotiques

Un antibiotique est une substance chimique naturelle, synthétique, ou semi synthétique ayant un mode d'action spécifique contre les bactéries. La majorité des antibiotiques sont des molécules naturelles, produites essentiellement par des bactéries ou certains champignons afin d'éliminer les micro-organismes sensibles (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (Kohanski et *al.*, 2010).

III .2 Antibiorésitance

Selon l'OMS, la résistance aux antibiotiques apparait lorsque les bactéries peuvent s'adapter et croitre en présence d'antibiotiques. On dit qu'un microorganisme est « résistant » lorsque la concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce (Carle, 2009).

III .2 .1 .Types de résistance

III .2 .1 .1 Résistance naturelle

La résistance naturelle ou intrinsèque est un caractère d'espèce qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée (Lozniewski et al., 2010). Elle est permanente, stable est transmissible à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Pierrot, 2015).

III .2 .1 .2 Résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (**Mohamedi et** *al.*, **2001**).

La résistance acquise est moins stable, mais elle se propage souvent de façon importante dans le monde bactérien (Lozniewski et al., 2010).

III .2 .2 Mécanisme de résistance aux antibiotiques

➤ Mécanismes biochimiques enzymatiques

Ils se font par destruction de l'antibiotique par production d'enzyme. Ce mécanisme est décrit contre les β •lactamines, les aminosides et le chloramphénicol (**Peyrou, 2001**) (**figure 01**).

➤ Mécanismes biochimiques non enzymatiques

D'après Willey et *al.*, (2008) ; Denis et *al.*, (2007), ils peuvent être regroupés en quatre grands types de mécanismes (figure 01):

- Modification de la cible ;
- Diminution de la perméabilité;
- Inactivation de l'antibiotique ;
- Mécanisme d'efflux .

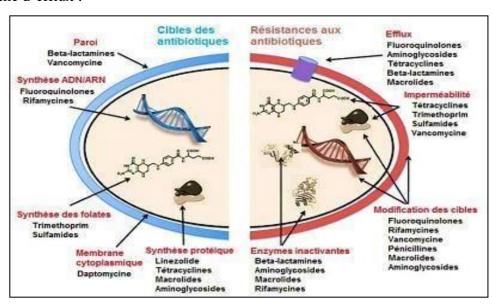


Figure 01. Cibles des antibiotiques et mécanismes de résistance aux antibiotiques (Maurin, 2018)

IV. ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE DES HUILES ESSENTIELLES

IV.1 Huiles

essentielles IV. 1.1

Définition

Selon AFNOR et ISO « l'huile essentielle est le produit obtenu à partir d'une matière première d'origine végétale, soit par entraînement à la vapeur, soit par distillation. L'huile essentielle est ensuite séparée de la phase aqueuse par des procédés physiques » (Mekri, 2016). Il s'agit d'une substance complexe qui contient des molécules aromatiques dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie (Laurent, 2017).

Les huiles essentielles (HEs) possèdent des propriétés anti-infectieuses remarquables et s'avèrent efficaces autant dans la prévention que dans le traitement de plusieurs types d'infections, que celles-ci soient d'origine bactérienne, parasitaire, fongique ou virale.

IV.1.2 Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum vulgare* L.)

Origanum vulgare L., communément appelé « Origan » et « Zaatar, Zaathar » en Algérie (hans, 2007) est une plante connue pour son activité antiseptique majoritaire (Franchomme, 2001).

De nombreuses études ont démontrées que l'huile essentielle de l'origan possède une action antibactérienne (Pizzal et al., 2002).

Selon **Germann** (2014) l'HE de l'origan présente une activité inhibitrice sur de nombreuses bactéries à Gram positif et les bactéries à Gram négatif.

D'après Imtara et al., (2018) et Bouhadouda et al., (2016), l'HE de l'origan est active sur Staphylococcus aureus, sur Escherichia coli ainsi que sur Pseudomonas aeruginosa.

Selon (**Bruneton**, **1999**), le carvacrol, souvent présent à plus de 60% dans l'HE de l'origan est le composé majoritairement responsable de cette action antimicrobienne, renforcée par l'action du thymol.

Des travaux scientifiques, ont indiqué que le carvacrol et le thymol sont les composants majoritaires de l'HE d'*O.vulgare* (**Jnaid et al., 2016 ; Gong et al., 2014**). Ces deux substances structurellement similaires semblent jouer un rôle synergique en rendant la membrane cellulaire perméable (**Lambert et al., 2001**).

Le thymol a été précédemment décrit comme étant capable d'interrompre la membrane bactérienne, en affectant à la fois le gradient de pH et le flux d'électrons à travers la membrane (Lambert et al., 2001).

Ultee et *al.*, (1999) supposent que le carvacrol forme des canaux à travers la membrane en s'intercalant entre les chaînes d'acides gras des phospholipides. Cette déstabilisation de la membrane augmenterait la fluidité membranaire, qui augmenterait à son tour la perméabilité passive (**Ultee et** *al.*, 2001).

Selon **Daferera et al.**, (2003) d'une manière générale, l'action antibactérienne du carvacrol et du thylmol se déroule en trois phases :

- Attaque de la paroi bactérienne par l'huile essentielle, provoquant une augmentation de la perméabilité puis la perte des constituants cellulaires;
- Acidification de l'intérieur de la cellule, bloquant la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure;
- Destruction du matériel génétique, conduisant à la mort de la bactérie.

IV.1 .3 Activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'eucalyptus (Eucalyptus radiata)

Eucalyptus radiata communément appelé « Eucalyptus radié » et « Calitous» en Algérie (**Mahmoudi**, **2011**). L'eucalyptus est une plante dont l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) varie considérablement selon les espèces et les microorganismes testés (**Kambira** et *al.*, **2020**).

L'activité antibactérienne de l'huile essentielle est liée à son profil lipophile qui lui permet de pénétrer dans la cellule et de provoquer une fuite cellulaire. Il a été rapporté que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles aux huiles essentielles d'eucalyptus que les bactéries à Gram négatif car ces dernières ont une couche de membrane externe, qui agit comme une barrière de perméabilité robuste (Kambira et al., 2020).

L'huile essentielle d'*Eucalyptus radiata* est constituée de nombreuses molécules, parmi elles on retrouve l'eucalyptol (ou 1,8-cinéole) et alpha terpinéol qui s'avéreraient présenter des propriétés anti-infectieuse et antibactérienne sur plusieurs micro-organismes pathogènes (**Demars, 2022 ; Colant, 2016 ; Chemloul, 2014**).

D'après **Kambira et al.**, (2020), l'HE de l'eucalyptus est active sur *Staphylococcus* aureus et sur *Klebsiella pneumoniae*.

Partie expérimentale

Matériel et méthodes

I. MATÉRIEL ET MÉTHODES

Cette étude a été réalisée durant une période de 4 mois allant du mois de février jusqu'au mois de juin 2023 au niveau des structures suivantes :

- Le laboratoire d'(EHS) Établissement Hospitalier Spécialisé de transplantation d'organes et des tissus à Blida (TOT).
- L'Etablissement public hospitalier (EPH) de Blida, Brahim Abdallah Tirichine (Ex-Faubourg).
- Le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Blida.
- Le laboratoire d'analyses médicales du Dr ZEMOULI Eps LARFI à Boufarik (Blida).
- Entreprise spécialisée dans la production des huiles essentielles et végétales (Tipaza).

I.1 Matériel

a. Matériel non biologique

Nous avons utilisé différents milieux de culture (solides et liquides). Par ailleurs, nous avons aussi utilisé divers appareillages, de la verrerie, des réactifs et des disques d'antibiotiques (Annexe]).

b. Matériel biologique

Il est représenté par les prélèvements d'urines et de pus ainsi que par les souches bactériennes ATCC et les plantes récoltées.

b.1 . Types de prélèvements

Les produits biologiques sur lesquels nous avons réalisé cette étude sont :

- Les urines provenant de personnes coopératives (non hospitalisées).
- ➤ Le pus provenant de patients hospitalisés et de personnes coopératives.

Tableau I. Total de prélèvements recueillis

Typog do ppólòvoment	Provenance de prélèvement			
Types de prélèvement	EHS TOT	Laboratoire D'hygiène	Laboratoire D'analyses Médicale	EPH Faubourg
Pus	36	0	30	40
Urines	40	10	60	41
Total = 257				

b.2 .Matériel végétal

Notre étude a porté sur deux espèces différentes à savoir: l'origan (l'*Organum vulgare* L.) et l'eucalyptus (l'*Eucalyptus radiata*).

La partie aérienne de et les feuilles d'eucalyptus ont été récoltées dans la wilaya de Tipaza en 2023.

La confirmation des espèces a été réalisée par le personnel de la conservation des forêts de Tipaza (figure 02).





Eucalyptus radiata

Origanum vulgare L.

Figure 02. Parties des plantes récoltées et utilisées pour l'extraction des huiles essentielles (Photo originale, 2023)

I.2 Méthodes

I.2.1 Méthodes de prélèvement

a. Prélèvement des urines

Le prélèvement d'urine doit être effectué sur les urines du matin de préférence, ou ayant séjournées au moins 4 heures dans la vessie, il doit être réalisé dans des récipients stériles. Les prélèvements sont rapidement transportés au laboratoire et ne devraient jamais être conservés plus de 2h à température ambiante ou plus de 24 h à 4°C (**Pilly, 2018**).

b. Prélèvement du pus

Les prélèvements de pus ont été effectués en présence du personnel soignant. Ces échantillons englobent toutes les suppurations qu'elles soient superficielles ou profondes. Selon la localisation du pus, le prélèvement se fait soit à l'aide d'un écouvillon stérile ou par une seringue stérile après nettoyage de la plaie avec du sérum physiologique stérile. Les prélèvements sont ensuite acheminés au laboratoire pour éviter la dessiccation du

prélèvement.

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement urinaire ou purulent sont indispensables. Une fiche de renseignement est remplie dans laquelle sont mentionnés : Nom et Prénom, Age, Sexe, Service d'hospitalisation, Nature de prélèvement.

I.2.2 Méthodologie de diagnostic

I.2.2.1 Examen cytobactériologique des urines

L'Examen cytobactériologique des urines (ECBU) est un examen microbiologique qui permet à la fois de diagnostiquer une infection urinaire en identifiant le germe responsable (**Berthélémy, 2016**). L'ECBU doit être pratiqué avant toute antibiothérapie.

I.2.2.2 Examen cytobactériologique du pus

L'Examen cytobactériologique du pus (ECB de pus) est un examen microbiologique qui permet de diagnostiquer une infection purulente en identifiant le germe causal.

La réalisation de l'ECBU et de l'ECB de pus comprend les différentes étapes présentées dans la **figure 03.**

I .2.2.3 Isolement, purification et identification des bactéries

Après examen macroscopique et microscopiques, les prélèvements font l'objet d'un isolement sur les milieux de cultures suivants : Gélose nutritive, milieu Hekteon (*Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas*), milieu chromogène (*Enterobacteriaceae*), milieu Chapman et la gélose au sang cuit (*Staphylococcaceae*).

A partir des prélèvements, on ensemence la surface du milieu de culture par la méthode des quatre quadrants. Les boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24 h. Après incubation, on sélectionne les colonies pures.

L'identification biochimique repose sur l'utilisation de galeries spécifiques permettant d'identifier le genre et l'espèce bactérienne en s'appuyant sur ces caractères biochimiques. Après orientation à partir de caractères culturaux et morphologiques. Nous avons réalisé l'identification des bactéries isolées par les tests classiques (test de catalase, test coagulase, test d'oxydase)et par les galeries miniaturisées : Api 20 E, Api Staph et Api Ne ainsi que le vitek 2 compacte (pour identifier les bactéries isolées à partir du pus) (figure 04).

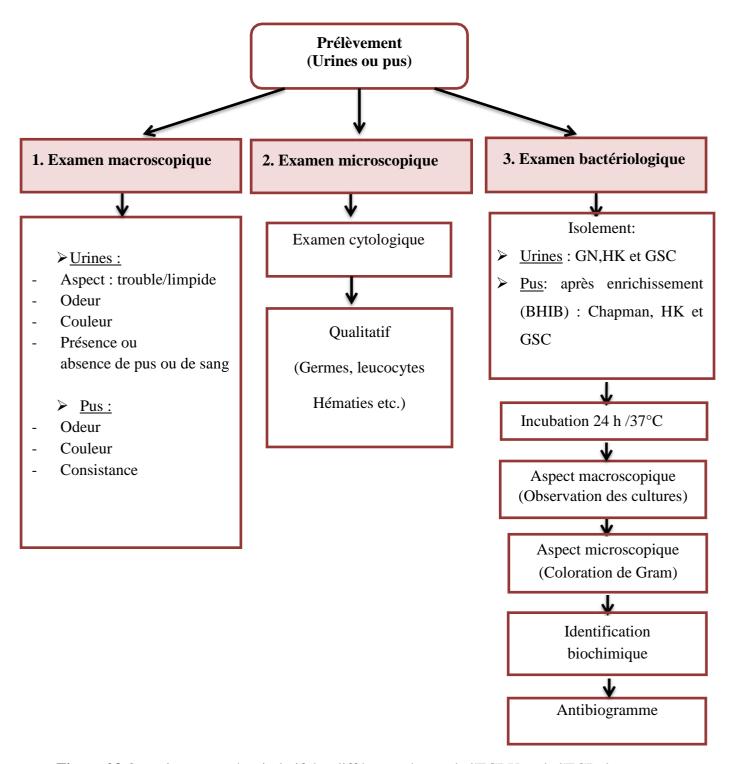


Figure 03. Organigramme récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU et de l'ECB du pus

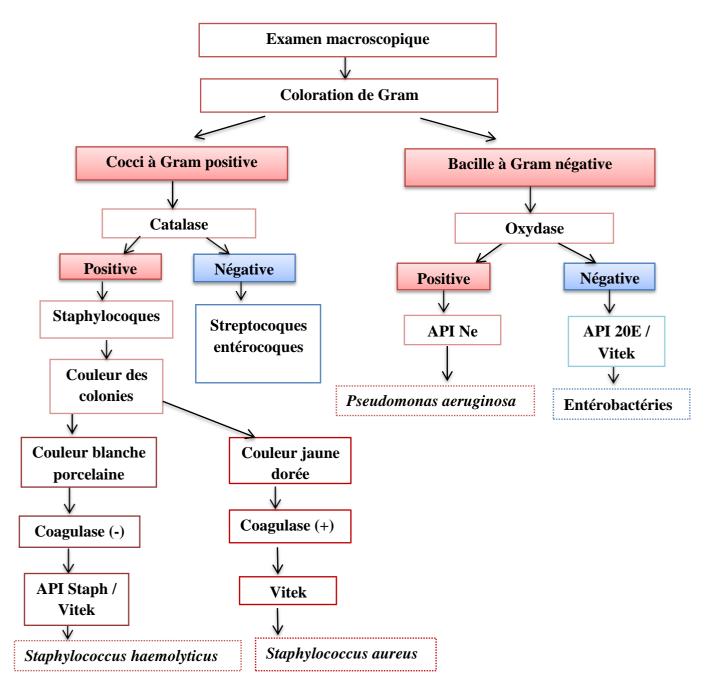


Figure 04. Principales étapes de l'identification bactérienne

I.2.3 Tests de sensibilité aux antibiotiques

Pour tester la sensibilité et la résistance des souches isolées et identifiées, nous avons utilisé l'antibiogramme standard pour les bactéries isolées à partir des urines et le Vitek 2 pour les bactéries isolées à partir du pus.

I.2.3.1 Automate pour identification et antibiogramme « Vitek 2 Compacte »

Selon le catalogue de **bio Mérieux**, le système VITEK®2 COMPACT est destiné à l'identification des bactéries et des levures, ainsi qu'à la réalisation d'antibiogrammes (par l'utilisation d'un système de standardisation internationale CLSI « Clinical and laboratory Standards Institute ») pour les bactéries significatives sur le plan clinique.

Le système comprend l'instrument VITEK®2 COMPACT, un ordinateur et une imprimante. Le logiciel fourni pour le système VITEK®2 COMPACT inclut des programmes d'analyse, de gestion des données et un système de qualité afin de valider le kit test du VITEK®2 COMPACT (Annexe IV).

I.2.3.2 Antibiogramme par méthode de diffusion sur milieux gélosés

L'étude des profils de résistance des bactéries isolées à partir des urines a été effectuée par l'antibiogramme standard réalisé selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (**Rahel et** *al.*, **2020**). Les critères de lecture et d'interprétation des résultats sont ceux préconisés par le CLSI et recommandés par l'OMS.

Pour chaque souche identifiée un antibiogramme est réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé (Mueller Hinton), selon la technique de l'écouvillonnage (**Figure 05**).

a) Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure et jeune de 18 à 24 h, on prélève quelques colonies bien isolées à l'aide d'une anse de platine que l'on décharge dans 5 à 10 mL d'eau physiologique stérile à 0,9%. On homogénéise ensuite la suspension bactérienne à l'aide d'un vortex. La densité de la suspension doit être de 0,5 McFarland mesurée par le densitomètre, ce qui correspond à une densité optique comprise entre 0,08 et 0,1 à une longueur d'onde de 625 nm).

b) Ensemencement

On trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum, puis on l'essor en le tournant contre la paroi intérieure du tube pour enlever le liquide excédentaire. On frotte ensuite l'écouvillon de haut en bas sur la surface de la gélose en stries serrées, en tournant la boite 60° deux fois. On termine l'ensemencement en passant l'écouvillon sur le périphérique de la gélose.

c) Dépôt des disques d'antibiotiques

On dépose les disques d'antibiotique (pas plus de 6 disques) sur la boîte pétri (90 mm) et on presse chaque disque d'antibiotique à l'aide d'une pince bactériologique stérile.

d) Incubation

Une fois que les disques sont placés sur la gélose, on incube la boîte à 37°C pendant 18 à 24 h.

e) Lecture et interprétation des résultats

Après l'incubation, on mesure le diamètre de chaque zone d'inhibition en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse, puis on compare les zones d'inhibition aux valeurs indiquées dans les tables de lecture correspondantes et on classe les bactéries en fonction des catégories suivantes : sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) pour chaque antibiotique testé.

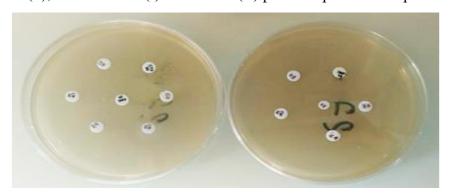


Figure 05. Antibiogramme par méthode de diffusion des disques (Photo originale, 2023)

I.2.4 Extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur d'eau

Toutes les plantes ont été débarrassées de tous les éléments étrangers, placées dans des sacs et transportées au laboratoire dans les 24 heures qui ont suivi la récolte.

L'extraction des huiles essentielles des deux espèces est réalisée par entraînement à la vapeur.

Tout d'abord on place la matière végétale fraiche dans l'alambic, puis on fait bouillir de l'eau dans une chaudière pour générer de la vapeur d'eau qu'on fait passer à travers les plantes. La vapeur d'eau fournie par la chaudière circule et chasse la plupart des composés parfumés volatils de la masse végétale, puis traverse un tube froid où elle sera condensée et séparée en phase aqueuse (HA) et en phase organique (HE) à l'aide d'une ampoule à décanter (Boukhatem et al., 2019).

Les huiles essentielles obtenues sont conservées dans des flacons en verre ambrés, stériles et hermétiquement fermés à 4°C.

I.2.5 Rendement en huiles essentielles

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 suivante :

RHE
$$=$$
 $\frac{\Box\Box\Box}{\Box\Box\Box}$ × 100

- RHE: Rendement en huile essentielle (%)

- MHE: Masse d'huile essentielle récupérée (g)

- MVF: Masse végétale fraiche utilisé pour l'extraction(g).

I.2.6 Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles

L'activité antibactérienne des huiles essentielles (HEs) a été évaluée sur des bactéries multi résistantes (BMR) isolées à partir des prélèvements biologiques (urines et pus) de patients hospitalisés à l'hôpital de Frantz-Fanon de Blida ou de patients externes.

Les souches bactériennes sont conservées dans des epindorfs contenant le bouillon BHIB 80% + glycérol 20%. Les souches sont ensuite réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur différents milieux de culture solides (gélose nutritive pour les bactéries non exigeantes, Hektoen pour les bacilles à Gram négatif (BGN), Chapman et GSC pour les staphylocoques) préalablement fondus et coulés dans des boites de Petri sur 4 mm d'épaisseur.

Apres 24 h d'incubation à 37°C, les boites sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes.

Résultats et discussion

II. RESULTATS ET DISCUSSION

Cette étude était orientée sur l'examen cytobactériologique des prélèvements urinaires et purulents provenant de patients, sur l'identification et la détermination du profil de résistance des bactéries isolées à partir des différents prélèvements ainsi que sur l'évaluation de l'effet antibactérien des huiles essentielles de l'origan et de l'eucalyptus sur les BMR.

II.1 Données épidémiologiques

Durant la période de notre stage, nous avons collecté 257 prélèvements biologiques (151 prélèvements d'urines et 106 prélèvements de pus). Notre échantillon était composé de femmes et d'hommes appartenant à différentes tranches d'âge. Les prélèvements étudiés étaient monomicrobiens et polymicrobiens provenant de personnes coopérantes (infections communautaires) et hospitalisés (infections nosocomiales).

II.1.1. Répartitions des prélèvements urinaires

Sur l'ensemble des échantillons analysés pour une suspicion d'une infection urinaire (151 prélèvements), 44 se sont révélés positifs (ECBU positif) traduisant une infection urinaire avec un taux de 29,14%, 90 ECBU étaient négatifs (59,60%) et 17 ECBU étaient contaminés (11,26%) (**Figure 06**).

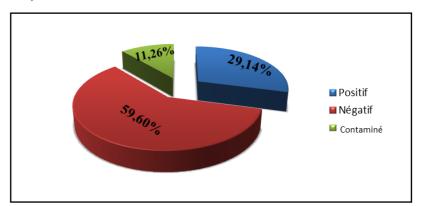
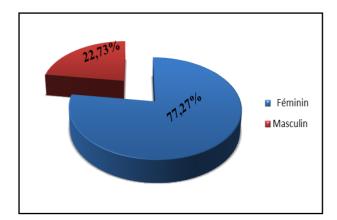


Figure 06. Taux de prélèvements urinaires positifs

Ces résultats sont comparables à ceux de **Garba et** *al.***, (2020) et Elharch (2013)** qui ont obtenu respectivement un pourcentage de positivité de 26,59% et de 26,35%.

* Répartition des prélèvements urinaire selon le sexe

Parmi les 44 cas positifs, nous avons observé un taux d'infections urinaires plus élevé chez femmes (77,27%) que chez les hommes (22,73%) (**Figure 07**).



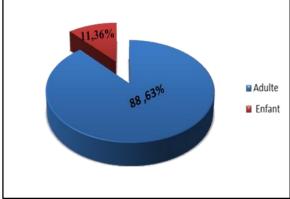


Figure07. Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le sexe

Figure 08. Répartition des prélèvements urinaires positifs selon l'âge

Dans une étude réalisée en France, **Chervet** (2015) a décrit une fréquence d'infections urinaires plus élevée chez la femme (81,40 %) que chez les hommes (18,60%). Nos résultats sont comparables avec les résultats rapportés dans les travaux de **Bouarroudj et al.**, (2016) et **Bergogne** (2008), dans lesquelles, il a été indiqué que le sexe féminin est le plus touché par les infections urinaires.

Selon François et al., (2013), cette prédominance féminine pourrait s'expliquer par :

- Les caractéristiques anatomiques de l'urètre féminin qui est court, large, droit et proche de la région péri-anale ;
- Les changements hormonaux observées chez les femmes enceintes ou ménopausées ;
- Certains moyens contraceptifs augmentent le risque d'infections urinaires ;
- La fréquence des rapports sexuels qui favorisent l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès des germes à la vessie.

* Répartition des prélèvements urinaires selon l'âge

La répartition des patients selon l'âge (**figure 08**) montre que les infections du tractus urinaire sont plus fréquentes chez les adultes (> à 16 ans) avec un taux de 88,63% que chez les enfants (< à 16 ans) avec un taux de 11,36%.

Ces résultats se rapprochent de ceux de Barrier (2014) et Chekroud et al., (2017).

D'après **Barrier** (2014), la fréquence des infections du tractus urinaire augmente avec l'âge et dépend de plusieurs facteurs : la diminution des défenses immunitaires chez la personne âgée, la déshydratation etc.

* Répartition des prélèvements urinaires selon le type de culture

L'analyse cytobactériologique des urines nous a permis de classer les cultures en deux groupes : cultures mono microbiennes avec un taux de 88,63% et cultures poly microbiennes avec un taux de 11,36% (**Figure 9**).

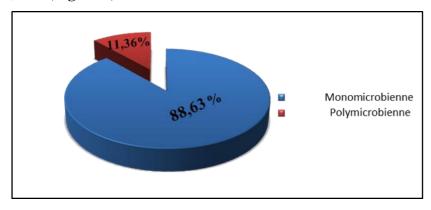


Figure09. Répartition des prélèvements urinaires positifs selon le type de culture

Dans l'étude menée par **Ketz** (2016), l'auteur a rapporté un taux plus élevé de cultures monomicrobiennes que de cultures polymicrobiennes.

II.1.2. Répartition des prélèvements purulents

Parmi les 106 prélèvements de pus étudiés, 65 se sont avérés positifs, soit un taux de positivité de 61, 32 % alors que 34 prélèvements se sont révélés négatifs avec un taux de 32,07% et 7 prélèvements se sont révélés contaminés, soit un pourcentage de 6,60% (**Figure 10**).

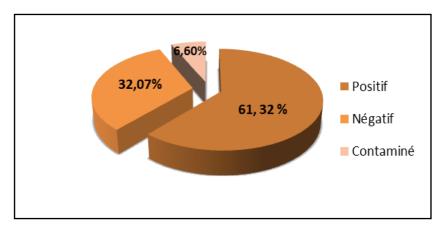
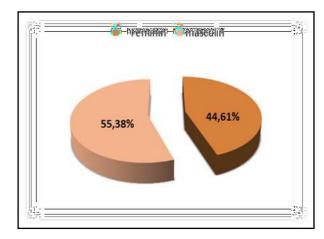


Figure 10. Taux de prélèvements purulents positifs

Nos résultats sont comparables à ceux de **Abu-Harirah et** *al.*, (2020), qui ont obtenu un pourcentage de 54,53% de cultures positives, mais sont inférieur à ceux de **Gomatheswari et Jeyamurugan** (2017) qui ont obtenu un pourcentage de 78,55% de cultures positives.

* Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe :

D'après la figure 15, nous remarquons que le taux de prélèvements purulents positif chez les patients de sexe masculin était supérieur (55,38%) à celui des patientes de sexe féminin (44,61%).



Adulte Enfant

15,38%

84,61%

Figure 11.Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe

Figure 12. Répartition des prélèvements purulents positifs selon l'âge

Gomatheswari et Jeyamurugan (2017), ont également noté une prédominance masculine dans les infections purulentes (59.06%). Cette prédominance semblerait être due au fait que les hommes respecteraient moins les règles d'hygiène que les femmes.

* Répartition des prélèvements purulents positifs selon l'âge

La répartition des prélèvements de pus positifs selon l'âge montre que les infections purulentes sont moins fréquentes chez les enfants (15,38%) que chez les adultes (84,61%) (**Figure 12**).

Selon **Beldi et al.**, (2019), l'âge avancé constitue un facteur classique de risque. Le taux élevé des infections purulentes chez les adultes peut être liée à l'altération physiologique de leur système immunitaire et les différentes pathologies chroniques associées (diabète, hypertension artérielle, etc.) favorisant la survenue des infections.

* Répartition des prélèvements purulents positifs selon le type de culture

L'analyse cytobactériologique du pus nous a permis de classer les cultures en deux groupes : cultures mono microbiennes avec un taux de 84,61% et cultures poly microbiennes avec un taux de 15,38% (**Figure 13**).

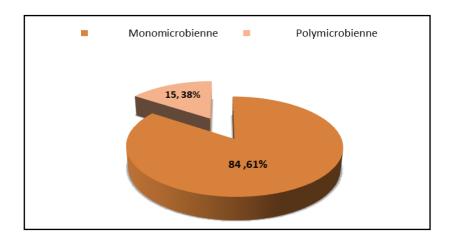


Figure 13. Répartition des prélèvements purulents selon le type de culture

Nos résultats sont en adéquation avec ceux de **Verma**, (2012) et ceux de **Amin et** *al* ., (2017) qui ont rapporté respectivement un taux de cultures mono microbiennes de 84, 31% et de 79,92%.

II.2. Données microbiologiques

II.2. 1.Aspect macroscopique des urines

L'aspect macroscopique nous a donné une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur l'ensemble des échantillons analysés, trois types d'aspect macroscopique ont étés détectés: trouble, légèrement trouble et clair.

- Une urine claire témoigne d'une bonne une hydratation, cela peut vouloir dire également que la personne est en bonne santé.
- Une urine trouble indique le plus souvent la présence de bactéries ou parfois n'est qu'un signe bénin d'un régime alimentaire riche en phosphates.

II.2. 2. Résultats de l'examen cytologique des urines (examen microscopique)

D'après l'observation microscopique des échantillons d'urines recueillies, nous avons constaté la présence, de leucocytes, de globules rouges (GR), de cristaux, de bactéries et de levures (**Figure 14**).

- Les leucocytes: Sont très souvent rencontrés en grand nombre en cas d'infection urinaire, car la multiplication bactérienne s'accompagne d'une levée des défenses immunitaires.

- Les hématies: peuvent indiquer des traumatismes, des cystites hématuriques, une tuberculose, des tumeurs de l'appareil urinaire etc. Une forte hématurie peut même être repéré à l'œil nu.
- Les cellules épithéliales et les cristaux: Ils ne représentent pas des significations pathologiques, cependant il est nécessaire de les prendre en considération s'ils s'avèrent importants.
- **Bactéries :** La présence des bactéries dans les urines ne signifie pas une présence d'IU, car ça peut être dû soit à une contamination de l'échantillon urinaire ou bien à la présence de la flore résidante.
- **Les levures :** Se présentent sous forme d'une petite olive ovale brillante isolée en cas de mycose.

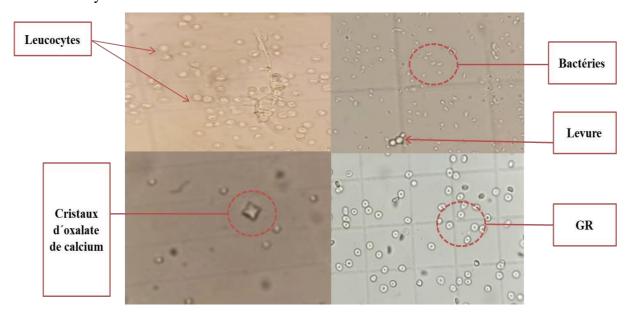


Figure 14. Observation microscopique des différents éléments cellulaires des urines

(G: 400) (**Photos original, 2023**)

II.2.3. Résultats de l'examen cytologique du pus (examen microscopique)

• Etat frais

L'examen à l'état frais du pus nous a fourni un ensemble d'informations qui concerne la présence ou l'absence des bactéries, les réactions cellulaires immunitaires (**Figure 16**).

• Coloration au bleu de méthylène

La lecture des frottis colorés au bleu de méthylène nous a fourni un ensemble d'informations concernant les bactéries présentes dans le pus (formes et mode de regroupement) (Figure 15).

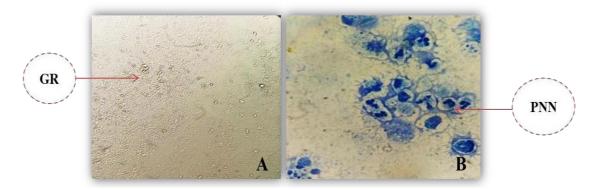


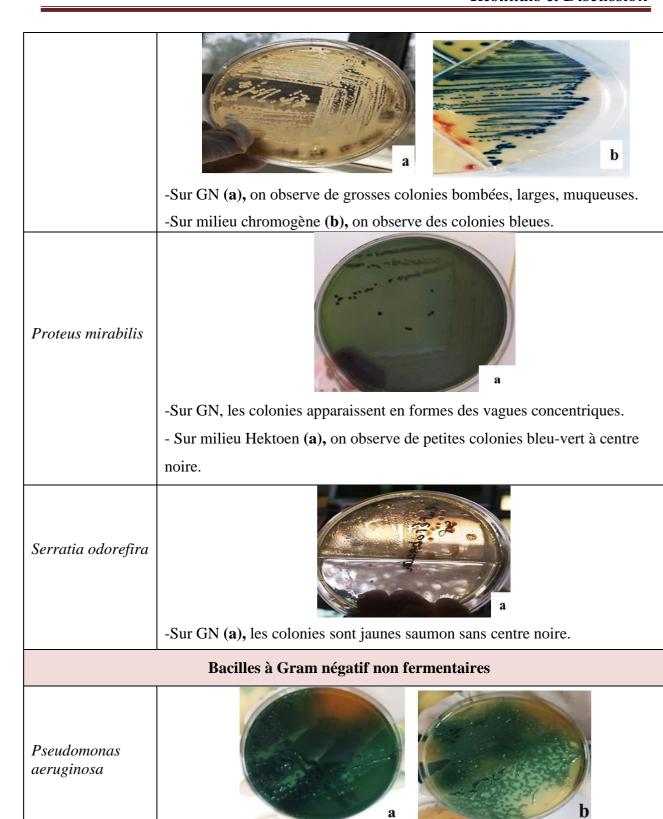
Figure 15. A) Observation microscopique à l'état frais du pus (G: 400), B) Frotti coloré au bleu de méthylène (G:1000) GR : Globule rouge ; PNN : Polynucléaire neutrophile (Photos original, 2023)

II.3 .1.Résultats de l'identification morphologiques des souches isolées (étude macroscopique)

Souvent la forme, la taille, l'aspect, la couleur des colonies et parfois même l'odeur peuvent nous orienter vers un groupe bactérien déterminé. Apres incubation, les caractères morphologiques des colonies observées sur différents milieux de culture étaient comme suit:

Tableau III : Résultats de l'identification morphologiques des souches isolées (Étude macroscopique)

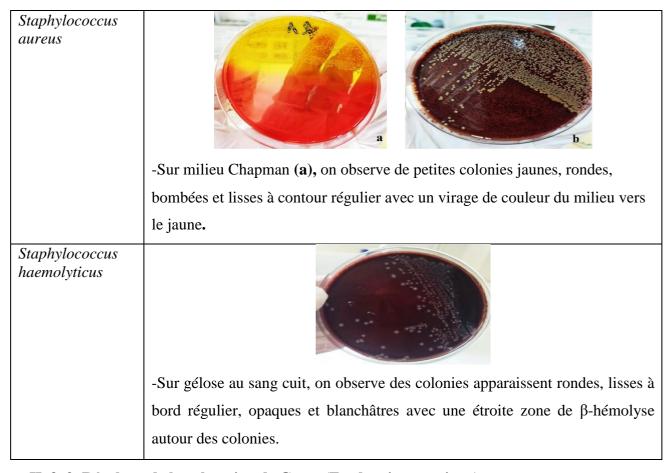
Bactéries	Aspect macroscopique		
Bacilles à Gram négatif fermentaires			
Escherichia coli	-Sur GN, les colonies apparaissent rondes, lisses à bords réguliers, opaques et blanchâtresSur milieu Hektoen (a), les colonies apparaissent orange, larges, lisses, brillantes avec un aspect d'œuf sur plat.		
	-Sur milieu chromogène (b), on observe de petites colonies en violet.		



Cocci à Gram positif

-Sur GN (a) et milieu Hektoen (b), on observe des colonies de taille

moyenne, arrondies, bombées à contour régulier de pigmentation verte.



II. 3.2. Résultats de la coloration de Gram (Etude microscopique)

Les résultats de la coloration de Gram sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau IV. Résultats de coloration de Gram (urine-pus)

Résultats	Bactéries à Gram négatif	Bactéries à Gram positif
Pourcentage (%)	68.54%	31,45%
Observation sous		
microscope optique		是一种"一种"的
(Gx1000)	SERVICE AND AN ARMADO	
(Photos originales)		
	Bacille à Gram négatif	Cocci à Gram positif

II.2.5 Résultats des tests d'orientation

a) Résultats des tests de catalase et d'oxydase

Les résultats des tests de catalase et d'oxydase sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau V. Résultats des tests de catalase et d'oxydase

Résultat Tests	Positif	Négatif
Catalase (Photos originales)	0	
Oxydase (Photos originales)		

b) Test de coagulase

Après incubation, le test de coagulase était positif pour les souches de *S. aureus* (pus), et négatif pour les *S. haemolyticus* (à partir des prélèvements d'urine et de pus) (**Figure16**).

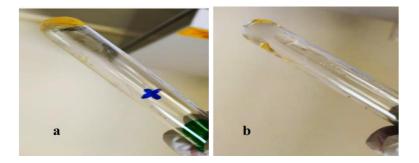


Figure 16. Résultats du test de coagulase: a) coagulase positif, b) coagulase négatif (Photos originales, 2023)

II. 3. 3. Résultats de l'identification biochimique des bactéries

Les résultats de l'identification biochimique par galerie API des souches isolées sont présentés dans le tableau suivant :

Identification biochimique des Entérobactéries par API 20 E Germes **Photos originales** Escherichia coli Klebsiell Pneumoni ae Proteus mirabilis Serratia odor iferaIdentification biochimique des Bacilles à Gram négatif non fermentaires par API 20 NE Germe Photo originale **Pseudomonas** aeruginosa Identification biochimique des Cocci Gram positif par API STAPH Germe Photo originale Staphylococcus haemolyticus

Tableau VI. Résultats de l'identification biochimique des souches bactériennes

II.4. Répartition des bactéries selon le type de prélèvement

a) Urine

L'identification des germes isolés a montré une prédominance des *Enterobacteriaceae* avec un taux de 89,79% ,suivis par les *Staphylococcaceae* avec un pourcentage de 6,12% puis en dernier par les bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) avec un taux de 4,08% (**Figure 17**).

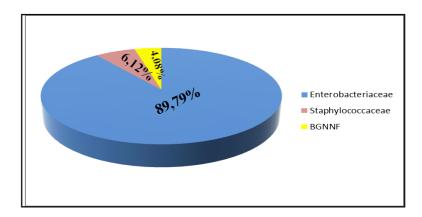


Figure 17. Répartition des bactéries isolées à partir des urines selon le groupe bactérien

Les résultats obtenus se rapprochent de ceux de **Ouedraogo et al.**, (2022) qui ont noté une prédominance des entérobactéries (77,54 %), suivis par les souches de cocci à Gram positif (13,36 %) et enfin par les BGNNF (9,08 %).

Selon Larabi et *al.*,(2013) et Ferjani et *al.*, (2011), la physiopathologie ascendante des infections urinaires, ainsi que la forte colonisation du périnée par des souches d'entérobactéries d'origine digestive associées à des facteurs spécifiques d'uropathogénicité tels que des adhésines bactériennes capables de se lier à l'épithélium urinaire, pourraient expliquer cette prédominance.

b) Pus

La répartition des souches isolées des prélèvements purulents selon le groupe bactérien montre que les Staphylococcaceae (CGP) sont les germes les plus incriminés avec un taux de 48%, suivis par les Enterobacteriaceae (BGN) avec un taux de 34,67% ,puis les BGNNF avec un taux de 17,33%

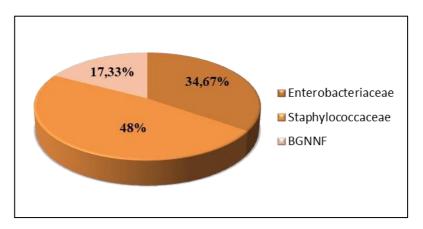


Figure 18 · Répartition des bactéries isolées à partir du pus selon le groupe bactérien

Nos résultats corroborent ceux de **Richard et al.**, (2011), selon les auteurs Staphylococcus aureus est le pathogène le plus fréquemment isolé dans les infections purulentes en particulier les infections du pied diabétique.

Toutefois dans d'autres études menées par Anbalagan et al., (2022) et Abu-Harirah et al., (2020), les auteurs ont noté une prédominance des entérobactéries suivis par les *Staphylococcus* pour les infections purulentes et les infections récurrentes des plaies.

II.5 Répartition des bactéries selon l'espèce bactérienne

a) Urines

Le profil des germes isolés montre une nette prédominance d'*Escherichia coli* représentant 57,14% des isolats pour les entérobactéries, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (20,41%), puis de *Serratia odorifera* (8,16%). Les autres espèces bactériennes ont été identifiées en faible proportion : *Staphylococcus haemolyticus* (6,12%), *Pseudomonas aeruginosa* (4,08%) et *Proteus mirabilis* (4,08%) (**Tableau VII**).

Tableau VII. Répartition globale des différentes espèces isolées à partir des urines

Famille	Espèce	Pourcentage (%)	
	Escherichia coli	57,14%	
Entonologotoria o an	Klebsiella pneumoniae	20,41%	
Enterobacteriaceae	Serratia odorifera	8,16%	
	Proteus mirabilis	4,08%	
Staphylococcaceae	Staphylococcus haemolyticus	6,12%	
Pseudomonadaceae	Pseudomonas aeruginosa	4,08%	
Total		100%	

Les résultats obtenus se rapprochent de ceux retrouvés par **Garba et al.**, (2020) qui ont rapporté qu'*E.coli* était l'espèce majoritaire à l'origine des infections urinaires avec un taux de 51% suivie de *K. pneumoniae* (24%) et de *Proteus mirabilis* (11%).

Dans une autre étude, **Chervet (2015)**, a également indiqué qu'*E.coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée (70%) à partir des urines, suivie de *Klebsiella pneumoniae* (8%).

Selon **Ait Miloud** (2011), la dominance des Entérobactéries dans les prélèvements urinaires positifs peut être expliquée par la physiopathologie ascendante des infections urinaires ainsi que la forte colonisation du périnée par les bactéries d'origine digestive (sachant que la flore intestinale est constituée principalement par les Entérobactéries).

b) Pus

D'après les résultats de la répartition globale des différentes espèces isolées ,nous avons observé que *Staphylococcus aureus* était l'espèce la plus isolée représentant 45,33%; suivie de *Pseudomonas aeruginosa* avec un taux de 17,33% d'*Escherichia coli* avec un taux de 13,33% de *Proteus mirabilis* avec un taux de 12% et de *Klebseilla pneumoniae* avec un taux de 9,33% .*Staphylococus haemolyticus* a montré une fréquence moins importante avec taux 2,66% (**Tableau VIII**).

Tableau VIII. Répartition globale des différentes espèces isolées à partir du pus

Famille	Espèce	Pourcentage (%)	
Staphylococcaceae	Staphylococcus aureus	45,33%	
	Staphyloccocus haemolyticus	2,67%	
	Escherichia coli	13,33%	
Enterobacteriaceae	Klebsiella pneumoniae	9,33%	
	Proteus mirabilis	12%	
Pseudomonadaceae	Pseudomonas aeruginosa	17,33%	
Total		100%	

Dans cette étude, le taux d'isolement des *S. aureus* (45,33%) est supérieur à celui enregistré dans les travaux d'**Anbalagan et** *al.*, (2022) (25,12%), et de **Gomatheswari et Jeyamurugan**, (2017) (18.5%).

D'après **Tong et** *al.***, (2015),** *S. aureus* est l'agent pathogène le plus couramment isolé dans les infections du site opératoire, des abcès cutanés et de la cellulite purulente.

II.6 Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des prélèvements

Dans cette partie nous avons étudié la sensibilité et la résistance des bactéries identifiées vis-à-vis des antibiotiques.

A) Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des urines

A.1. Entérobactéries

Les souches d'Entérobactéries ont présenté une forte résistance à l'Amoxicilline+acide clavulanique (93,18%), à l'Amoxicilline (86,36%) et à l'Ampicilline (75%). Toutefois, ces souches ont montré une sensibilité élevée à Imipénème (95,55%), à la Gentamycine (79,55%) et à la Ciprofloxacin (75%) (**Figure 19**).

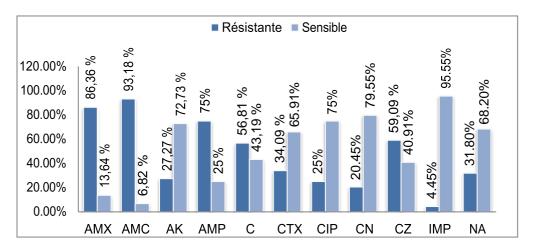


Figure 19. Profil d'antibiorésistance des Entérobactéries isolées à partir des urines

A.2. Staphylococcus haemolyticus

Les souches de *Staphylococcus haemolyticus* ont montré une forte résistance à l'Oxacilline (66,66%), à l'Erythromycine (66,66%), à l'Acide fusidique (66,66%), à la Trémithoprime+ sulfémoxazol (66,66%). Cependant, nous avons noté une sensibilité totale (100%) des souches vis-à-vis de la Rifampicine, du Ciprofloxacin et du Chlorapheinicol et une sensibilité élevée à la Gentamycine (66,66%).

A.3. Pseudomonas aeruginosa

D'après les résultats obtenus, nous avons constaté que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont été totalement résistantes à la Ticarcilline (100%), et moyennement résistantes à la Ceftazidime et à la Ticarcilline + acide clavulanique (50%). Toutefois, ces souches ont été sensibles (100%) à l'Imipénème, à l'Amikacine, à la Gentamycine, à la Ciprofloxacine, à la Tobramycine et à la Pipéracilline (**figure 20**).

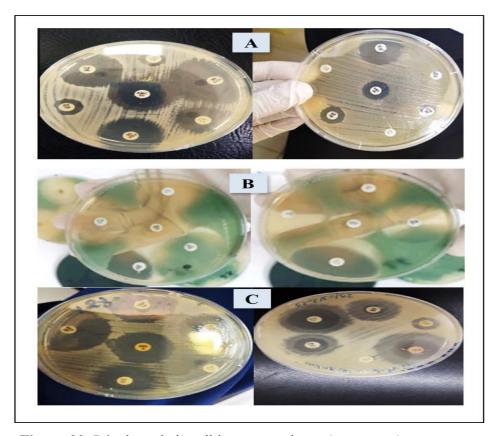


Figure 20. Résultats de l'antibiogramme de quelques souches :

A: Entérobactéries, B: P. aeruginosa C: Staphylococcus haemolyticus (Photos originales, 2023)

B) Profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir du pus

Nous rappelons que l'antibiorésistance des souches bactériennes a été testée par le vitek 2.

B.1. Entérobactéries

L'étude du profil de résistance des souches d'entérobactéries isolées à partir des prélèvements purulents a montré que ces dernières étaient résistantes à l'Ampicilline (76,92%). Ces souches ont par contre présenté une sensibilité très élevée à la Triméthoprime –

Sulfaméthoxazole (100%), au Chloramphénicol (96,15%), à la Ciprofloxacine (92,30%) et à la Fosfomycine (84,61%) (**Figure 21**).

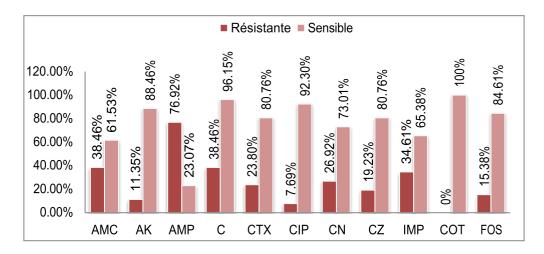


Figure 21. Profil d'antibiorésistance des entérobactéries isolées à partir du pus

B.2. Staphylococcus

D'après la figure 22, nous avons constaté une grande résistance des souches de *staphylococcus aureus* à l'Erythromycine (88%), à l'acide fusidique (79%) à la Tétracycline (76%), à la Triméthoprime – sulfaméthoxazole (71%), à la Gentamicine (62%) et à l'Oxacilline (59%). Les résultats de l'antibiogramme ont également montré que la majorité de souches étaient sensibles à l'Ofloxacine (85%), la Teichoplanine (82%), à la Clindamycine (76%) à la Rifampicine (74%) et la Vancomycine (71%).

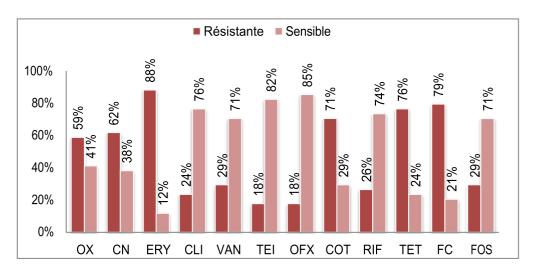


Figure 22. Profil d'antibior ésistance des Staphylococcus aureus isolées à partir du pus

Concernant le profil d'antibiorésitance des souches de *staphylococcus haemmolyticus*, nous avons remarqué que ces dernières ont montré une résistance totale à la Triméthoprime – sulfaméthoxazole (100%) et une sensibilité élevée vis-à-vis des autres antibiotiques : Gentamycine (100%), Clindamycine (100%), Fosfomycine (100%), Oxacilline (50%), Rifampicine (50%) et acide fusidique (50%).

B.3. Pseudomonas aeruginosa

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* ont présenté une résistance totale à la Ticarcilline (100%). Par ailleurs ces souches étaient sensibles vis-à-vis de la Gentamicine (92,30%), de l'Imipénéme (92,30%), de la Tobramycine (84,61%) et de la Pipéracilline (84,61%) (**Figure 23**).

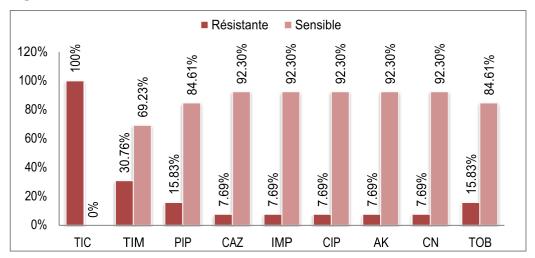


Figure 23. Profil d'antibiorésistance des *Pseudomonas aeruginosa* isolées à partir du pus

Les résultats de l'étude du profil d'antibiorésistance des bactéries isolées à partir des urines se rapprochent de ceux de **Ouedraogo et al.**, (2022), qui ont noté un niveau élevé de résistance des souches d'entérobactéries aux antibiotiques bêta-lactamines (amoxicilline : 100 %); amoxicilline-acide clavulanique ; (98,75 %). Le taux élevé de résistance des souches d'entérobactéries aux bêta-lactamines est principalement dû à la production de bêta-lactamases, qui constitue un mécanisme de résistance très efficace. En effet, les bêta-lactamases sont produites par des bactéries qui inactivent les bêta-lactamines par action hydrolytique. C'est le mécanisme le plus répandu de résistance bactérienne aux antibiotiques des bêta-lactames (**Ouedraogo et al., 2022**).

Le profil d'antibiorésistance des *Staphylococcus aureus* isolées à partir du pus a montré une forte résistance à la gentamycine, ce qui concorde avec les résultats obtenus par **Yildiz et** *al.*, **(2014)** (90,2 %).

Nous avons noté un taux de 88% de résistance des souches *S.aureus* à l'Erythromycine, ce qui se rapproche des résultats enregistrés dans l'étude réalisée par **Ahanogbe**, (2014) à Bamako (61%).

Le taux élevé de résistance de *Pseudomonas aeruginosa* vis à vis la Ticarcilline (100%). pourrait être dû à l'acquisition de mécanisme de résistance.

Selon **Sardi** (2020), la surexpression de la céphalosporinase AmpC est le mécanisme de résistance aux B-lactamines le plus fréquemment retrouvé chez *P. aeruginosa*. Cette céphalosporinase confère une résistance à plusieurs β-lactamines anti-pyocyaniques telles que la pipéracilline, la ticarcilline, la ceftazidime.

II.7. Répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements urinaires et purulentes

La répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements urinaires et purulentes est présentée dans le tableau X.

Tableau X. Répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements urinaires et purulentes

Genre	Espèce	Pourcentage	Origine
Staphylococcus	Staphylococcus aureus	50%	Pus
	Escherichia coli	13,63%	Pus
Entérobactéries	Escherichia coli	4,54%	Urines
	Klebsiella pneumoniae	4,54%	Pus
	Proteus mirabilis	22,72%	Pus
BGNNF	Pseudomonas aeruginosa	4,54%	Pus

Conclusion

Ces dernières années, certaines bactéries ont développé une résistance à de nombreux antibiotiques, ce qui représente une très grave menace pour la santé publique.

Cette antibiorésistance nous incite à rechercher des alternatives principalement à partir des ressources naturelles y compris les plantes médicinales et aromatiques car celles-ci constituent une grande réserve de substances actives.

Les résultats des prélèvements urinaires montrent une prédominance des entérobactéries dont 57,14% souches appartenant à l'espèce *Escherichia coli*, 20,41% souches à *Klebsiella pneumoniae*, 8,16% souches à *Serratia odorifera* et 4,08% souches *Proteus mirabilis*.

Les prélèvements de pus nous ont permis de recenser les souches suivants : les entérobactéries (34,67%), *Staphylococcus aureus* (45,33%) et *Pseudomonas aeruginosa* (17,33%).

L'étude du profil de résistance de l'ensemble des bactéries isolées a montré que les souches d'entérobactéries étaient très résistantes vis-à-vis l'Ampicilline, l'Amoxicilline, l'Amoxicilline+acide clavulanique. Les souches de *Staphylococcus aureus* étaient résistantes à l'Erythromycine, à l'acide fusidique et à la Tétracycline, alors que les souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentaient une résistance totale vis-à-vis de la Ticarcilline (100%) et une résistance moyenne vis-à-vis du Ticarcilline + acide clavulanique (50%).

Références bibliographiques

 \boldsymbol{A}

- -Abu-Harirah, H.A., Amawi k., Deeb, A S. Ali., Daradka, H M.., Fares N et Maraqa,, AD., Qudah, Audai J., Daabes E (2020). Multidrug Resistant Bacterial Profile and Patterns for Pus Isolates and Recurrent Wound Infections in Nongovernmental Hospitals of Jordan', Journal of Pharmaceutical Research International, . 54–62. Available at: https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i4231054.
- -Ahanogbe, K. A. L. (2014). Resistance bactérienne en cas d'infections de plaies diabétiques : diagnostic et surveillance au Laboratoire Rodolphe Merieux de bamako.
- -AIT MILOUD, K.(2011). L'infection urinaire: Expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de Rabat. Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V Faculté de Médecine et de Pharmacie, RABAT, 68.
- **AKEL**, **Z.** (2014). Profil épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémases isolées au CHU Ibn Sina-Rabat. Thèse de doctorat.
- -Amin, M.A., El-Khlousy, M., Elberry, A.A., Hussein, R.R., Mostafa Kamel, N. (2017). Bacterial Profile and Antimicrobial Resistance Pattern of Pus Isolates in Beni-Suef University Hospital from 2008-2014: An Observational Study. International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research. 43(139): 206-10.
- -Anbalagan, S., Srinivasan, K. and Sankareswaran, M. (2022) .Bacteria Isolated from PUS Samples of the Bacteriological Profile and Anti-Biogram in a Secondary Care Unit', 5.
- -Ansari, S., Jha, R.K., Mishra, S.K., Tiwari, B.R., Asaad, A.M. (2019). Progrès récents dans l'infection à Staphylococcus aureus : focus sur le développement de vaccins. Infection and Drug Resistance, 12:1243–1255.
- -Aouni, M., Pelen, F., et Soulimani, R. (2013). Étude de l'activité antimicrobienne d'un mélange de 41 huiles essentielles et domaines d'application. Phytothérapie, 11(4):225-236.
- -ARCHAMBAUD, M., CLAVE, D. (2013). Staphylococcus haemolyticus. FICHE TECHNIQUE BACTERIOLOGIE, Laboratoire de Bactériologie CHU Rangueil, p1.
- -Atmani,S., Aouragh,R., Hida,M.(2007). Urinary tract infection innewborns :about 23 cases. Journal de Pédiatrie et de puériculture, 20(2):70-73.

-Avril, L., Darbernat, H., Denis, F., et Monteil, H. (2000). Bactériologie clinique 3éme géneration. Paris: Ellipses édition markting.

В

- **Bagueri, M.** (2015). Profil de l'antibio-résistance des germes uropathogènes au service d'urologie sur une durée de dix ans : 2004-2014. Thèse de doctorat. Université Cadi ayyad, Marrakech.1.
- Balentine CW., Crandall PG., O'Bryan CA., Duong DQ., Pohlman FW. (2006) .The preand post-grinding application of rosemary and its effects on lipid oxidation and color during storage of ground beef. Meat Science., 73: 413-421.
- **-Barrier Letertre, C. (2014).** Infections urinaires chez les personnes âgées . Thèse de Docteur en Pharmacie. Angers : Université Angers, 27-62.
- -Batatia K., Douadi, H. (2016). Évaluation de la résistance des bactéries isolées de suppurations aux antibiotiques au CHU de Tizi-Ouzou durant l'année 2016.
- -Bejaoui A., Chaabane H., Jemli M., Boulila AN., 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.
- **BELDI, N and BOURICHA, M. (2019)** .ETUDE PROSPECTIVE DE PROFIL bACTERIOLOGIQUE DES INFECTIONS DU PIED DIABETIQUE DANS LA REGION DE OUARGLA (SAHARA, ALGERIE) Vol. 9, n° 2
- -Bennadja,S., Tlili Ait Kaki, Y., Djahoudi, A., Hadef,Y., Chefrour.,A. (2013). Antibiotic activity of essential oil of Laurel (Laurus nobilis) on eight bacterial strains. Journal of Life Sciences. Vol. 7. 814-819.
- **-Berthélémy, S. (2016).** L'examen cytobactériologique des urines. Actualités Pharmaceutiques, 55(556): 57-59.
- **-Besombes, C.(2008).** Contribution à l'étude des phénomènes d'extraction hydro-thermomécanique d'herbes aromatiques : applications généralisées , thèse doctorat , Génie des Procédés Industriels, Université de la Rochelle, France, 258.
- -Bouarroudj, Y., Boutebza, F. (2016). Les infections urinaires. Mémoire de master.

- **-Bouhaddouda N, Aouadi S, Labiod R (2016).** Ation of Chemical Composition and Biological Activities of Essential Oil and Methanolic Extract of Origanum vulgare L. ssp. Glandulosum (Desf.) Ietswaart from Algeria. International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research., 8(1), 104-112.
- **-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.
- Boukhatem MN., Ferhat MA., Kameli AK., Saidi F., Taibi H., Teffahi D. (2014) .Valorisation de l'essence aromatique du Thym (Thymus vulgaris L.) en aromathérapie anti-infectieuse. International Journal of Innovation and Applied Studies, 8(4): 1418-1431.
- -Boulaghmen, F., Chaouia, C., Hazzit, M., Nouas, M et Saidi, F. (2018). COMPOSITION CHIMIQUE ET ACTIVITÉ ANTIMICROBIÊNNE D'HUILE ESSENTIELLE EXTRAITE DE THYMUS GUYONII DE NOE D'AFLOU ALGÉRIE. Revue Agrobiologia, 8(1): 853-862.
- **-Bruneton, J. (1999)** .Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 3ème édition, Ed. TEC et DOC, Paris.

 $\boldsymbol{\mathcal{C}}$

- Carle S.,(2009)- La résistance aux antibiotiques. un enjeu de santé publique important.-6-21.
- Chaudhry, N.M.A., Saeed, S., Tariq, P. (2007). Antibacterial effects of oregano (Origanum vulgare) aganist Gram negative Bacilli. Pakistan journal of botanic., 2, 609-613.
- -Cetin, B., Cakmakci, S., Cakmakci R. (2011). The investigation of antimicrobial activity of thyme and oregano essential oils. Turk agric for., 35, 145-154.
- -Chekroud R.,Fathi R. (2017). Étude du profil bactériologique et de la sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables des infections urinaires, Fréres Mentouri de Constantine. Algeria. Institute.63.p.components of essential oil of Malaleuca alternifolia . J.Appl. Bacteriol. 78: 264-269.
- -Chemloul, f., (2014). Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *lavandula* officinalas de la région de Tlemcen.

- -Chervet, **D.** 2015. Infections urinaires en ville : description de la population et épidémiologie actuelle des résistances bactériennes, Thèse d'obtention de doctorat, Université Paris Descartes Faculté de Médecine Paris Descartes, Paris, 16.
- -Citron, D. M., Goldstein, E. J., Merriam, C. V., Lipsky, B. A., & Abramson, M. A. (2007). Bacteriology of moderate-to-severe diabetic foot infections and in vitro activity of antimicrobial agents. Journal of clinical Microbiology, 45(9): 2819-2828.
- **CLSI**., (2012)- Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically; Approved Standard. Clinical and Laboratory Standards

D

- **Daferera DJ., Ziogas BN., Polissiou MG., (2003).** The effectiveness of plant essentialoils on the growth of Botrytis cinerea, Fusarium sp. and Clavibacter michiganensis subsp. michiganensis. Crop. Protection. 22:39–44
- **Delarras**, **C. (2014).** Pratique en microbiologie de laboratoire. Lavoisier. paris : poiteaux Celine, 2014, pg 233-559-560-562-683-688-375. ISBN : 978-2-7430-1565-7.
- **Demars, V. (2023)**, Eucalyptus radié. Hegel, 1(1): 47-50.
- **Dembélé, M.** (2020). Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolées dans les urines au service bactériologie de l'INSP de 2016 à 2018 (Doctoral dissertation, USTTB)
- Denis, F., Bouchiat, C., & Loubinoux, J. (2016). Cocci à Gram positif. Bactériologie médicale : Techniques usuelles.
- -Denis, F., Ploy, M.-C., Christian, M., Bingen, É., Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles, Elsevier Masson, paris
- Denis f , Ploy MC , <u>Povart C</u>, <u>Cattoir V</u> , Mart C (2016) .Bactériologie médicale: techniques usuelles Elsevier Masson, paris.585

E

-ELHARCH, I. (2013). Profil bactériologique des infections urinaires diagnostiquées aux différents services du centre hospitalier universitaire (CHU) de Rabat (Thèse de doctorat).

-Erau, P.2019. L'Eucalyptus: Botanique, composition, utilisation thérapeutique et conseil à l'officine. Thèse pour obtenir le Diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Faculté de Pharmacie, Université d'Aix-Marseille, France.

F

- **-Fathi, N., Parnia, F., Rashidi, G., Sattar, M., Dizaj, E.** (2007). Antibacterial activity of some essential oils against S.aureus and E.coli. Journal of Advanced Chemical and Pharmaceutical Materials 2588-6576.
- -Ferjani, A., Mkaddemi, H., Tilouche, S., Marzouk, M., Hannechi, N., Boughammoura, L. et Boukadida, J. (2011). Caractéristiques épidémiologiques et bactériologiques des bactéries uropathogènes isolées dans un milieu pédiatrique. Archives de Pédiatrie, 18, 230-234.
- **-Florian, B**.(2021). « Bactéries multirésistantes et hautement résistantes émergentes : définition et mécanismes de résistance d'intérêt épidémiologique émergence de bactéries résistantes aux médicaments : définition et mécanismes de résistance d'intérêt épidémiologique ». Revue Francophone des Laboratoires, 537, p. 28-36.
- Fongoro, D. A. (2022). Infections urinaires du sujet âgé : aspects épidemio-cliniques et bactériologiques dans le service de néphrologie du CHU du Point G (Thèse de doctorat, USTTB).
- **-Franchomme, P., Pénoël D.** (2001). L'aromathérapie exactement. Encyclopédie de l'utilisation thérapeutique des huiles essentielles. Roger Jallois éditeur. Limoges., 445.
- Francis M., Francois J.P., Nicolas L., Paul, HR., Marc OU., Michel C.B. (2000). Corrélation entre le génotype de résistance déterminé par les dosages PCR multiplex et les profils de sensibilité aux antibiotiques de staphylococcus aureus et staphylococcus epidermidis 442231-238.
- -François, A., Brandstätter, H., Bréchet, A. C., Huttner, A. (2013). Infections urinaires. Hôpitaux Universitaires de Genève.3.
- -Freney, J., Renaud, F., Leclercq, R., Riegel, P. (2007). Précis de bactériologie clinique. Edited by ESKA. Paris. 795-828.

G

- Gadou, V. (2019). Epidemiologie moleculaire des enterobacteries productrices de β -lactamases à spectre elargi resistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district

- d'abidjan, côte d'ivoire (Thèse de doctorat, Université Félix Houphouët-Boigny (Abidjan, Côte d'Ivoire); N° ORDRE 2186/2019).
- -GARBA, A.-A., DOUTCHI, M., LAWALI, M., DIONGOLE, H., HALIDOU, M., Aboubacar, I., ALKASSOUM, I., & ADEHOSSI, E. (2020). Étude Bactériologique des Infections Urinaires chez l'Adulte au Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital National de Zinder. SCIENCES DE LA SANTÉ ET MALADIES, 21 (3).
- -Germann, G. and Germann, P. (2014). Plantes d'aromathérapie. éd. Delachaux et Niestlé Paris, 208.
- Guetarni., (2014) les infections de site opératoire (iso) au chu d'oran thése de doctorat en science médicales université d'oran 192
- -Gomatheswari, S., Jeyamurugan, T. (2017). Bacteriological Profile and the Antibiotic Susceptibility Pattern of Microorganisms Isolated from Pus/Wound Swab Isolates in Patients Attending a Tertiary Care Hospital in South India. International Journal of Cur.
- Gong, H.Y., Liu, W.H., LV, G.Y., Zhou, X. (2014) .Analysis of essential oils of Origanumvulgare from six production areas of china and pakistan. Revistz Brasileira de Farmacognisia.,24, 25-32..
- -Gonsu Kamga H., Nzengang R., Toukam M., Sando Z., Koulla Shiro S. (2014)
 Phenotypes de resistance des souches d'Escherichia coli responsables des infections urinaires communautaires dans la ville de Yaounde (Cameroun). African Journal of Pathology and Microbiology. 2-4.
- -Gupta, M., Aman Kumar Naik, A. and Singh, S.K. (2019) .Bacteriological profile and antimicrobial resistance patterns of burn wound infections in a tertiary care hospital | Elsevier Enhanced Reader', . 4.Available at: https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02956.

Η

- **-Hailaji, N-S-M., Ouled Salem, M.L., Ghaber, S.M.2016.** La sensibilité aux antibiotiques des bactéries uropathogènes dans la ville de Nouakchott-Mauritanie.Progrès en urologie, 26.348.
- **Hans W K., (2007).**1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. 223- 336 P. ISBN 978-2-35530-003-5.

- **-Hayes, A., et Markovic, B., (2002).** Toxicity of Australian essential oil Backhousia citriodora (Lemon myrtle). Part 1. Antimicrobial activity and in vitro cytotoxicity. Food and Chemical Toxicology, 40(4), 535-543.
- **-Hilpipre, C. (2014).** composition chimique des huiles essentielles .Actualités pharmaceutiques, 52(525) :22-25.

I

- Imtara, H., Elamine, Y., Lyoussi B. (2018) . Honey antibacterial effect boosting using Origanum vulgare L. essentiel oil. Evedence based complementary medecine. ID 7842583.14.
- Islam A., Mazumder U.K., Gupta M., Ghosal S. 2008. Synergistic Effects of Geraniin and Rutin in the Antioxidant Properties of Major Lignans in Phyllanthus amarus. Pharmacology online 3. P: 1025.

J

- **-Janvier F., Mbongo-Kama E., Mérens A., Cavallo J.-D. (2008).** Les difficultés d'interprétation de l'examen cytobactériologique des urines. Revue Francophone des laboratoires (406): 51-59.
- Jnaid, Y., Yacoub, R., Al Biski, F. (2016). Antioxidant and antimicrobial activities of Origanum vulgare. International food research journal., 23(4),1706-1710.

K

- Kaloustian, J., Chevalier, J., Mikail, C., Martino, M., Abou, L., & Vergnes, M.-F. (2008) .Étude de six huiles essentielles : Composition chimique et activité antibactérienne. Phytothérapie, 6(3), 160-164.
- -Kambira, P., Liliana, M., Arfenda, L., Marcella, S. (2020). Antibacterial and Antiviral Activity of Eucalyptus oil. Jurnal Farmasi Indonesia, 12(2).
- **-KETZ, F. 2016.**INFECTIONS URINAIRES HAUTES AUX URGENCES : INCIDENCE ET FACTEURS ASSOCIES AU BON DIAGNOSTIC. Thèse d'obtention de doctorat en Médecine, Université Paris Diderot, Faculté de Médecine.Paris, 26.

- **-Kohanski, M. A., Dwyer, D. J., & Collins, J. J. (2010).** How antibiotics kill bacteria: from targets to networks. Nature Reviews Microbiology, 8(6): 423-435.
- **-Koksal, F., Yasar, H., Samasti, M. (2006).** Antibiotic resistance patterns of coagulasenegative staphylococcus strains isolated from blood cultures of septicemic patients in Turkey. Microbiological Research 164 (2009):404-410.

L

- **-Lamassiaude-Peyramaure, S. (2008).** Nouvelles thérapeutiques à l'officine. Actualités pharmaceutiques 475(47): 27-28.
- Lambert, R.J.W., Skandamis, P.N., Coote, P., Nychas, G.J.E. (2001) A study of the minimum inhibitory concentrationand mode of action of oregano essential oil, thymol and carvacrol. J. Appl. Microbiol., 9: 453–462.
- **-Larabi, K., Masmoudi, A. et Fendri, C. (2003)** étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas. Médecine et Maladies Infectieuses, 33, 348-352.
- **-Laurent, J. (2017).** Conseils et utilisation des huiles essentielles les plus courantes en officine. Thèse de doctorat, Université Paul Sabatier Toulouse III, France.
- **-Lister, P. D., Wolter, D. J., & Hanson, N. D. (2009).** Antibacterial-resistant Pseudomonas aeruginosa: clinical impact and complex regulation of chromosomally encoded resistance mechanisms. Clinical microbiology reviews, 22(4): 582-610.
- **-Lobstein, A., Marinier, C., Koziol, N. (2018).** Huile essentielle d'*Eucalyptus radiata*. Aromathérapie, 57(575):55-56.
- -Lozniewski, A., & Rabaud, C. (2010). Résistance aux antibiotiques. CCLIN Sud-Est.

M

- Maurin M., (2018). Antibiotiques, antibiorésistance et environnement, Institut de Biologie et de Pathologie, CHU Grenoble alpes, Université Grenoble Alpes. médicale: techniques usuelles, Elsevier Masson, paris. Microbiology, 7ème éd, MC Graw Hill. Microbiology, 7ème éd, MC Graw Hill.

- Milhau, G., Valentin, A., Benoit, F., Mallié, M., Bastide, J. M., Pélissier, Y., & Bessière, J. M. (1997). In vitro antimalarial activity of eight essential oils. Journal of Essential Oil Research, 9(3), 329-333.
- Mohamedi, D., Korich, M.N., Yala, D., Merad, A.S. (2001). Résistance bactérienne aux antibiotiques. Medicine du Maghreb. 91:13-14.
- -Mahat, P., Manandhar, S., Baydia, S. (2017). Bacteriological Profile of Wound Infection and Antibiotic Susceptibility Pattern of the Isolates. Journal of Microbiology & Experimentation, 4 (5).
- -Mahmoudi ,Y. (2011). Eucalyptus. Algérie Vitamine dz.com.
- -Mechergui, K., Coelho, JA., Serra, MC., Lamine, SB., Boukhchina, S., Khouja, ML. (2010). Essential oils of Origanum vulgare L. subsp. Glandulosum (Desf.) Ietswaart from Tunisia: chemical composition and antioxidant activity. J. Sci. FoodAgric. 90:1745-1749
- -Mekri ,M. (2016). Effet de synergie des bactériocines issus des bactéries lactique et pseudo lactique et des huiles essentielles d'Inula viscosa conte les germes pathologénes. Thèse de doctorat, Université Djillali Laibes de Sidi BelAbbes, Algérie, 78.
- -Mulyaningsih, S., Sporer, F., Reichling, J. et Wink, M. (2011). Antibacterial activity of essential oils from *Eucalyptus* and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology*, 49: 893-899.

N

-Negreiros, M.O., Pawlowski, A., Soares, G. L., Motta, A.S., Frazzon, A.P.G. (2016). In vitro antimicrobial activity of essential oils from Heterothalamus Less. (Asteraceae) against clinically relevant bacterial and fungal species. R. soutiens-gorge. Bioci., Porto Alegre, c. 14(1): 26-31.

0

-Ouedraogo, S., Kpoda, D-S., Paul Ouattara, L., Zongo, C., Esther Hien, Y., Karfo, P., Nezien, D., Kabre, E., Barreda Pillar, A., Savadogo, A. (2022). Identification des souches bactériennes isolées dans les infections urinaires et leur sensibilité aux antibiotiques au

Laboratoire National de Santé Publique de Ouagadougou. Journal of Medical Microbiology,12(3).

- **Peyrou M.**, (2001). Antibiorésistance des souches bactériennes d'origine equine. Université-Toulouse. 87.
- -Pezzani, R., Vitalin, S., Iriti, M. (2017). Bioactivities of *Origanum vulgare* L. :an update, *Phytochemistry Review*, 16(6):629-61.
- **Pierrot, S. (2015).** Portage de bactéries multirésistantes en structures d'accueil pour personnes âgées: évaluation d'une politique de dépistage cible en fonction des facteurs de risque (Thèse de doctorat, Université de Lorraine).
- **-Pilly, E. (2014).** Maladies infectieuses et tropicales. 24^{eme} édition: ALINEA Plus, Paris, 24.
- **-Pilly, E**. **(2018).** Maladies infectieuses et tropicales, ALINEA Plus, NCBI Paris, France.
- Pizzale, L., Bortolomeazzi, R., Vichi, S., Uberegger, E., Conte, L. S. (2002). Antioxidant activity of sage (Salvia officinalis and Salvia fruticosa) and oregano (Origanum onites and Origanum indercedens) extracts related to their phenolic compound content. J. Science of FoodandAgriulture., 82:1645-1651.
- **-Ponce, A.G., Fritz, R., del Valle, C., Roura, S.I.**(2003). Activité antimicrobienne des huiles essentielles sur la microflore native de la bette à carde biologique. Lebensm. Wiss. u-Technol. 36 (2003) 679-684.
- Prabuseenivasan, S., Jayakumar, M., Ignacimuthu, M. (2016). In vitro antibacterial activity of some plant essential oils. BMC Complement Altern Med 6, 39.

R

- Rahal K, Abiayad R, Aggoune N, Ammari H, Azzam A, Benamrouch N, Benslimani A, Bentchouala C, Djennane F, Ialiam R, Mahrane S, Merad A S, Missoum MFK, Ouar MN, Oukid S, Tali maamar H, Zaougui S_ standardisation des tests de sensibilité aux antibiotiques à l'échelle nationale, 8ème Edition avril 2020.

- -Rao, R., Basu, R., Biswas, D. (2014). Aerobic Bacterial Profile and Antimicrobial Susceptibility Pattern of Pus Isolates in a South Indian Tertiary Care Hospital. Journal of Dental and Medical Sciences, 13 (3):59-62.
- **Redding GJ., carter E.R.** (2017) .chronic suppurative lung disease in children: definition and spectrum of diseas .frontiers in peadiatrics.
- -Rajput, K., Johri, S., Goyal, A. (2023). Identification of Bacterial Isolates and Their Antimicrobial Susceptibility Pattern from Wound/Pus Sample in a Tertiary Care Hospital, Gwalior, India, Annals of the National Academy of Medical Sciences (India).
- -Richard, J. L., Lavigne, J. P., Got, I., Hartemann, A., Malgrange, D., Tsirtsikolou, D., ... & Senneville, E. (2011). Management of patients hospitalized for diabetic foot infection: results of the French OPIDIA study. Diabetes & metabolism, 37(3): 208-215.
- -Ruppé, É., Woerther, P.L., Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. Annels of Intensive Care, 2(21): 2-15.

S

- -Sardi, F.S.2020. Résistance au bêta-lactamines chez Pseudomonas aeruginosa : épidémiologie et mécanismes moléculaires. THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE, 16.
- Saussereau, E. (2012). Utilisation des bactériophages comme thérapie lors d'une infection à Pseudomonas aeruginosa dans le cadre de la mucoviscidose: efficacité et innocuité (Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie-Paris VI).
- Sharma R, batra S balothia v ,agarwel S.(2021). Bacteriological profile and antimicrobial suscibility pattern of pus culturs isolates from a tertiary care hospital .surs medical college jaipur .europeun journal of molecular clicinal medecinu,7(11):7502-7508 Toulouse. 87.
- Skandamis P, Koutsoumanis K, Fasseas K, et al. (2001) Inhibition of oregano essential oil and EDTA on E. coli O157: H7. Ital J Food Sci 13: 65–75.

T

-Taleb-Toudert, K.(2015). Extraction et caractérisation des huiles essentielles de dix plantes aromatiques provenant de la région de Kabylie (Nord Algérien). Evaluation de leurs effets la bruche du niébé Callosobruchus sur maculatus (Coleoptera : Bruchidae). Thèse de doctorat en Sciences biologiques, Université MOULOUD

MAMMERI de Tizi-Ouzou Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques, 27-30.

-Tong, S., Davis, J.H., E; Eichenberger, E., Holland, T.L., Fowler, V.J. (2015). Infections à Staphylococcus aureus : épidémiologie, physiopathologie, manifestations cliniques et prise en charge. Clinical Microbiology Reviews, 28(3): 603–661.

U

- Ultee, A., Kets, E.P.W., Smid E.J. (1999) . Mechanisms of action of carvacrol on the foodborne pathogen Bacillus cereus. J. Appl. Microbiol., 65(10): 4606-4610.
- **Ultee, A., Smid, E.J. (2001).** Influence of carvacrol on growth and toxin production by Bacillus cereus. Int. J. Food Microbiol., 64:373-378.

v

- **-Vasudeva N.**, (2015). Origanum majorana L. phyto-pharmacological. Indian journal of Natural Products and Resources, 6(4):261-267.
- **-Verma**, **P.** (2012). A study on isolation of different type of bacteria from pus. International Journal Of Pharmacy & Life Sciences , 3 (11) : 2107-2110.

W

- -Walana W., Bernard PB., Eugene DK., Samuel A., Vicar KE., Iddrisu BY., Alhassan AM. et Juventus BZ. (2020). Staphylococcus aureus nasal carriage among health care workers, inpatients and care takers in the Tamale Teaching Hospital, Ghana. Scientific African, 8, e00325.
- -Willey, M., Sherwood, L., Woolverton, C. (2008). Prescott, Harley, and Klein's Microbiology, 7ème éd, MC Graw Hill.

Y

- -Yakhlef, G., Laroui, S., Hambaba, L., Aberkane, M.C., et Ayachi, A. (2011). Évaluation de l'activité antimicrobienne de *Thymus vulgaris* et de *Laurus nobilis*, plantes utilisées en médecine traditionnelle. Phytothérapie, 9(4): 209-218.
- -Yıldız, Ö., Çoban, A. Y., Şener, A. G., Coşkuner, S. A., Bayramoğlu, G., Güdücüoğlu, H., ... & Aktepe, O. (2014). Antimicrobial susceptibility and resistance mechanisms of methicillin resistant Staphylococcus aureus isolated from 12 Hospitals in Turkey. Annals of clinical microbiology and antimicrobials, 13(1): 44.

-Yotova, I., Ignatova-Ivanova, Ts. (2015). In vitro study of antibacterial activity of Oregano (Origanum vulgare). International journal of research studies in biosciences., 3:65-69.

Annexes

Annexe I

I.1 Matériel non biologique

Outils de laboratoire	Appareillages	Solutions	Colorants et réactifs	Autres
*Lames et lamelles *Pipettes *Pasteur * Tubes à essai stériles *Ecouvillons *Boîtes de Pétri * Portoir * Pince métallique *Seringue stérile *Anse de platine *Pied de coulisse *épindorfs	*Etuve *Bec benzène *Microscope optique * Autoclave * Bain marie *Autoclave * la hôte * vitek *densitomètre	*L'eau oxygénée *L'eau Physiologique *L'eau distillée *L'huile à immersion * L'huile de vaseline *Lugol *Alcool *Sérum Physiologique *Glycérol *tween 80	*Fuschine *Violet de gentiane *Bleu de méthylène *Kovacs *TDA *VP 1 *VP 2 *Nit 1 *Nit 2	*Disques d'antibiotiques * Disques d'oxydase * Galerie API 20E * Galerie API STAPH *Galerie api NE * Milieux de Culture *microplaque



Galeries API staph (Photo original)



API 20^E (**Photo original**)



Galerie API NE (Photo original)



Disques d'antibiotiques (Photo original)

I.2 Composition des milieux de cultures

Gélose nutritif (GN)					
Colose nathti (O17)					
Composition g/L	Caractéristiques	Photo			
* Peptone (10g) * Extrait de viande (3g) * Extrait de levure (3g) *Agar (18g) *Chlorure de sodium (5g) *pH = 7, 3	La gélose nutritive est un milieu à usage général qui favorise la croissance d'un large éventail d'organismes non fibreux. La gélose nutritive est populaire parce qu'elle permet la croissance de divers types de bactéries et de champignons, et qu'elle contient de nombreux éléments nutritifs nécessaires à la croissance des bactéries	Sometime and the second			
	Gélose Chapman (MSA)				
Composition g/L	Caractéristiques	Photo			
*Peptone (10g) * Extrait de viande (1g) * Extrait de levure (3g) *Agar (15g) *Chlorure de sodium (75g) * Mannitol (10g) *Rouge de phénol (0,025g) * pH = 7, 5	Utilisé pour l'isolement des Staphylocoques pathogènes qui donnent des colonies jaunes par fermentation du mannitol et virage du rouge de phénol. Sa forte teneur en chlorure de sodium inhibe la croissance de la plupart des autres espèces.	GEORG CAMPAN An or warm and			
	Gélose Hektoen (HK)				
Composition g/L *Peptone pepsique du viande (15g) *Extrait de viande (3g) *Extrait de levure (3g) *Chlorure de sodium (5g) *Sels biliaires (4g) *Lactose (12g) *Salicine (2g) *Saccharose (12g) *Fuchsine acide (0,1g) *Bleu de bromothymol (0,065g) *Agar (18g) *pH = 7,5	Caractéristiques Milieu sélectif différentiels des bactéries entéro- pathogènes ; particulièrement de salmonella et de shigella. La composition du milieu permet la différenciation des colonies fermentant rapidement un des 3 sucres et/ou produisant de L'H2S (Centre noir).	Photo			

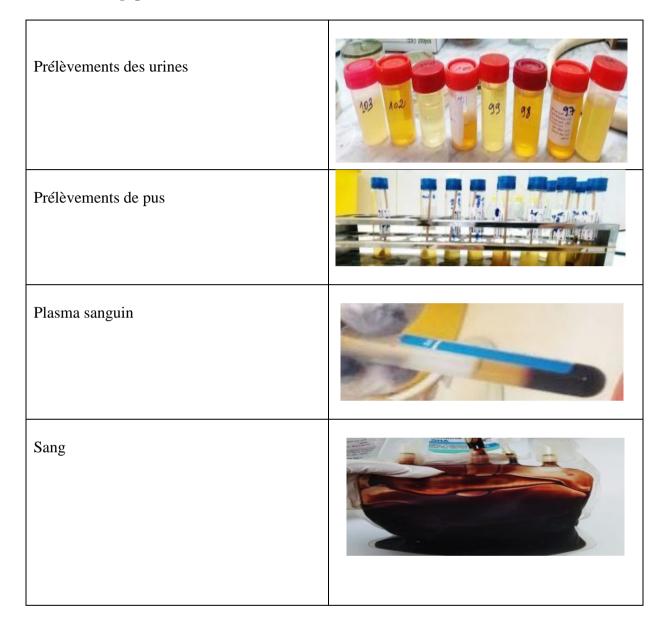
Commonition o/I	Gélose Mueller Hinton (MH)	Photo	
*Extrait de viande (3g) * Hydrolysat de caséine (17,7g) * Amidon (15g) * Agar (10g) * pH = 7,4	Caractéristiques Est un milieu de référence pour les tests de sensibilité des germes aux antibiotiques et sulfamides.	PHOTO	
F	Bouillon cœur cervelle (BHIB)		
Composition g/L	Caractéristiques	Photo	
*Peptone de gélatine (16g) * Peptone de caséine (10g) * Cétrimide (0.2g) *Sulfate de potassium (10g) *Chlorure de magnésium (1,4g) * Agar (10g) * pH = 7,1	Est un milieu nutritif tamponné; à la base d'infusion de tissus de cœur et de cervelle et de peptones; qui apporte les protéines et les autres nutriments nécessaires à la croissance des microorganismes exigeants.	NALES OF THE PROPERTY OF THE P	
	Chromagar orientation		
Composition g/L	Caractéristiques	Photo	
*Chromopeptone(16.1g) *Chromogen Mix (1,3g) *Agar (15g) *pH= 6,9	Est un milieu non sélectif servant à l'isolement, à l'identification directe, à la différenciation et à l'énumération des agents pathogènes des voies urinaires.	GELDEAL LABO GELDES CHROMAGAA 180ML Lot: 209 15-29 03/2020 03/2023	
Gélose au sang cuit			
1Composition g/L	Caractéristiques	Photo	
*Protéase *pepton 15 g * Extrait de foie2,5 g	Milieu d'enrichissement pour les germes exigeants		

- *Extrait de levure5 g
- * Chlorure de sodium5 g
- *Agar 12 g
- * pH = 7.4 ± 0.2
- globules rouges sont lysés à cause de chauffage, ce qui apporte au milieu deux facteurs de croissances
- Le facteur X ou hémine (apporté par l'hémoglobine). - Le facteur V ou NAD



Annexe II

II.1 Matériel biologique



Annexe W.1

Etude microscopique (Coloration de Gram)

-Principe

C'est une coloration qui permet de mettre en évidence les propriétés de la paroi bactérienne, et d'utiliser ces propriétés pour les distinguer et les classifier. La coloration de Gram est une étape essentielle dans l'identification bactérienne. La paroi bactérienne peut être plus au moins perméable au passage de certains solvants. Cette propriété est nécessaire au cours de la coloration de Gram. Elle permet de diviser les bactéries en deux groupes (les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif), d'apprécier leurs morphologie (bacilles ou des Cocci) et leur mode de regroupement (dispersés, amas, chaînettes, grappe en raisin ...).

-Technique

*Préparation d'un frottis : prélèvement à l'aide de l'anse à ensemencement ou d'unepipette pasteur une parcelle de la colonie à étudier et la déposer sur une goutte d'eau sur une lamepropre et bien l'étaler afin d'éviter les agglomérations des bactéries.

*Fixation du frottis : on passe la lame sur la flamme (le côté sur lequel est étalé l'échantillon est dirigé vers le haut) puis on laisse refroidir, ou bien laisser sécher à l'air.

*coloration

Coloration	Mode opératoire	Temps d'agir	Photo Original
Coloration primaire (Couleur basique)	Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, puis rincer à l'eau	1 min	
Mordançage (La fixation au Lugol)	Recouvrir la lame avec le Lugol puis rincer à l'eau.	1min	
Décoloration à l'alcool (La plus crucial)	Verser goutte à goutte un jet d'alcool 70° sur le frotti jusqu'à la Disparition de la couleur violette, le filet Doit être clair à la fin de la décoloration, Rincer à l'eau	1min	TOTOL ALCO
Coloration secondaire	Récolorer par la Fuchsine puis rincer à l'eau	1 min	

Lecture

Après avoir sécher la lame, ajouter une goutte d'huile à immersion et observer au microscope optique à l'objectif×100. Les bactéries Gram négatif prennent la couleur rose de la fushine et les bactéries Gram positif conservent la couleur violette.

V.2 Testes d'identification biochimique des souches

*Test Catalase: Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent catalyser les peroxydes.

On Met en contact une Colonie distincte de culture jeune après 24h avec le H2O2 sur une lame avec une observation immediate. Le dégagement de bulles d'oxygène indique catalase positive.

* Test Oxidase: Ce test permet de mettre en évidence une enzyme: la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé. Elle est capable d'oxyder un réactif. Le N diméthylparaphynélène diamine qui est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose rouge ; réactif incolore Composé rosé Phényle diamine oxidase ; Sur une lame,on dépose un disque d'oxydase imprégné par le réactif et imbibé par l'eau distillée et à l'aide d'une pipette pasteur prendre une colonie de bactérie isolée et la gratter sur le disque avec une observation immediate; Oxydase (–) :Reste incolore, Oxydase (+) Le disque prend une teinte bleue ou violette.

*Test Coagulase: Recherche de coagulase libre chez les staphylocoques. *On dépose une colonie de la souche à étudier dans Test (+) : présence d'une 0.5ml d'un bouillon coagulation au d'enrichissement BHIB ou fond du tube BHIB pendant 2h. Donc Après 2h on prépare 3 formation d'un tubes,tous Les tube Coagulum qui Contiennent 300µl du se traduit par plasma humain frais à TP transformation (100%). du fibrinogène 1-Témoin(-) :contient en fibrine. plasma seulement Test (-) : Pas 2-Témoin(+):contient du de coagulation plasma et quelques colonie de staphylococcus aureus ATCC. 3- échantillon : contient plasma plus 5 gouttes de mélange de la suspension au début. Les tubes sont homogénéisés puis incuber à 37°C pendant4 à 5 heures parfois 24hTest (+) : présence d'une coagulation au fond du tube Donc formation d'un Coagulum qui se traduit par transformation du fibrinogène en fibrine. Test (-): Pas de coagulation.

V.3 Identification biochimique des bactéries par les galeries API

Les galeries Api sont des galeries biochimiques miniaturées, contenant différents substrats et permettent la mise en évidences de plusieurs caractères importants et une identification plus rapide de la bactérie. La galerie Api comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne.

*Préparation de la galerie

Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir de l'eau dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide, et déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

➤ La galerie d'Api 20 E

La galerie d'Api 20 E, est utilisée pour l'identification des Entérobactéries.

*Préparation de l'inoculum

On prélève une colonie sur milieu gélosé d'une culture jeune (18 à 24 heures), et on la dépose dans un tube contenant 5 ml d'eau physiologique stérile pour réaliser une suspension bactérienne de 0,5 Mc Farland en homogénéisant soigneusement les bactéries dans le milieu.

*Inoculation de la galerie

On introduit la suspension bactérienne dans les tubules de la galerie à l'aide d'une pipette Pasteur tout en évitant la formation des bulles au fond des tubes :

- Pour les tests encadrés CIT, VP, GEL, on remplit les tubules et les cupules.
- Pour les autres tests on ne remplit que les tubules.
- Pour les tests soulignés ADH, ODC, LDC, H2S, URE, on remplit les cupules avec de l'huile de vaseline pour créer une anaérobiose.
- On couvre la boite d'incubation avec son couvercle et on l'incube à 37°C pendant 24 heures.

•

> La galerie d'Api Staph

La galerie d'Api Staph est un système standardisé pour l'identification des genres Staphylocoques et Microcoques.

*Préparation de l'inoculum

On ouvre une ampoule d'API Staph Medium et on prépare une suspension bactérienne homogène d'opacité égale à 0,5 de Mc Farland.

*Inoculation de la galerie

- A l'aide d'une pipette Pasteur, on introduit la suspension bactérienne dans les tubules de la galerie, ne remplit que les tubes et non les cupules, sans dépasser le niveau du tube.
- Pour les tests ADH et URE on remplit les cupules avec de l'huile de paraffine pour créer une anaérobiose.
- On couvre la boite d'incubation avec son couvercle et on l'incube à 37°C pendant 24 heures.

> La galerie Api Ne

Api Ne est un système standardisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non entérobactéries et non fastidieux (ex. Pseudomonas, Acinetobacter...).

*Préparation de l'inoculum

On utilise un tube contenant 2 ml de solution saline à 0.85 %. A l'aide d'une pipette, prélever 1 à 4 colonies de morphologie identique et réaliser une suspension d'opacité égale à 0,5 de McFarland.

*Inoculation de la galerie

- On remplit les tubes des tests NO3 à PNPG avec la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette Pasteur.
- Puis on ouvre une ampoule d'API AUX Medium et y transférer environ 200 μl de la suspension précédente puis homogénéiser avec la pipette en évitant la formation de bulles.
- On remplit les tubes et les cupules des tests GLU à PAC en veillant à créer un niveau horizontal ou légèrement convexe, mais jamais concave. Des cupules incomplètement remplies ou trop remplies peuvent entraîner des résultats incorrects.
- On remplit d'huile de vaseline les cupules des trois tests soulignés (GLU, ADH, URE) pour former un ménisque convexe.
- Refermer la boîte d'incubation et incuber à 37°C pendant 24 H.

*Lecture des galeries API (Lecteur en 2ème jour après incubation)

Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélées par l'addition de réactifs.

La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique ou d'un logiciel d'identification.

V.4 Tableau de lecture de la galerie API STAPH

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS QTE (mg/cup.) REACTIONS / ENZYMES	QTE PEACTIONS (ENTYMES		RESULTAT	
E919		REACTIONS / ENZYMES	NEGATIF	POSITIF	
0	Aucun		Témoin négatif	rouge	=
GLU	D-glucose	1,56	(Témoin positif) (D-GLUcose)		
FRU	D-fructose	1,4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1,4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1,4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1,4	acidification (LACtose)	rouge *	jaune
TRE	D-tréhalose	1,32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1,36	acidification (D-MANnitol)		
XLT	xylitol	1,4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1,32	acidification (D-MELibiose)		
	3	53		NIT 1 + NIT 2	2 / 10 min
NIT	nitrate de potassium	0,08	Réduction des NITrates en nitrites	incolore-rose păle	rouge
		BR I		ZYM A + ZYM	B / 10 min
PAL	ß-naphtyl phosphate	0,0244	Phosphatase ALcaline	jaune	violet
				VP 1 + VP 2	/ 10 min
VP	sodium pyruvate	1,904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1,56	acidification (RAFfinose)		
XYL	D-xylose	1,4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1,32	acidification (SACcharose)	rouge	jaune
MDG	méthyl-αD- glucopyranoside	1,28	acidification (Méthyl-αD- Glucopyranoside)	Todge jadne	
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1,904	Arginine DiHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0.76	UREase	jaune	rouge-violet

V.5 Tableau de lecture de la galerie API 20 E

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro- Phényl- Galactoside	β- galactosidase	Lecture directe		
ADH	Arginine	Arginine dhydrolase	Lecture directe		
ιος	Lysine	Lysine décarboxylase			
ODH	Ornithine	Ornithine décarboxylase			
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production dH2S	Lecture directe	6	0
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production dindole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs	9	
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d'α-napthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO3)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

V.5 Tableau de lecture de la galerie API NE

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	55467161161511714156	RESULTATS	
			REACTIONS/ENZYMES	NEGATIF	POSITIF
NO ₃	potassium nitrate	0.136	réduction des Nitrates en nitrites	NIT 1 + N incolore	T 2 / 5 min rose-rouge
NO3	potassium nitrate	0,130	réduction desNitrates en azote	Zn / rose	5 min incolore
				JAMES	/ immėdiat
TRP	L-tryptophane	0,2	formation d'indole (TRyptoPhane)	inco l ore vert pâ l e / jaune	rose
GLU	D-glucose	1,92	fermentation (GLUcose)	bleu à vert	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1,92	Arginine DiHydrolase	jaune	orange / rose / rouge
URE	urée	0,76	UREase	jaune	orange / rose / rouge
ESC	esculine citrate de fer	0,56 0,072	hydrolyse (β-glucosidase) (ESCuline)	jaune	gris / marron / noi
GEL	gélatine (origine bovine)	0,6	hydrolyse (protéase) (GELatine)	pas de diffusion du pigment	diffusion du pigment noir
PNPG	4-nitrophényl-βD- galactopyranoside	0,22	β-galactosidase (Para-NitroPhényl-ßD- Galactopyranosidase)	incolore	jaune
GLU	D-glucose	1,56	assimilation (GLUcose)	transparence	trouble
ARA	L-arabinose	1,4	assimilation (ARAbinose)	transparence	trouble
MNE	D-mannose	1,4	assimilation (ManNosE)	transparence	trouble
MAN	D-mannitol	1,36	assimilation (MANnitol)	transparence	trouble
NAG	N-acétyl-glucosamine	1,28	assimilation (N-Acétyl-Glucosamine)	transparence	trouble
MAL	D-maltose	1,4	assimilation (MALtose)	transparence	trouble
GNT	potassium gluconate	1,84	assimilation (potassium GlucoNaTe)	transparence	trouble
CAP	acide caprique	0,78	assimilation (acide CAPrique)	transparence	trouble
ADI	acide adipique	1,12	assimilation (acide ADIpique)	transparence	trouble
MLT	acide malique	1,56	assimilation (MaLaTe)	transparence	trouble
CIT	trisodium citrate	2,28	assimilation (trisodium CITrate)	transparence	troub l e
PAC	acide phénylacétique	8,0	assimilation (acide PhénylACétique)	transparence	trouble
ОХ	(voir notice du test oxydase)	300	cytochrome-oxydase	(voir notice d	u test oxydase)

Annexe VI

VI.1- Taxonomie des familles/ espèces bactériennes étudiées

Espèce	Taxonomie	
Staphylococcus aureus	Domaine : Bacteria	
	Phylum : Firmicutes	
	Classe : Bacilli	
	Ordre : Bacillales	
	Famille : Staphylococcaceae	
	Genre : Staphylococcus	
	Domaine : Bacteria	
Pseudomonas aeruginosa	Phylum : Proteobacteria	
	Classe : Gammaproteobacteria	
	Ordre: Pseudomonadales	
	Famille : Pseudomonadaceae	
	Genre : Pseudomonas.	
	Domaine : Bactéria	
Famille des Enterobacteriaceae	Phylum : Protéobacteria	
	Ordre: Enterobacteriales	
	Famille : Enterobacteriaceae	