



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

Filière : Science de la nature et de la vie

Option : Microbiologie

Thème

Etude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de l'origan (*Origanum vulgare*) contre quelques bactéries isolées des prélèvements pathologiques (pus et urine)

Date de soutenance : /07/2022

Présenté par :

- * BRAHMI Soumia
- * YAHIAOUI Yousra

Devant le Jury composé de :

TOUAIBIA M	MCA	Présidente
OUAHCHIA C	MAB	Examinatrice
BOUKRETA S	MCB	Promotrice

Promotion : 2021-2022

Remerciement

Au terme de la rédaction de ce mémoire, c'est un devoir agréable d'exprimer en quelques lignes la reconnaissance que nous devons à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près à l'élaboration de ce travail, qu'ils trouvent ici nos vifs respects et nos profondes gratitude.

On remercie DIEU le tout puissant de nous avoir donné la santé, la force, et la volonté d'entamer et de finir ce mémoire.

*Nos profonds remerciements s'adressent à notre promotrice **Mm BOKRETA Soumya** (maître de conférence B), pour avoir accepté de diriger ce Travail, pour ses précieux conseils, son aide, ses suggestions sur la rédaction de ce mémoire, sa gentillesse, et de son dynamisme ainsi que la confiance qu'elle nous a témoigné tout au long de Cette étude. C'est avec un grand plaisir que nous remercions **Mme .Touaibia** (maître de conférence A) de nous faire l'honneur de présider le jury de ce mémoire.*

*Merci **Mme Ouahchia** (maître de conférence B) pour le temps que vous avez consacré à lire et examiner notre mémoire.*

*Nous voudrions remercier plus particulièrement **Mr Gouguam Reda** Médecin assistant principale spécialiste en parasitologie pour son aide précieuse d'EPH FARES YAHIA de Kolea-Tipaza pour son aide précieuse et ses valeureux conseils.*

*Nous remercions très chaleureusement **Mr Chouaib Yahiaoui** pour tous les efforts fournis durant pendant la réalisation de ce travail.*

*Nous tenons également à remercier tout le personnel du laboratoire central de bactériologie d'EPH FARES YAHIA de Kolea-Tipaza : **Mr.Zaibek Toufik** , **Mm Malika** ,*

Mme LALAOUI, Mr Aouni Dj Et , Nous tenons aussi à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à ABIDI Mohamed et CHIKH Sidali pour accomplir ce travail et dépasser toutes les difficultés.

Nous remercions infiniment la famille yadel pour la récolte et Dr. Ziani Borhane Eddine Cherif pour sa disponibilité, son aide dans l'extraction d'Huile essentielle au niveau du centre de la recherche scientifique de Bou Ismail CRAPC.

Nos vifs remerciements vont pour Toute l'équipe du Jardin d'Essai du Hamma d'Alger pour l'identification de l'espèce l' Origanum vulgare L.

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.

Dédicace

À mes chers parents...

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération
Pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être. Je vous
Remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère
Que votre bénédiction m'accompagne toujours.

A mes chers et adorables frères

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous
Protège et vous garde.

À mes chers oncles, tantes, leurs époux et épouses à mes chers cousins cousines
veuillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection
La plus sincère.

À ma chère binôme soumia et mes amis de toujours

Feriele, Nour el houda,

Aya, Mouhamed ,sid ali et toute

La promo de Microbiologie ... En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des
Moments agréables que nous avons passés ensemble. veuillez trouver dans ce travail
L'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

À toutes les personnes qui ont participé à l'élaboration de ce travail à tous ceux que j'ai
omis de citer

Yousra

Avec l'aide de Dieu le tout puissant est achevé ce modeste travail que je dédie :

A mes très chers parents

*A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur; maman
que j'adore.*

*Aux deux personnes qui me sont les plus chers au monde, mes très chers parents
mon adorable mère Zohra et mon cher père Mohamed, qui ont beaucoup sacrifié,
qui m'ont soutenue jusqu'à la fin de mes études et qui n'ont jamais cessé de
m'encourager et me pousser de l'avant. A la source duquel j'ai toujours puisé courage,
confiance et persévérance. J'espère que j'ai été à la hauteur de vos espérances.*

A mon cher frère abderahmane

A mes chères sœurs Zahida , khadidja ,ikram.

A ma grande mère cherifa

A ma famille de grands jusqu' aux petits

*A ma binôme, ma meilleure amie et ma sœur YOUSRA, qui m'a assisté dans les
moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser les moments de
joie ou de désespoir, je te suis très reconnaissante, je t'aime yousra .*

*Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé (Mouhamed ,sid ali, anissa ,
kawther , nozha , hadjer, meriem , lakhder Mezaourou).*

Sans oublier mes braves Amies de la promotion de Microbiologie Master II.

*Tous mes camarades de promotion : pour les moments inoubliables passés ensemble (
Farah , hanane , warda)*

Soumia

Résumé

L'objectif de notre étude est d'évaluer l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* récoltée dans la région de l'Aissaoui (Médéa, Algérie), sur les bactéries multi résistantes (BMR) isolées et identifiées à partir des prélèvements urinaires et purulentes provenant des malade hospitalisé et externe .

Sur l'ensemble des 733 échantillons d'urine analysés, 98 cas d'ECBU étaient positifs traduisant une infection urinaire avec un taux de 13.4%. Le profil bactériologique des IU est dominé par les entérobactéries avec un taux 93,87% dont *E. coli* en chef de file avec une fréquence de 58.16% suivie par *K. pneumonia* (13.27%), et *K. oxytoca* (9.18%). Un total de 66 de prélèvements purulents ont été examinés dont 44 étaient positifs (66.7%). Le profil bactériologique des infections purulentes est dominé par les entérobactéries avec un taux de 42,11%, suivis par les staphylocoques avec un taux de 22,81%, puis les *Pseudomonas* avec un taux de 21,05%. Le profil d'antibiorésistance a permis de mettre en évidence plusieurs BMR dont des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE), des BGNNF producteurs de carbapénèmase et des *Staphylococcus aureus* résistante a la méticiline (SARM).

D'après les résultats du screening antibactérien, plusieurs BMR responsables des infections urinaires et purulentes se sont avérées sensibles vis-à-vis l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare*, avec des diamètres de zone d'inhibition (DZI) variant entre 08 et 30 mm pour une quantité d'HE de l'origan extrait par hydrodistillation de 10 μ L/disque et entre 07 et 30 mm avec les disques imprégnés de 10 μ L d'HE d'origan commercial Zeitipharm. *Pseudomonas aeruginosa* était la seule souche résistante. Nos résultats ont révélé que les souches BMR testées ont eu des CMI variant entre 0,19 et 1,56 μ l/ml et des CMB variant entre 0,19 et 6,25 μ l/ml.

En conclusion, la prescription à grande échelle et parfois inappropriée des antibiotiques a entraînée la sélection des souches résistantes, d'où l'intérêt d'orienter les recherches vers les plantes médicinales ayant une activité biologique potentielle.

Mots-clés : Infections urinaires ; Infections purulentes ; Bactéries muti-résistantes ; AntibioGramme ; Huile essentielle ; *Origanum vulgare*.

Abstract

The objective of our study is to evaluate the antibacterial effect of *Origanum vulgare* essential oil harvested in the Aissaoui region (Medea, Algeria), on multi-resistant bacteria (MRB) isolated and identified from urine samples and purulent from inpatients and outpatients.

Of the 733 urine samples analyzed, 98 cases of UTI were positive, with a rate of 13.4%. The bacteriological profile of UTIs was dominated by Enterobacteriaceae with a rate of 93.87%, with *E. coli* as the leader with a frequency of 58.16%, followed by *K. pneumonia* (13.27%), and *K. oxytoca* (9.18%). A total of 66 purulent specimens were examined of which 44 were positive (66.7%). The bacteriological profile of purulent infections was dominated by enterobacteria with a rate of 42.11%, followed by staphylococci with a rate of 22.81%, and *Pseudomonas* with a rate of 21.05%. The antibiotic resistance profile revealed several MRBs, including extended-spectrum β -lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae, carbapenemase-producing NGBNFs and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

According to the results of the antibacterial screening, several BMR responsible for urinary and purulent infections were found to be susceptible to *Origanum vulgare* essential oil, with zone of inhibition diameters (ZIDs) ranging from 08 to 30 mm for a quantity of oregano EO extracted by hydrodistillation of 10 μ L/disc and from 07 to 30 mm with discs impregnated with 10 μ L of ZeitiPharm commercial oregano EO. *Pseudomonas aeruginosa* was the only resistant strain. Our results revealed that the BMR strains tested had MICs ranging from 0.19 to 1.56 μ l/ml and BMCs ranging from 0.19 to 6.25 μ l/ml.

In conclusion, the large-scale and sometimes inappropriate prescription of antibiotics has led to the selection of resistant strains, hence the interest in directing research towards medicinal plants with potential biological activity.

Keywords: Urinary tract infections; Purulent infections; Multidrug-resistant bacteria; Antibiogram; Essential oil; *Origanum vulgare*.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري لنبته الزعتر (*Origanum vulgare*) الذي تم حصاده في منطقة العيساوي (المدية، الجزائر)، على البكتيريا المقاومة المتعددة (MRB) المعزولة والمحددة من عينات البول والصدید من المرضى الداخليين والخارجيين. من بين 733 عينة بول تم تحليلها، كانت 98 حالة من حالات التهاب المسالك البولية إيجابية بنسبة 13.4٪. سيطرت البكتيريا المعوية على الشكل البكتريولوجي لعدوى المسالك البولية بنسبة 93.87٪، حيث احتلت *E. COLI* المرتبة الأولى بنسبة 58.16٪، تليها بكتيريا *K. pneumonia* (13.27٪)، ثم *K. oxytoca* (9.18٪). (تم فحص مجموعه 66 عينة قياسية منها 44 كانت موجبة (66.7٪). سيطرت البكتيريا المعوية (enterobacteries) على الملامح البكتريولوجية للعدوى القياسية بنسبة 42.11٪، تليها المكورات العنقودية *staphylococques* بنسبة 22.81٪، ثم الزائفة *Pseudomonas* بنسبة 21.05٪. كشف ملف مقاومة المضادات الحيوية عن العديد من البكتيريا المقاومة المتعددة (MRB)، بما في ذلك *entérobactéries* الذي ينتج β -lactamase الطيف الممتد (ESBL)، *BGNFs* المنتجة للكاربابينيماز و *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين (MRSA).

وفقاً لنتائج الفحص المضاد للبكتيريا، وجد أن العديد من BMR المسؤولة عن التهابات المسالك البولية والقحية حساسة لزيت *Origanum vulgare* الأساسي، مع منطقة أقطار تثبيط (ZIDs) تتراوح من 08 إلى 30 مم لكمية من *Origanum vulgare* المستخرج بواسطة التقطير المائي لـ 10 ميكرو لتر / قرص ومن 07 إلى 30 مم بأقراص مشربة بـ 10 ميكرو لتر من زيت *Origanum vulgare* التجاري Zeitipharm. كانت *Pseudomonas aeruginosa* هي السلالة المقاومة الوحيدة.

أوضحت نتائجنا أن سلالات BMR المختبرة تحتوي على MICs تتراوح بين 0.19 و 1.56 ميكرو لتر / مل و CMBs تتراوح بين 0.19 و 6.25 ميكرو لتر / مل.

في الختام، أدى وصف المضادات الحيوية على نطاق واسع وغير مناسب في بعض الأحيان إلى اختيار السلالات المقاومة، ومن ثم الاهتمام بتوجيه البحث نحو النباتات الطبية ذات النشاط البيولوجي المحتمل.

الكلمات المفتاحية: التهابات المسالك البولية. التهابات قحية. البكتيريا المقاومة. أنتيبايوجرام. زيت أساسي؛ أوريجانوم فولغار.

Liste Abréviation

ATB: Antibiotique.

AS: Aérobie Stricte.

ADH : Arginine dihydrolase.

AAF: Aérobie Anaérobie Facultatif.

ATCC: American Type Culture Collection.

AMC : d'amoxicilline + acide clavulanique.

AFNOR : Association française de normalisation.

AMX : Amoxicilline.

AZT : aztréoname.

BMR: Bactérie multi résistante.

BGT: bouillon gélosés tamponné.

BHIB: bouillon cœur cerveau.

BLSE : bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).

BGN : les bacilles à Gram négatif.

BGP: Bacille à Gram positif.

BGNF : Bacilles à Gram négatif non fermentants.

CRAPC : Le centre de recherche scientifique et technique en analyse Physico-chimique .

CIT: Citrate de Simmons.

CA-SFM: Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie .

CLSI: Clinical Laboratory Standards Institute.

C3G : céphalosporines 3 ème génération Cefotaxime .

C1G : céphalosporines de 1 ère génération.

CTX : Cefotaxime.

CMI : Concentration minimale inhibitrice.

CMB : Concentration minimale bactéricide.

CTR : Ceftriaxone.

CZ : Cefazoline.

CIP: ciprofloxacine.

Caz : ceftazidime.

CL : colistine.

DZI : diamètres de zone d'inhibition.

EPH : Establishment Public Hospitalier.

ECBU : examen cytobactériologique des urines.

ERV :Entérocoque résistant à la vancomycine .

E : érythromycine.

F : Furanés.

FC :acide fusidique .

FOX: céfoxitine.

GCC: Gélose au sang cuit.

GCF: Gélose au sang frais.

GEL: Gélatinase.

GC-MS : La chromatographie en phase gazeuse couplée a la spectrométrie de masse.

GEN : Gentamicine.

HE: Huile essentielle .

HK : Hektoen.

IU : Infection urinaire .

IPM : l'imipénème.

I: intermediaire.

K : kanamycine .

LDC: Lysine décarboxylase.

L : lincomycine.

LE : lévofloxacine.

M : masse .

MH : (Muller-Hinton).

MLS : Les macrolides, lincosamides et streptogramines

NCBI-Taxonomy : National Center for Biotechnology Information (NCBI).

NET : nétilmicine.

O. vulgare: Origanum vulgare.

ONPG: O-Nitrophenyl-β-D-galactopyranoside.

ODC: Omithine décarboxylase.

OF: ofloxacine.

OXA : oxacilline.

pH : potentiel Hydrogène.

PLP : Protéines de Liaison aux Pénicillines

PIP : pipéracilline

RM: Rouge de méthyle.

R: résistant

RHE :rendement en huile essentielle

RP:pristamycine.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline

SXT : Cotrimoxazole / sulfaméthoxazole.

S: Sensible

TSI: Triple Sugar Iron.

TDA: tryptophane désaminase

TIC : ticarcylin

TCC : Tic + acide clavunonique

TOB :Tobramycine

Van : vancomycine

URE : Urée.

UFC :unité formant colonie

Liste des figures

Figure 1: Illustration de l'aspect morphologique de l' <i>Origanum vulgare</i> (images.google.fr)	2
Figure 2: Principaux composés des huiles essentielles.....	6
Figure 3: Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Virginie, 2010).....	11
Figure 4: Plante aromatique <i>Origanum vulgare</i> utilisée pour l'extraction d'huile essentielle (Photo originale) .	13
Figure 5: Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU.....	14
Figure 6: Différentes étapes microscopique sur la cellule de Malassez (Originale)	16
Figure 7: Technique d'ensemencement des urines (originale)	17
Figure 8: Démarche de l'examen cytot bactériologique de pus (Originale)	18
Figure 9: Principe et résultat de la méthode d'isolement en quadrant.	20
Figure 10: Principales étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif	22
Figure 11: Etapes de l'antibiogramme (Originale).....	32
Figure 12: Teste de synergie (Bouchon de champagne) (Originale).....	33
Figure 13: Schéma de détection de BLSE par le test du double disque	34
Figure 14: Partie de la plante séchée utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle (Originale).....	35
Figure 15: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger (Originale)	36
Figure 16: Taux de prévalence de l'infection urinaire	42
Figure 17: Répartition des cas d'IU selon le sexe.....	43
Figure 18: Répartition des cas d'IU selon l'âge.....	44
Figure 19: Répartition des cas d'IU selon le service	44
Figure 20: Différents aspects macroscopiques de l'urine (Photo originale).....	45
Figure 21: a : Bacille à Gram positif (BGP), b : Bacille à Gram négatif (BGN),.....	48
Figure 22: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon la coloration de Gram.....	49
Figure 23: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon le groupe bactérien.....	50
Figure 24: Profil d'antibiorésistance d' <i>Escherichia coli</i> isolées d'ECBU	52
Figure 25: Profil d'antibiorésistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées d'ECBU	52
Figure 26: Profil d'antibiorésistance de <i>Klebsiella oxytoca</i> isolées d'ECBU	53
Figure 27: Profil d'antibiorésistance de <i>Proteus mirabilis</i> isolées d'ECBU	53
Figure 28: Profil d'antibiorésistance d' <i>Enterobacter sp</i> isolées d'ECBU	54
Figure 29: Répartition des prélèvements purulents selon les résultats de cultures	55
Figure 30: Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe	56
Figure 31: Répartition des prélèvements purulents selon l'âge.....	57

Figure 32: Répartition des prélèvements purulents selon le service.....	58
Figure 33: Répartition des prélèvements purulents selon le type de culture.....	58
Figure 34: Répartition des isolats bactériens de pus selon la coloration de Gram.....	59
Figure 35: Répartition des bactéries isolées des prélèvements purulents selon le groupe bactérien.....	60
Figure 36: Profil d'antibiorésistance de <i>S. aureus</i> isolés de pus.....	62
Figure 37: Profil d'antibiorésistance de <i>Klebsella pneumoniae</i> isolées de pus	63
Figure 38: Profil d'antibiorésistance de <i>Proteus mirabilis</i> isolées de pus.....	63
Figure 39: Profil d'antibiorésistance d' <i>Escherichia coli</i> isolées de pus.....	64
Figure 40: Profil d'antibiorésistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolées de pus	65
Figure 41: Profil d'antibiorésistance des souches d'EBLSE.....	68
Figure 42: Production de BLSE chez les Enterobactériaceae.	68
Figure 43: Profil d'antibiorésistance des BGNNF producteurs de carbapénèmase.....	69
Figure 44: Taux des SARM et leur profil d'antibiorésistance.	70
Figure 45: Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> (Photo originale)	71

Liste des tableaux

Tableau 1: Classification botanique l' <i>Origanum vulgare</i>	3
Tableau 2: Principales étapes de la coloration de Gram	21
Tableau 3: Tests d'identification biochimiques des souches	23
Tableau 4: Échelle d'estimation de l'activité antibactérienne	39
Tableau 5: Les différents éléments cellulaires des urines	46
Tableau 6: Interprétation de résultat de l'ECBU	47
Tableau 7: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon l'espèce bactérienne	50
Tableau 8: Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.	61
Tableau 9: Répartition des bactéries multi-résistantes des les prélèvements urinaires et purulentes	67
Tableau 10: caractéristiques organoleptiques de HE d' <i>Origanum vulgare</i>	72
Tableau 11: Composition chimique de l'HE d' <i>Origanum vulgare</i> identifiée par CG/SM	73
Tableau 12: Screening antibactérien de l'huile essentielle d' <i>O. vulgare</i> in vitro	74
Tableau 13: Résultats de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI/CMB)	79

Table des matières

Résumé

Abstract

ملخص

Liste Abréviation

Liste des figures

Liste des tableaux

Table des matières

Introduction

I. INTRODUCTION	1
Chapitre I : Synthèse bibliographique	
I. Monographie de la plante étudiée : l'Origan (<i>Origanum vulgare</i> L.)	2
I.1. Description botanique	2
I.2. Dénomination	2
I.3. Position systématique	3
I.4. Habitat et répartition géographique	3
I.5. Bienfaits et vertus thérapeutiques de la plante	4
I.6. Huile essentielle de l' <i>Origanum vulgare</i>	4
I.6.1. Définition	4
I.6.2. Composition chimique	5
I.6.3. Caractéristiques physico-chimiques	6
I.6.4. Activités biologiques de l'huile essentielle de l' <i>Origanum vulgare</i>	6
I.6.5. Toxicité de l'Huile essentielle de l' <i>Origanum vulgare</i>	7
II. Infections urinaires et purulentes	8
II.1. Généralités sur les infections urinaires	8
II.1.1. Définition	8
II.1.2. Différents types d'infections urinaires	8
II.1.3. Modes de contamination	9
II.2. Généralités sur les infections purulentes	9
II.2.1. Définition	9
II.2.2. Modes de contamination	9
III. Antibiorésistance	10
III.1. Définition	10
III.2. Types de résistance	10
III.3. Mécanismes de la résistance	10

Chapitre II : Matériel et méthode -----

Erreur ! Signet non défini.

I.	I. Matériel -----	12
	I.1. Matériel biologique -----	12
	I.1.1. Prélèvements cliniques-----	12
	I.1.2. Matériel végétal -----	13
	I.2. Matériel non biologique -----	13
II.	Méthodes -----	13
	II.1. Examen cyto bactériologique des urines -----	13
	II.1.1. Examen macroscopique-----	15
	II.1.2. Examen Microscopique -----	15
	II.1.3. Examen bactériologique (Mise en culture) -----	16
	II.2. Examen cyto bactériologique de pus -----	18
	II.2.1. Examen macroscopique-----	18
	II.2.2. Mise en culture-----	18
	II.3. Identification des souches bactériennes -----	20
	II.3.1. Etude des caractères morphologiques -----	20
	II.3.2. Recherche des caractères biochimiques -----	23
	II.4. Teste de sensibilité aux antibiotiques -----	30
	II.4.1. Antibiogramme-----	30
	II.4.2. Tests complémentaires-----	33
	II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan -----	34
	II.5.1. Séchage du matériel végétal -----	34
	II.5.2. Extraction de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> -----	35
	II.5.3. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle -----	37
	II.5.4. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d' <i>Origanum vulgare</i> -----	37
	II.5.5. Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives) -----	38
	II.5.6. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan-----	38
	II.5.6.1. Méthode de l'aromatogramme (diffusion en milieu gélosé ou Méthode de disque) -----	39

Chapitre III : Résultats et discussion

I.	Caractéristiques des patients atteints d'infection urinaire -----	42
	I.1. Répartition des cas d'infection urinaire selon le sexe -----	42
	I.2. Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge -----	43
	I.3. Répartition des cas d'infection urinaire selon le service -----	44
	I.4. Résultats de l'examen cyto bactériologique des urines -----	45
	I.4.1. Aspect macroscopique des urines -----	45

I.4.2. Examen microscopique -----	46
I.4.3. Examen microbiologique -----	47
I.4.4. Profil bactériologique des infections urinaires -----	49
I.4.5. Etude de la sensibilité des bactéries isolées d’ECBU aux antibiotiques -----	51
II. Caractéristiques des patients atteints d’infection purulente -----	55
II.1. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe -----	56
II.2. Répartition des prélèvements purulents positifs selon l’âge -----	56
II.3. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le service -----	57
II.4. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le type de culture -----	58
II.5. Profil bactériologique des infections purulentes -----	59
II.5.1. Répartition des bactéries isolées de pus selon la coloration de Gram -----	59
II.5.2. Répartition des bactéries isolées de pus selon le groupe bactérien -----	60
II.5.3. Répartition des bactéries isolées selon l’espèce bactérienne -----	60
II.6. Profil de résistance des souches isolées de prélèvements purulents -----	62
II.6. 1 Profil de résistance des <i>Staphylococcus</i> -----	62
II.6.2. Profil de résistance des Entérobactéries -----	62
II.6.3. Profil de résistance des BGNNF -----	64
III. Répartition des bactéries multi-résistantes (BMR) dans les prélèvements urinaires et purulentes ---	67
III.1. Profil d’antibiorésistance des souches d’entérobactéries BLSE (BLSE) -----	68
III.2. Profil d’antibiorésistance des BGNNF producteurs de carbapénèmase -----	68
III.3. Taux de <i>S. aureus</i> résistant à la méticilline (SARM) et leur profil d’antibiorésistance -----	69
IV. Résultats de l’extraction de l’huile essentielle de l’origan -----	70
IV.1. Rendement en huile essentielle -----	70
IV.2. Résultats de l’étude analytique de l’huile essentielle -----	71
IV.2.1. Propriétés organoleptiques de l’huile essentielle de l’origan -----	71
IV.2.2. Composition chimique de l’huile essentielle de l’origan -----	72
IV.3. Screening antibactérien de l’huile essentielle de l’origan -----	73
IV.4. Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB) -----	79
CONCLUSION	
CONCLUSION -----	81
Références bibliographiques	
Références bibliographiques -----	83

Introduction

I. INTRODUCTION

Les infections urinaires et purulentes constituent un problème majeur de santé publique et un motif fréquent de consultation et de prescription médicale en pratique courante (**Sujatha et al., 2016 ; Sy A et al., 2021**). De nombreux germes peuvent causer des infections urinaires et purulentes en raison de facteurs de pathogénicité spécifiques à chacun. Ces germes présentent des résistances naturelles et des résistances acquises dues à la pression de sélection de certains antibiotiques largement utilisés (**Larabi et al., 2003**).

Cependant, la résistance aux antibiotiques est un enjeu de santé publique majeur et plus que jamais d'actualité avec la diffusion massive des bactéries multirésistantes (BMR). En effet, au cours de ces deux dernières décennies et suite à l'utilisation intensive ou abusive des antibiotiques, nous assistons à une sélection de souches multi-résistantes. La résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) ne cesse de se renforcer notamment par l'acquisition de bêta lactamases à spectre élargi (BLSE). Alors que ce problème était essentiellement d'ordre hospitalier, la diffusion aujourd'hui à grande échelle dans le domaine communautaire de ce type de résistance laisse augurer une menace pour l'avenir entraînant des choix thérapeutiques de plus en plus limités (**Paloazzi et al., 2015**). De ce fait, diverses stratégies de recherche ont été mises en œuvre afin de garantir dans le futur la disponibilité d'antibiotiques efficaces (**Islam et al., 2008**).

Parmi les sources prometteuses de molécules bioactives, les plantes médicinales. L'origan (*Origanum vulgare*) compte parmi les plantes endémiques les plus répandues du Nord algérien. *O. vulgare* est reconnue dans le monde entier comme herbe aromatisante. Elle est également utilisée en médecine traditionnelle pour ses effets thérapeutiques divers, principalement contre les troubles bronchiques, comme antioxydante et antiseptique, pour traiter les rhumes, les indigestions et les maux d'estomac (**Pezzani et al., 2017**). La plante produit des métabolites secondaires bioactives (polyphénols, tanins...etc.) ; son huile essentielle est riche en dérivés phénoliques tel que le carvacrol et le thymol. Ces deux molécules bioactives sont très connues pour leur grand pouvoir antibactérien (**Bahorun et al., 1996 ; Kempf et al., 2011**).

C'est ainsi que, nous nous sommes intéressés à entreprendre ce travail qui a pour objectif, d'une part, d'isoler et d'identifier les souches bactériennes impliquées dans les infections urinaires et purulentes au niveau de l'hôpital de Kolea et de déterminer leur profil d'antibiorésistance et d'estimer ainsi la prévalence des BMR ; et d'autre part d'évaluer le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* sur les souches BMR isolées.

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Monographie de la plante étudiée : l'Origan (*Origanum vulgare* L.)

I.1. Description botanique

L'*origan vulgaire* est très répandu dans le Tell. D'aspect sec, d'un vert rougeâtre et totalement recouvert d'un fin duvet, l'origan est caractérisé par son arôme agréable et à sa saveur phénolée, épicée et chaude (Dubois et al., 2006).

L'origan est une herbacée à tiges dressées, généralement poilues, quelques fois glabres. Elles portent les feuilles à bord entier ou denté (jusqu'à 30 paires par tige), généralement ovales et à pointe émoussée (Figure 01) ; elles sont poilues ou glabres et portent des glandes sécrétrices sessiles non apparentes (jusqu'à 800 par cm²).

Les fleurs sont groupées en inflorescences ou épis. Chaque fleur est située à l'aisselle d'une bractée ovale, légèrement membraneuse glabre ou quelques fois pubescente, de couleur rouge violacé ou parfois glauque. La bractée est plus longue que le calice de la fleur. À l'intérieur du calice de 2 à 4 mm de longueur, se trouve la corolle (4 à 10 mm de longueur) de couleur rose ou violette (Caillaud, 2013 ; Dubois et al., 2006).

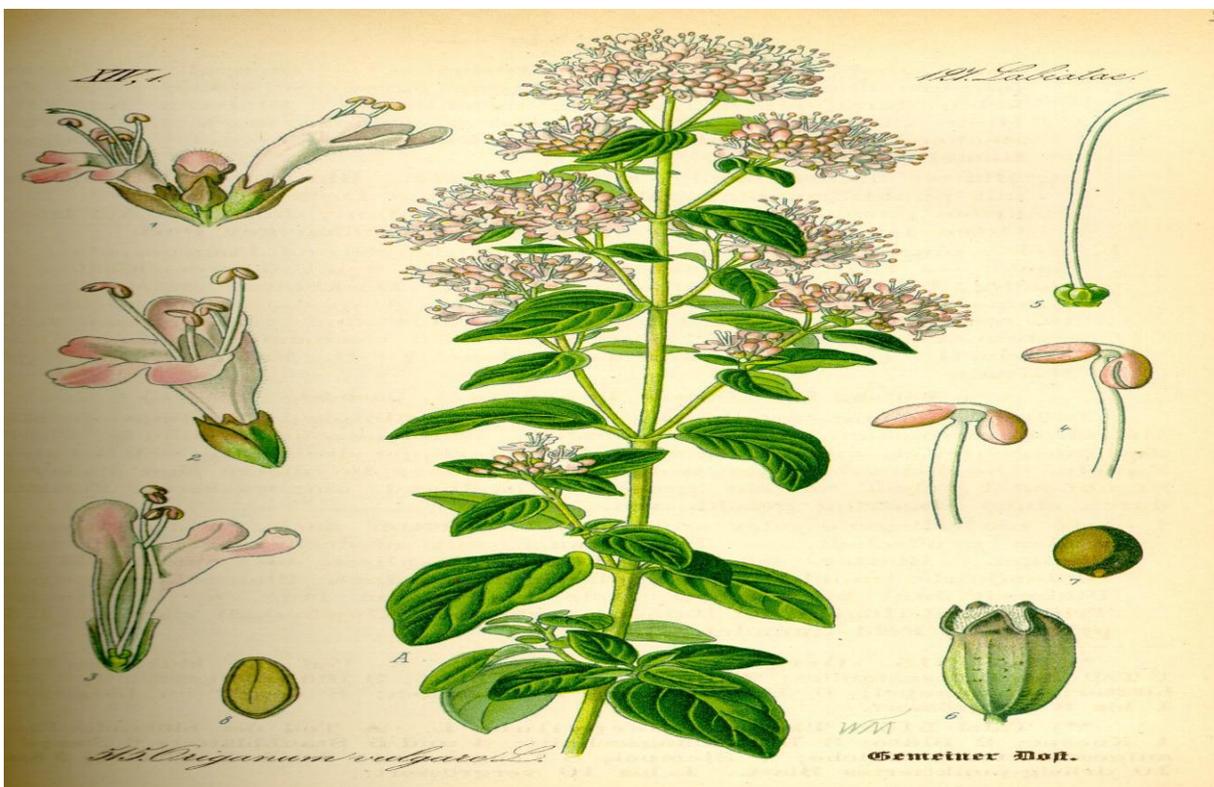


Figure 1: Illustration de l'aspect morphologique de l'*Origanum vulgare* (Bouhaddouda ,2016)

I.2. Dénomination

L'*origanum* vient de 2 mots grecs, "oros" qui veut dire montagne et "ganos" qui signifie éclat ; ce mot signifierait "ornement des montagnes" (Hans, 2007).

Noms communs : origan, origan commun, origan vulgaire, origan vrai, Marjolaine sauvage, Thé rouge.

Nom anglais : Oregano.

Noms vernaculaires : Zaatar, Zaathar (**Lucienne Ali –Delille, 2010**).

Nom kabyle : azze3ter, za3ter

I.3. Position systématique

La systématique de l'*Origanum vulgare* (**Tableau I**) est précisée dans APG IV (2016).

Tableau 1: Classification botanique l'*Origanum vulgare*

Règne	Plantes
Sous règne	Vridaeplantae
Embranchement	Spermaphytes
Sous embranchement	Angiosperme
Classe	Magnolipsida
Sous classe	Astérida
Ordre	Lamiales
Famille	Lamiaceae
Genre	<i>Origanum</i>
Espèce	<i>Origanum vulgare</i>

I.4. Habitat et répartition géographique

L'origan se multiplie par division de touffe au printemps ou éventuellement par semis. Les plantes doivent être espacées de 30 cm. Elle nécessite un sol léger et aéré. L'origan pousse de préférence sur les sols calcaires et chauds (**Dubois et al., 2006**).

La plupart des espèces d'origan sont aromatiques (**Vasudeva et Goel, 2015**) et sont principalement distribués dans les régions Méditerranéenne, Euro-sibérienne et Irano- Sibérienne. Plus de 75% des espèces sont répandues dans les régions méditerranéennes de l'Est (**Bejenaru et al., 2017**). La majorité des espèces se trouvent dans de petites zones, 70% sont endémiques à un pays ou à une montagne par exemple : *O. saccatum*, *O. hypericifolium*, *O. acutidens*, *O. sipyleum*, *O. brevidens*, *O. haussknechtii*, etc.... Ces espèces sont particulières à la Turquie, pays qui est considéré comme le centre génique du genre *Origanum* puisqu'il en possède 16 espèces. Seulement quelques espèces existent dans la partie occidentale de la Méditerranée (**Ietswaart, 1980 ; Figueredo, 2007**).

Le genre *Origanum* est une plante répandue en Algérie et représentée par trois espèces spontanée phylogénétiquement proche : *Origanum majorana* et *Origanum vulgare ssp glandulosum Desf* endémique algérotunisienne et *Origanum floribundum* endémique algérienne (Daoudi-Merbah, 2013).

I.5. Bienfaits et vertus thérapeutiques de la plante

Les espèces d'*Origanum* sont largement connues comme herbes culinaires, pour assaisonner et conserver les produits alimentaires et les boissons alcooliques (Dutra et al., 2019).

L'origan est recommandé en cas de manque d'appétit, d'aérophagie, de bronchite chronique, de toux d'irritation, d'asthme et en cas d'absence de règles. La plante possède aussi une action antalgique et parasiticide ; elle est utile contre la pédiculose, les rhumatismes et la cellulite (Dellile, 2007).

Les préparations à base d'origan sont utilisées en médecine traditionnelle pour traiter diverses maladies en tant que substance antispasmodique, antimicrobienne et expectorante (fluidifiant les sécrétions bronchiques). Elles sont également efficaces contre les troubles digestifs et les problèmes menstruels (Sahin et al., 2004). L'origan est un antitussif, calmant et sédatif. Il est aussi employé, la plupart du temps, comme plante médicinale pour soigner la coqueluche, la toux, la fièvre et la bronchite (Belyagoubi, 2006 ; Bendahou et al., 2008).

I.6. Huile essentielle de l'*Origanum vulgare*

I.6.1. Définition

L'huile essentielle (HE) est un mélange complexe de métabolites secondaires, s'obtient à partir d'une matière première végétale (plante ou arbre aromatique) par entraînement à la vapeur, procédé mécanique ou distillation à sec (Detry, 2016 ; Couic-Marinier, 2018).

Le terme "**essence**" définit les parfums exhalés qui sont des sécrétions naturelles produites par différents organes de la plante. Ces parfums sont dus à la présence de composés volatiles aromatiques dans les cellules végétales.

Le terme "**huile**" désigne le lipophile (c'est-à-dire hydrophobe) et la nature visqueuse de ces substances alors que le terme "**essentiel**" signifie leur préciosité et leur parfum typique de plantes (Ben miri, 2019).

Ce sont des molécules légères qui sont entraînées par la vapeur d'eau lors de la distillation, l'huile se sépare de l'eau du distillat mais une petite partie persiste dans l'eau et lui communique une odeur, on parle alors d'eau aromatique ou l'**hydrolat**.

Il est important de noter que chaque goutte d'hydrolat contient toutes les informations de la plante, et que l'hydrolat est plus riche en principes actifs volatils que l'infusé de la même plante. L'hydrolat a un parfum et un goût plus ou moins prononcé mais beaucoup moins concentré qu'une huile essentielle. Certaines eaux florales

sont d'usage courant en cuisine et en soins externes, comme l'eau de fleurs d'oranger, l'eau de rose et l'eau de bleuet (Baudoux et al., 2006 ; Festy, 2008).

I.6.2. Composition chimique

La majorité des huiles essentielles sont composées de 3 ou 4 molécules majoritaires et de très nombreuses molécules minoritaires. Ces constituants appartiennent, de façon quasi-exclusive, à deux groupes caractérisés par des origines biogénétiques distinctes : le groupe des terpénoïdes d'une part et le groupe des composés aromatiques dérivés du phénylpropane, beaucoup moins fréquents, d'autre part. Actuellement, plus de 3000 constituants ont été isolés à partir des essences (Carson et Hammer, 2011 ; Rhind, 2012).

*** Terpènes et terpénoïdes**

Bien que de structures très diverses, les terpènes ont un caractère commun : ils sont tous formés par la réunion d'unités isopréniques (Figure 2). Une classification rationnelle est basée sur le nombre d'unités isopréniques qu'ils renferment. On définit alors les hémiterpènes (1 unité C5), les monoterpènes (2 unités : C10), les sesquiterpènes (3 unités : C15), les diterpènes (4 unités : C20), les sesterpènes (5 unités : C25), les triterpènes (6 unités : C30), les carotènes (8 unités : C40) et les polyisoprènes (n unités : C5n) (Carson et Hammer, 2011 ; Rhind, 2012).

*** Composés aromatiques**

Si les composés terpéniques sont les constituants majoritaires des huiles essentielles, les molécules aromatiques n'en demeurent pas moins des composés importants, Elle est riche en phénols → carvacrol (jusqu'à 74%) ou thymol (jusqu'à 25%) (Machu, 2009).

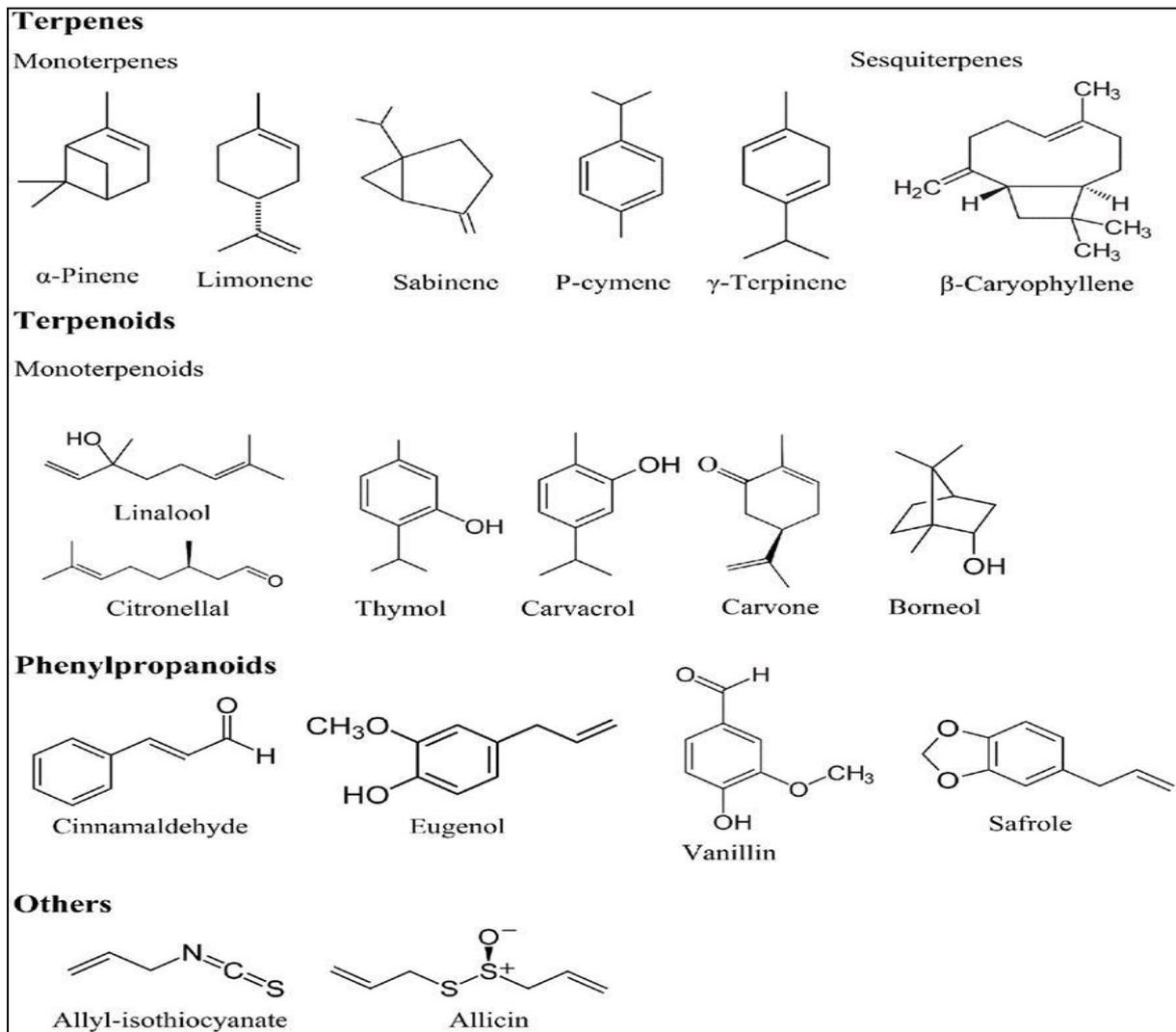


Figure 2: Principaux composés des huiles essentielles

I.6.3. Caractéristiques physico-chimiques

Les huiles essentielles sont liquides à température ambiante, volatiles, et ne sont que très rarement colorées (Abbas et Mouches, 2008). Leur densité est en général inférieure à celle de l'eau (exceptée pour celle du girofle et de cannelle). Elles ont un indice de réfraction élevé et la plupart dévient la lumière polarisée. Elles sont peu solubles dans l'eau, solubles dans les alcools et dans la plupart des solvants organiques et des matières grasses qui lui servent d'excipients (Lobstein, 2013).

I.6.4. Activités biologiques de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare*

II.6.4.1. Activité insecticide

L'huile essentielle d'origan possède un effet larvicide significatif sur les moustiques (Govindarajan et al., 2016) et la teigne des crucifères (Nasr et al., 2017). L'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et ses composés

terpénoïdes ont également montré une activité contre le coléoptère rouge de la farine *Tribolium castaneum* (Kim *et al.*, 2010 ; Licciardello *et al.*, 2013).

II.6.4.2. Activité antioxydant

L'HE de l'origan a une forte activité antioxydante due à la présence d'une quantité considérable de phénols tels que le carvacrol et le thymol. La capacité de piégeage des radicaux d'*O. vulgare* a souvent été évaluée et prouvée en utilisant la méthode du 2,2-diphényl-1-picrylhy-drazil (DPPH) (Moshayedi *et al.* 2013 ; Tusevski *et al.* 2014 ; Nagoor Meeran *et al.*,2017).

II.6.4.3. Activité antimicrobienne

L'HE d'*O. vulgare* possède une activité antimicrobienne intéressante due à sa forte teneur en composés phénoliques monoterpénoïdes, notamment le thymol et le carvacrol (Alekseeva *et al.*, 2020). Récemment, l'HE de *O. vulgare*, en particulier ses constituants phytoactifs carvacrol et thymol, se sont avérés avoir un effet antibactérien, antifongique, antivirale et antiparasitaire (Alekseeva *et al.*, 2020).

D'après Chishti *et al* (2013), le pouvoir antimicrobienn de l'HE d'*O. vulgare* ne sont pas ne peut pas être attribué uniquement aux composants majoritaires, comme le cavacrol et le thymol, mais aussi, aux composants minoritaires polaires qui agissent en synergie.

I.6.5. Toxicité de l'Huile essentielle de l'*Origanum vulgare*

La puissance des huiles essentielles est à l'origine de leur action très efficace sur l'organisme. Cependant, certaines molécules peuvent présenter des risques de toxicité qu'il est important de connaître. L'origine naturelle et végétale des huiles essentielles les font souvent considérer, à tort, comme inoffensives. Les huiles essentielles sont des préparations très concentrées et peuvent provoquer des symptômes d'intoxication en cas de surdosage. Elles sont résorbées par inhalation, ingestion ou contact cutané.

Les huiles essentielles riches en phénols (carvacrol, thymol) et en aldéhydes aromatiques, telles que les espèces du genre *Origanum*, peuvent entraîner des irritations, voir des brûlures sur la peau et plus encore sur les muqueuses.

LHE d'*O. vulgare* est riche en composés phénoliques avec des actions thérapeutiques diverses. Sur la base du potentiel thérapeutique et de l'utilisation clinique de l'HE d'origan, des études de toxicologie *in vivo* ont été menées (Hollenbach *et al.*, 2015 ; Llana-Ruiz-Cabello *et al.*, 2017).

Hollenbach *et ses collaborateurs* (2015) ont montré que l'exposition chronique par voie orale à l'HE d'*O. vulgare* pendant 91 jours a entraîné des effets néfastes chez le rat male en diminuant les niveaux de testostérone sérique, le nombre de spermatozoïdes, le nombre total de spermatozoïdes stockés dans la queue de l'épididyme et en augmentant le pourcentage de malformations de spermatozoïdes dans le groupe des rats traités par rapport au groupe témoin.

Cependant, une autre étude de toxicité chronique récente n'a rapporté aucune activité toxique de l'huile essentielle d'*O. vulgare* (Llana-Ruiz-Cabello *et al.*, 2017). Dans cette étude, 40 rats Wistar mâles et 40 femelles ont été exposés par voie orale à 50, 100 et 200 mg/kg de poids corporel d'HE d'*O. vulgare* pendant 90 jours. Les résultats de cette étude de toxicité *in vivo* n'ont révélé aucune mortalité et aucun effet indésirable lié au traitement par l'HE d'*O. vulgare* sur le poids corporel, l'hématologie, la biochimie, le poids des organes et l'histopathologie. Il a été suggéré ainsi que la dose sans effet nocif observé (NOAEL) de l'huile essentielle d'*O. vulgare* est de 200 mg/kg de poids corporel chez les rats (Llana-Ruiz-Cabello *et al.*, 2017).

II. Infections urinaires et purulentes

II.1. Généralités sur les infections urinaires

II.1.1. Définition

L'infection urinaire (IU) est l'envahissement microbien de l'urine, asymptomatique ou symptomatique avec colonisation et inflammation des structures de l'arbre urinaire. Elle se définit biologiquement par des critères cyto bactériologiques bien précis, fixés par Kass depuis 1956, à savoir :

- Infection monomicrobienne
- Leucocyturie $> 10^3$ leucocytes/ml d'urine ($>10^3$ /mm³ ou champ)
- Bactériurie $> 100^3$ germes/ml d'urine (Pilly, 2015).

Cependant, des numérations de germes à 1000/ml ou 10 000/ml avec des agents uropathogènes peuvent signifier d'authentiques infections lorsque l'échantillon mictionnel est obtenu chez des hommes (paraplégiques non sondés), chez des femmes (cystites), lors d'une diurèse abondante sous traitement antibiotique ou en cas d'identification de germes à croissance relativement lente. Ces critères n'ont de signification que si le prélèvement d'urine a été réalisé dans les conditions conventionnelles, et adressé au laboratoire dans des délais brefs (Jardin, 1986).

L'infection urinaire se traduit cliniquement par des troubles mictionnels, des douleurs suppubiennes, des urines troubles et parfois une hématurie macroscopique en cas d'infection urinaire basse ; une fièvre, des lombalgies, des nausées et parfois des vomissements en cas d'infection urinaire haute (Pilly, 2015).

II.1.2. Différents types d'infections urinaires

Les IU sont divisées en deux grandes catégories anatomiques selon la localisation (ou l'organe infecté). Les infections urinaires peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, prostatite) ou hautes (pyélonéphrite) (François *et al.*, 2013).

II.1.3. Modes de contamination

Les microorganismes atteignent l'appareil urinaire par la voie ascendante qui est la plus fréquente ou par voie descendante (**Ait Miloud, 2011**).

❖ Voie ascendante

Spontanée ou provoquée, elle est due à la migration des germes digestifs du périnée vers la vessie à travers le méat et l'urètre entraînant une colonisation de la vessie allant vers l'appareil urinaire haute (**Roupret et Seisen, 2013**).

❖ Voie descendante

Les autres sources moins fréquentes de contamination sont hématogènes et peuvent être lymphatiques. La voie hématogène survient essentiellement lors d'une septicémie ou une bactériémie et limitée à quelques microorganismes, tels que *S. aureus*, *Candida sp.* et *Mycobacterium tuberculosis* (**Bruyère et al., 2008**).

La voie lymphatique est une voie controversée, elle consiste à la migration des bactéries par voie lymphatique du colon jusqu'aux voies excrétrices urinaires où elles provoqueraient une bactériurie initiale pour se transformer secondairement en infection secondaire véritable (**Bouarrodj et Boutebza, 2015**).

II.2. Généralités sur les infections purulentes

II.2.1. Définition

Le pus est un liquide pathologique, épais et visqueux, constitué de globules blancs, altérés et détruits, de cellules des tissus voisins de la suppuration et souvent de bactéries, vivantes ou mortes. Le pus est un amas produit tout au long de l'inflammation due à une infection bactérienne ou fongique (**Larousse Médicale, 2006 ; Amine et al., 2017**). Sa couleur est faiblement jaunâtre, plus rarement blanchâtre, ou tirant un peu sur le vert. Tant qu'il conserve sa chaleur, il répand une odeur animale particulière, douceâtre et nauséuse ; mais il la perd en se refroidissant. (**Chassaignac, 1859**).

Les infections purulentes impliquent la prolifération bactérienne, l'invasion puis la destruction des tissus de l'hôte, la réponse inflammatoire locale et systémique. On distingue les infections purulentes superficielles (plaies, impétigo..) et profondes (péritonites, abcès intra-abdominaux..) (**Amine et al., 2017**).

II.2.2. Modes de contamination

L'infection peut être d'origine endogène ou exogène :

❖ Origine endogène

Les bactéries proviennent soit de la peau (staphylocoques), soit des tractus respiratoire, digestif, génital et urinaire (contenant naturellement des bactéries Gram négatif et anaérobies).

❖ Origine exogène

Elle est représentée par le personnel et l'environnement. Les bactéries commensales de la flore cutanée ou muqueuse (main, cuir chevelu, périnée) des membres de l'équipe opératoire, les bactéries pathogènes dont ils seraient porteurs sains ou infectés (streptocoque de groupe A) et les bactéries présentes sur les instruments peuvent être à l'origine des infections suppuratives.

III. Antibiorésistance

III.1. Définition

La résistance bactérienne se définit par la capacité d'un micro-organisme à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action empêche ou ralentit normalement sa croissance (**Elliott et al., 2012**).

Les bactéries sont dites multirésistantes (BMR) aux antibiotiques lorsque, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement actifs (**Elliott et al., 2012**).

III.2. Types de résistance

On distingue deux types de résistance :

- **Résistance naturelle** : elle est liée aux caractères génétiques normaux de l'espèce bactérienne (portée par le chromosome bactérien), présente chez toutes les souches d'une même espèce bactérienne (**Denis et al., 2016**).
- **Résistance acquise** : elle atteint quelques souches au sein d'une même espèce bactérienne normalement sensible, elle est portée par des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons) (**Denis et al., 2016**).

III.3. Mécanismes de la résistance

Les mécanismes de résistance bactérienne aux agents antibactériens (Figure 03) peuvent être regroupés en deux types : mécanismes non enzymatiques et mécanismes enzymatiques :

❖ Les mécanismes non enzymatiques

-Diminution de la perméabilité par mutation affectant la structure des porines en diminuant leurs synthèses par lesquelles l'antibiotique ne peut pas pénétrer dans la bactérie (**Lozniewski et Rabaud, 2010**).

-Expulsion rapide de l'agent hors de la cellule avant qu'il puisse agir (**Lee, 2006 ; Jayaraman, 2009**).

- Modification de la cible (camouflage) ; une mutation peut induire une modification de la cible de l'antibiotique utilisé.

❖ Les mécanismes enzymatiques

La destruction ou l'inactivation de l'antibiotique par production d'enzymes. Ce mécanisme est décrit contre les β -lactamines, les aminosides et le chloramphénicol (Peyrou, 2001).

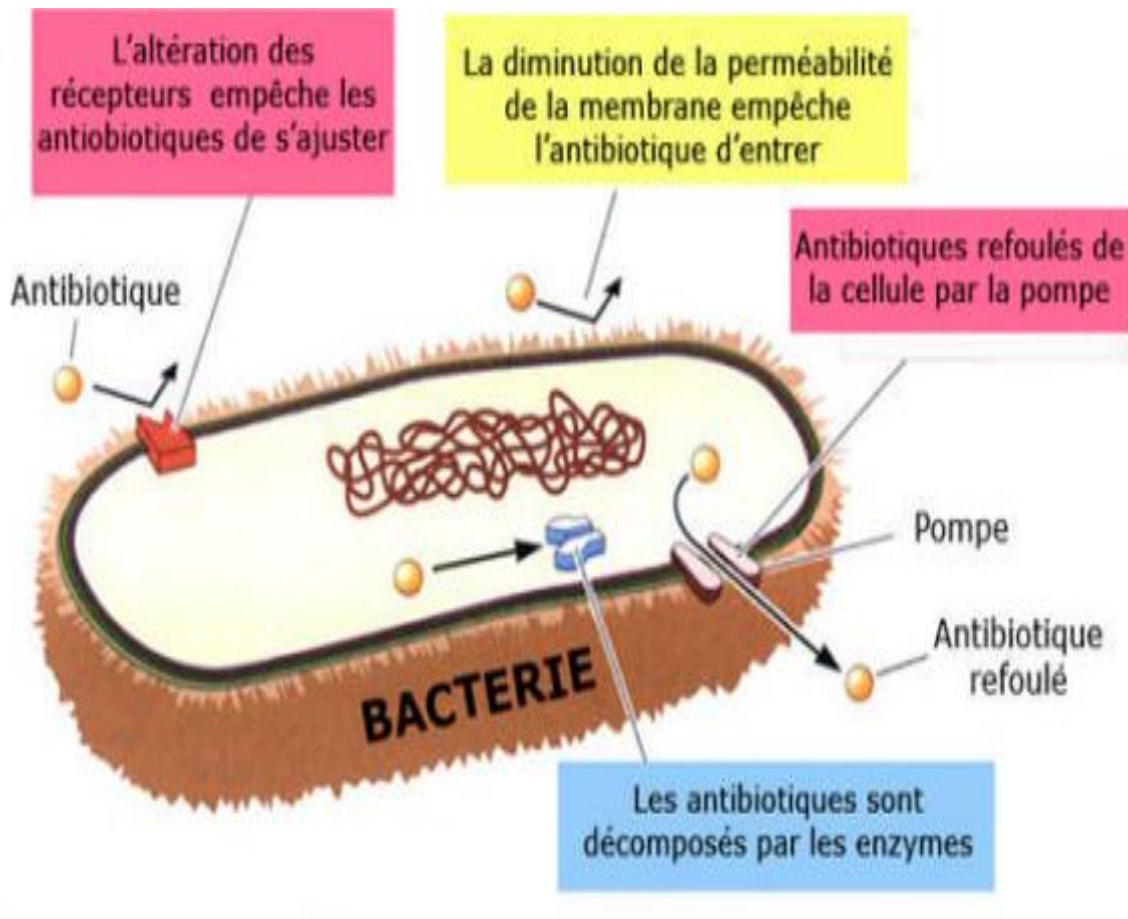


Figure 3: Représentation des mécanismes de résistance aux antibiotiques (Virginie, 2010).

Chapitre II : Matériels et méthodes

Notre étude a été réalisée durant la période allant du 28 Février au 16 Juin 2022, au niveau des laboratoires suivants :

- Laboratoire central d'EPH FARES YAHIA de Kolea-Tipaza dans le but d'isoler, d'identifier et tester la sensibilité des bactéries responsables des infections urinaires et purulentes, ainsi que d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* sur les BMR isolées.
- Le centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) de Bou Ismail où nous avons fait l'extraction de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* ainsi que l'étude de ses propriétés organoleptiques et de sa composition chimique.

I. Matériel

I.1. Matériel biologique

I.1.1. Prélèvements cliniques

Cette étude porte sur les prélèvements d'urines et les prélèvements purulents parvenus au laboratoire central d'EPH de Kolea.

Le prélèvement des urines doit être convenablement effectué et doit être acheminé vers le laboratoire le plus tôt possible. IL est réalisé de préférence sur la première urine du matin. La méthode habituelle recommandée consiste à récupérer de manière aseptique, dans des pots stériles, l'urine de milieu de jet, après un lavage hygiénique des mains et une toilette locale des organes génitaux externes (**Annexe 1**).

Les prélèvements de pus ont été effectués par personnel soignant et acheminés au laboratoire central de l'hôpital. Ces échantillons englobent toutes suppurations qu'elles soient superficielles ou profondes. Selon la localisation de pus, le prélèvement se fait soit par un écouvillon ou bien une seringue stérile (**Annexe 1**).ils doivent être acheminés au laboratoire à une température ambiante dans les deux heures qui suit, en cas d'acheminement de longue durée ils doivent être conservés à 4°C pour les seringues.

Afin d'éviter toute prolifération bactérienne, les urines doivent être acheminées au laboratoire le plus vite possible (pas plus de 2 heures) ou bien sont conservés au réfrigérateur (à + 4°C) jusqu'au transport (**Caquet, 2010**).

Les renseignements qui accompagnent le prélèvement urinaire ou purulent sont indispensables, une fiche de renseignement a été remplie dans laquelle sont mentionnés : Nom et Prénom, Age, Sexe, Service d'hospitalisation, Nature de prélèvement et Antibiothérapie en cours.

I.1.2. Matériel végétal

La plante qui a fait l'objet de notre étude est *Origanum vulgare* connue sous le nom Zaatar, dont on a utilisé les parties aériennes (feuilles et sommités fleuries). La récolte de nos échantillons a été effectuée en Avril 2022 pendant la période de floraison, au niveau de la région de l'Aissaouia (Médéa, Algérie).

Le matériel végétal collecté a été identifié au niveau Jardin d'Essai du Hamma d'Alger comme étant l'*Origanum vulgare* L. Après la récolte et le nettoyage des échantillons, ils ont été laissés sécher à l'ombre dans un endroit sec et aéré (Figure 4).



Figure 4: Plante aromatique *Origanum vulgare* utilisée pour l'extraction d'huile essentielle (Photo originale)

I.2. Matériel non biologique

Nous avons utilisé différents milieux de culture, solides et liquides. Par ailleurs, nous avons aussi utilisé divers appareils, de la verrerie, des réactifs et des disques d'antibiotiques (Annexe 2).

II. Méthodes

II.1. Examen cytobactériologique des urines

L'examen cytobactériologique des urines est l'analyse microbiologique la plus réalisée et permet de rechercher la présence d'une infection urinaire, de déterminer les germes responsables et d'adapter ainsi le

traitement antibiotique (Berthélémy, 2016). Chaque prélèvement urinaire a fait l'objet d'un ECBU de routine comportant les étapes montrées dans le schéma représenté sur la Figure 05.

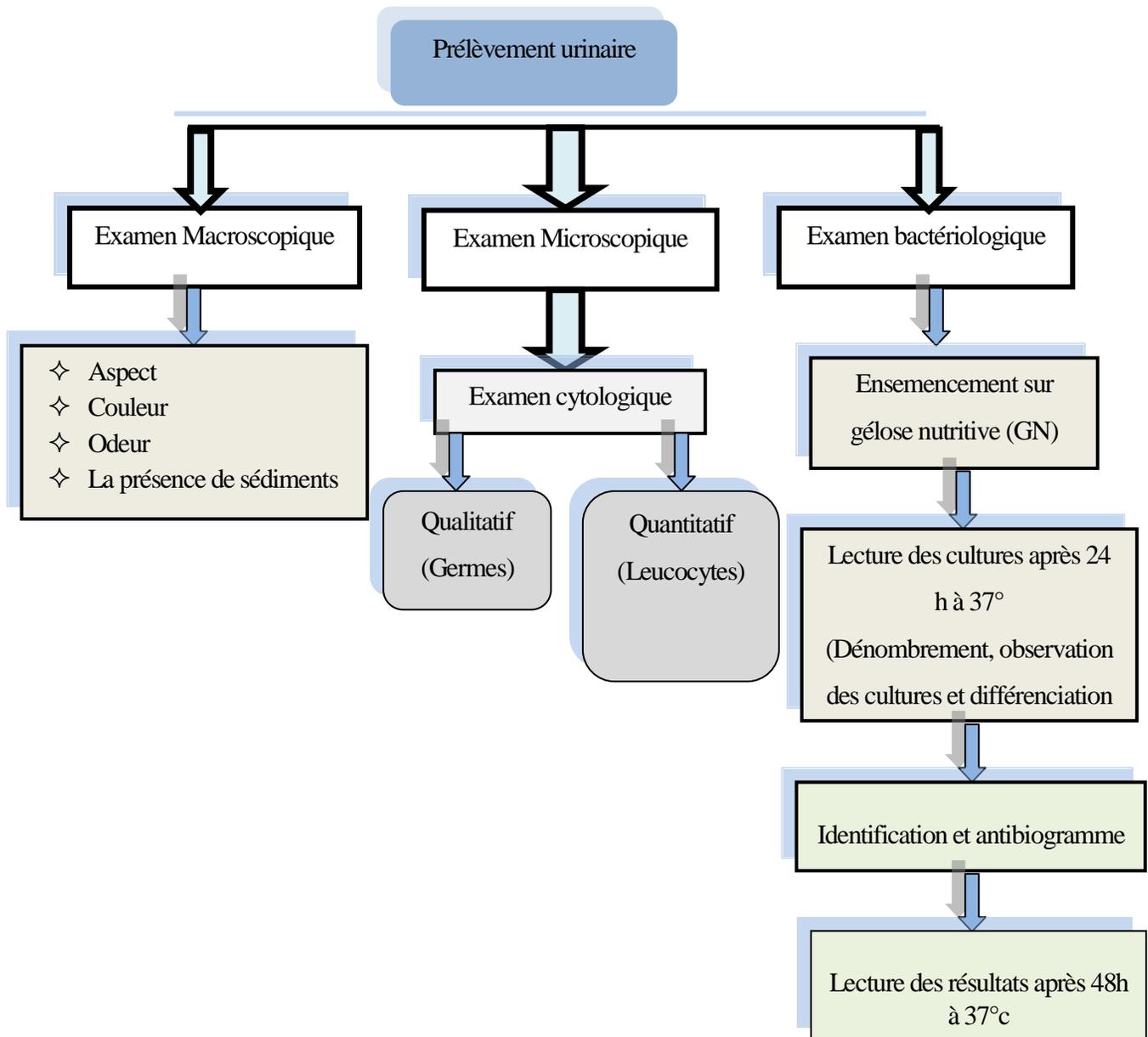


Figure 5: Schéma récapitulatif des différentes étapes de l'ECBU

II.1.1. Examen macroscopique

C'est la première étape de l'ECBU, qui permet d'apprécier la présence de modification des caractères physiques de l'urine, basé sur l'observation à l'œil nu des prélèvements. Il consiste à déterminer les caractères macroscopiques : l'aspect ; la couleur ; l'odeur et la présence ou l'absence de sang. Les urines sont observées après homogénéisation par retournement ou par agitation mécanique.

II.1.2. Examen Microscopique

❖ Examen cytologique

Cet examen doit être effectué dans les deux heures qui suivent le prélèvement afin de limiter l'altération des éléments cellulaires. Il consiste à examiner l'échantillon d'urine au microscope à l'objectif ($\times 40$), après l'homogénéisation ; Il est à la fois qualitatif et quantitatif.

- Analyse qualitative (Description des différents éléments cellulaires)

Elle permet d'observer et d'apprécier les cellules présentes dans l'échantillon essentiellement les leucocytes, les hématies, les germes, les levures, les cristaux et les cellules épithéliales ... etc.

- Analyse quantitative (Numération des éléments cellulaires)

C'est un test de dénombrement des éléments urinaires contenus dans un volume donné de l'urine.

Mode opératoire

Les différentes étapes décrivant le mode opératoire de l'examen quantitatif sont représentées dans la **Figure 06**

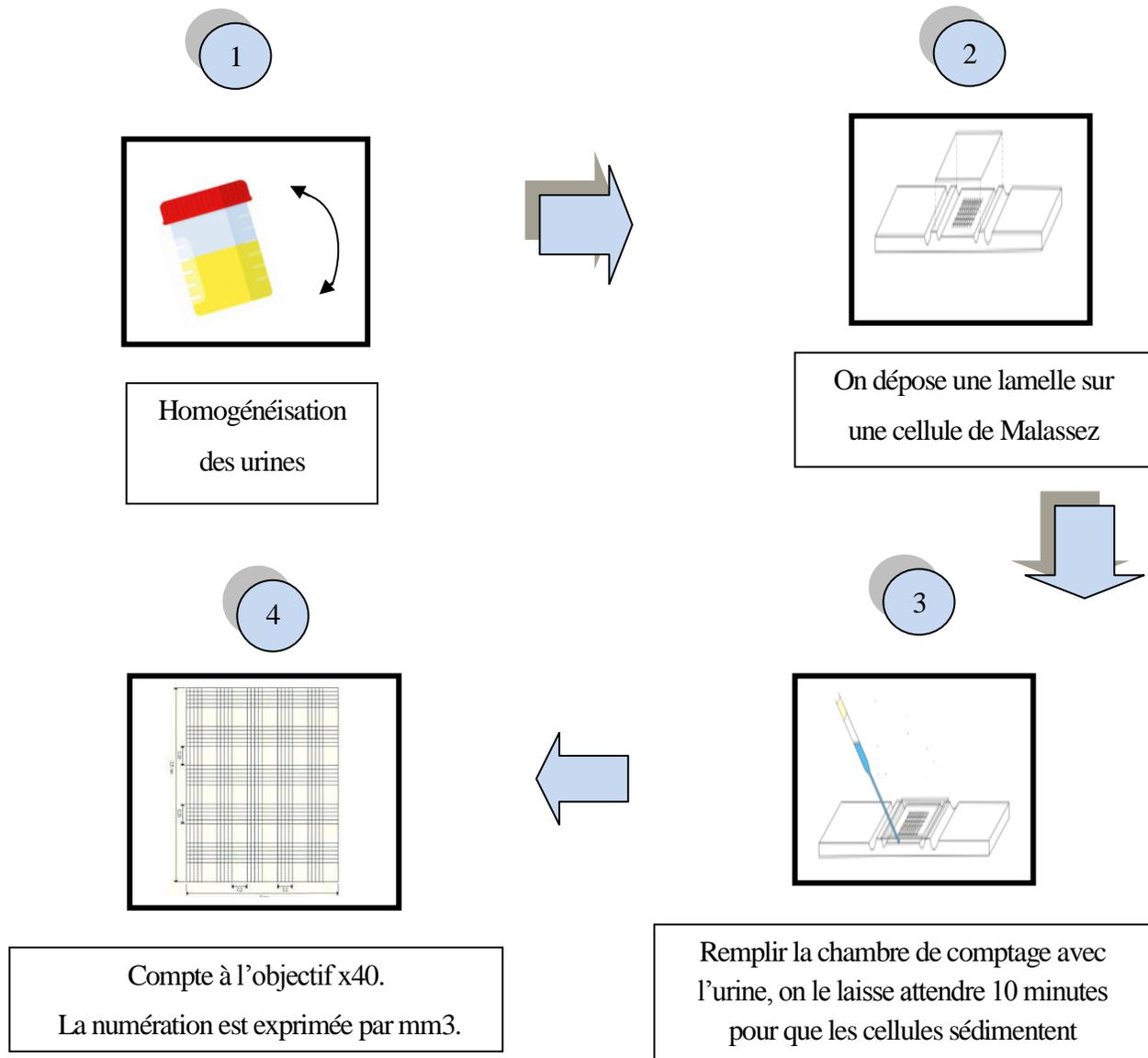


Figure 6: Différentes étapes microscopique sur la cellule de Malassez (Originale)

II.1.3. Examen bactériologique (Mise en culture)

La culture des urines est l'étape clé du diagnostic des infections urinaires. Il permet d'isoler, dénombrer et d'identifier les agents pathogènes responsables de l'infection urinaire.

- **Techniques d'ensemencement (Méthode de KASS Modifiée)**

Description de la technique

Les différentes étapes décrivant le mode opératoire de la méthode de KASS sont représentées dans la Figure 07.

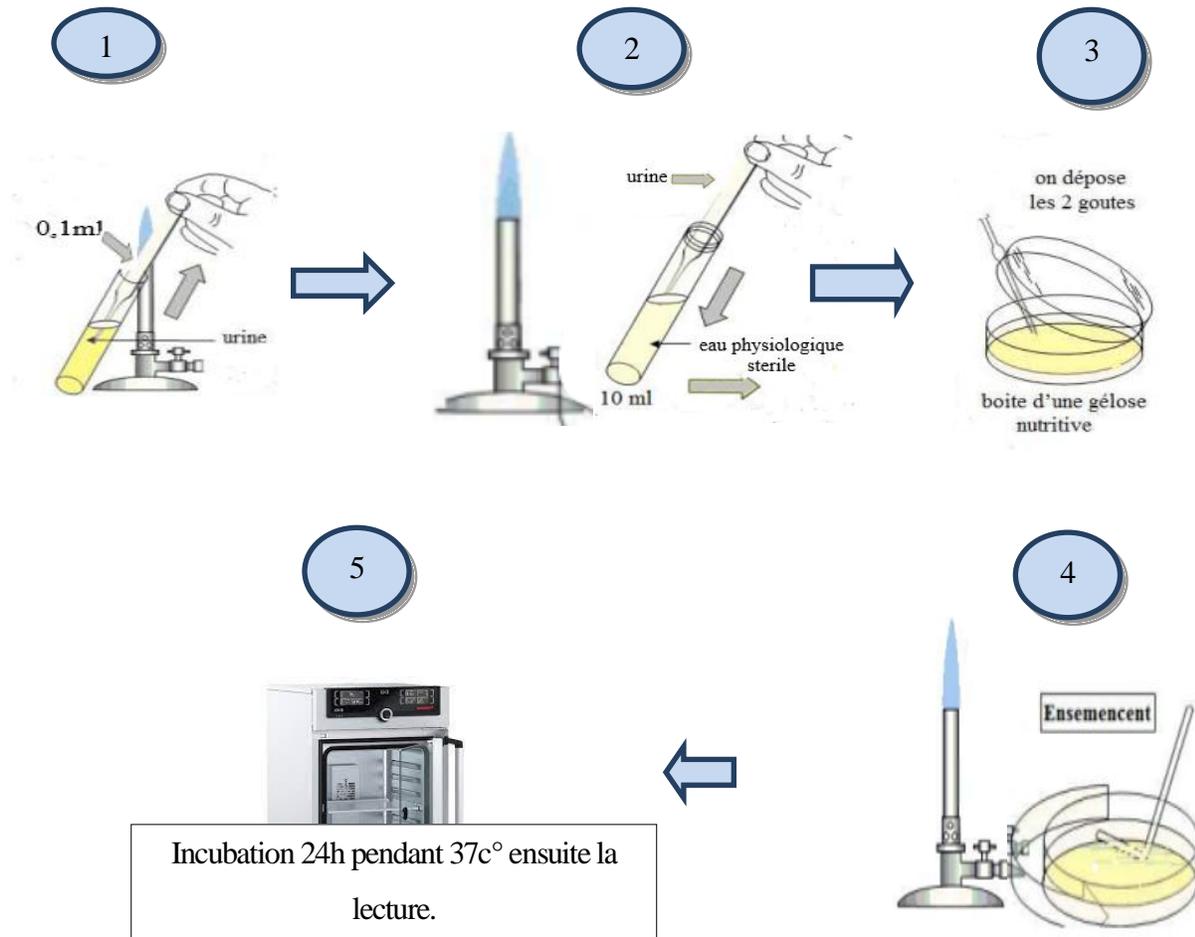


Figure 7: Technique d'ensemencement des urines (originale)

Lecture et Interprétation

La numération se fait selon la formule de Kass : $N = n \cdot 10^2 \cdot 10$ bactérie /ml Où :

n : Nombre de colonie sur la boîte.

10^2 : Inverse de la dilution.

10 : Inverse de l'inoculum.

Nombre de colonie : 1-9 : 10^3 Bact/ml Numération négative

10-99 : 10^4 Bact/ml Numération douteuse

+ 100 : 10^5 Bact/ml Numération positive

II.2. Examen cyto bactériologique de pus

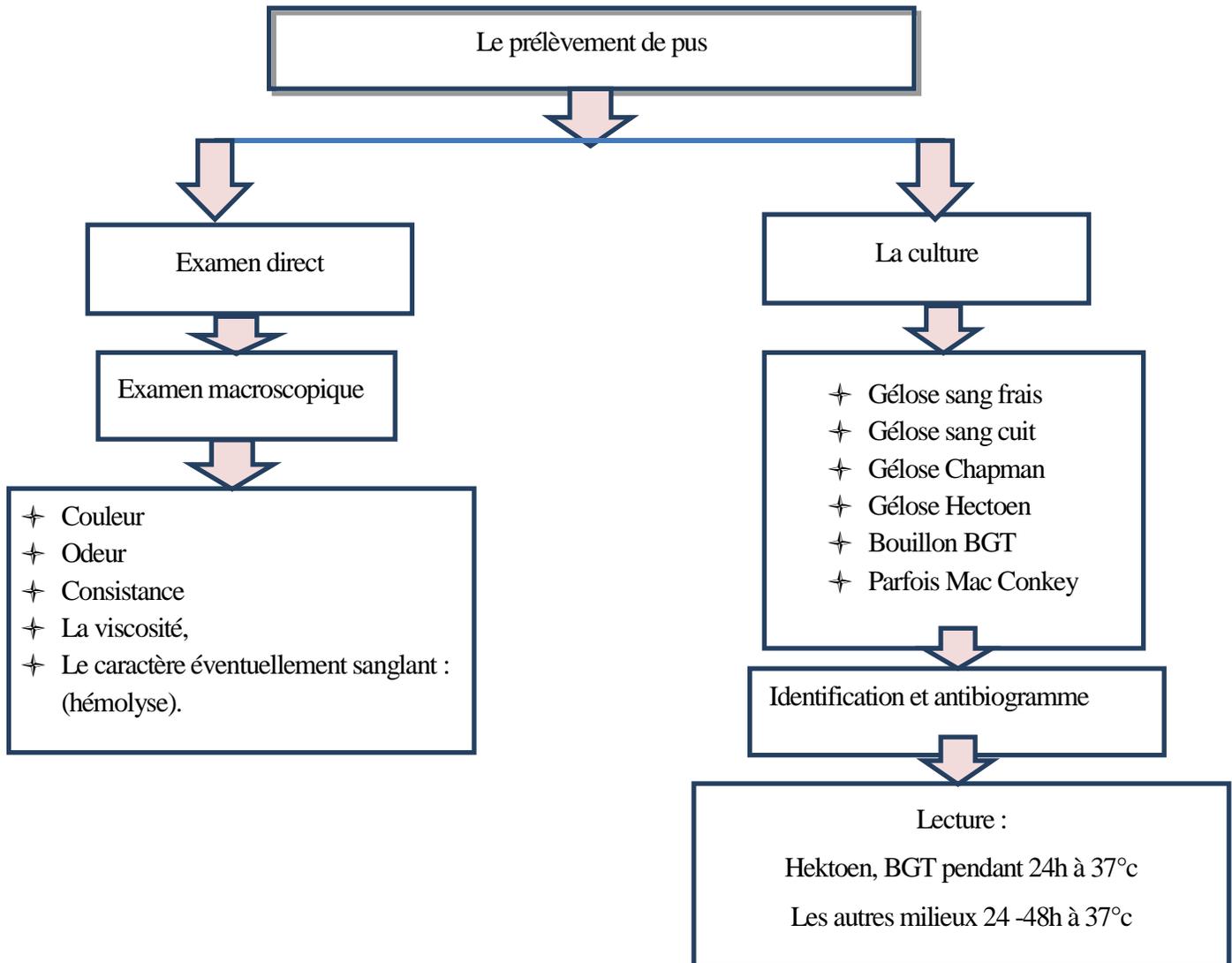


Figure 8: Démarche de l'examen cyto bactériologique de pus (Originale).

II.2.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique de prélèvement purulent repose sur l'observation, à l'œil nu, de la consistance, la couleur, l'odeur ainsi que le caractère éventuellement sanglant (hémolyse) du pus.

II.2.2. Mise en culture

A. Culture sur milieu gélosé

L'isolement est un type d'ensemencement particulier qui vise à obtenir des colonies distinctes et bien séparées les unes des autres. Il se fait toujours sur un milieu solide et peut avoir trois finalités différentes :

- * Séparer les différents types de bactéries présentes dans un prélèvement.
- * Contrôler la pureté d'une souche bactérienne.
- * Étudier l'aspect macroscopique des colonies (taille, forme, couleur...) (Annexe 5).

Du fait de la diversité des bactéries potentiellement impliquées dans les prélèvements de pus, différents milieux de culture seront nécessaires : Gélose au sang cuit (GSC), Gélose au sang frais (GSF), Gélose Hektoen (HK) et Gélose Chapman (Annexe 5).

B. Ensemencement

On utilise 2 écouvillons, les écouvillons reçus sont introduits dans un tube contenant le bouillon d'enrichissement BGT (bouillon gélosés tamponné) ou BHIB (bouillon cœur cerveau), le premier pour la culture et le deuxième pour réensemencer si la culture dans les boîtes d'origine été négative après une incubation de 24h.

Les milieux sont ensemencés par la technique des cadrans :

- ✦ S'il s'agit d'un prélèvement par écouvillon, le premier cadran de la boîte de Pétri est ensemencé par l'écouvillon lui-même et on termine l'ensemencement par une pipette Pasteur.
- ✦ S'il s'agit d'un prélèvement par seringue, on dépose une goutte de pus à la périphérie de la boîte et on ensemence par pipette Pasteur (Figure 9).

Les boîtes sont ensuite incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 h, à l'exception de celles contenant la GSC et GSF, qu'on les met avant dans une jarre avec une bougie (atmosphère enrichie en CO₂) pour favoriser la multiplication des capnophiles. La jarre est placée ensuite dans l'étuve pour laisser incuber les boîtes à 37°C pendant 24 à 48h.

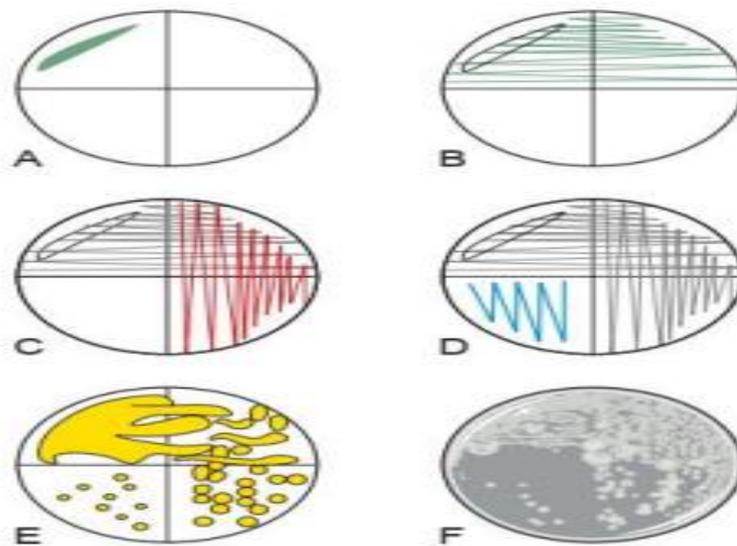


Figure 9: Principe et résultat de la méthode d'isolement en quadrant.

II.3. Identification des souches bactériennes

L'identification bactérienne repose sur l'étude des caractères morphologiques des colonies obtenues, accomplie par l'étude des caractères biochimiques spécifiques à chaque famille de germe.

II.3.1. Etude des caractères morphologiques

➤ Etude macroscopique

L'étude macroscopique des colonies permet d'observer et de décrire plusieurs caractères :

- * La forme : ronde, irrégulière, en étoile, envahissante.
- * Le relief : plat, bombé.
- * Le contour : régulier, irrégulier.
- * La couleur : la pigmentation (blanche, verte, grisâtre fluorescente ..)
- * L'aspect : lisse, rugueuse, muqueuses
- * L'odeur dégagé.

➤ Etude microscopique

Coloration de Gram

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 ...).

✓ **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.

✓ **Technique**

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

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

* **Coloration** :

Tableau 2:Principales étapes de la coloration de Gram

Coloration	Mode opératoire	Temps d'agir
Coloration primaire (Couleur basique)	Recouvrir le frottis par le violet de Gentiane, puis rincer à l'eau	1 min
Mordantage (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	Quelques secondes
Coloration secondaire	Recolorer 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.

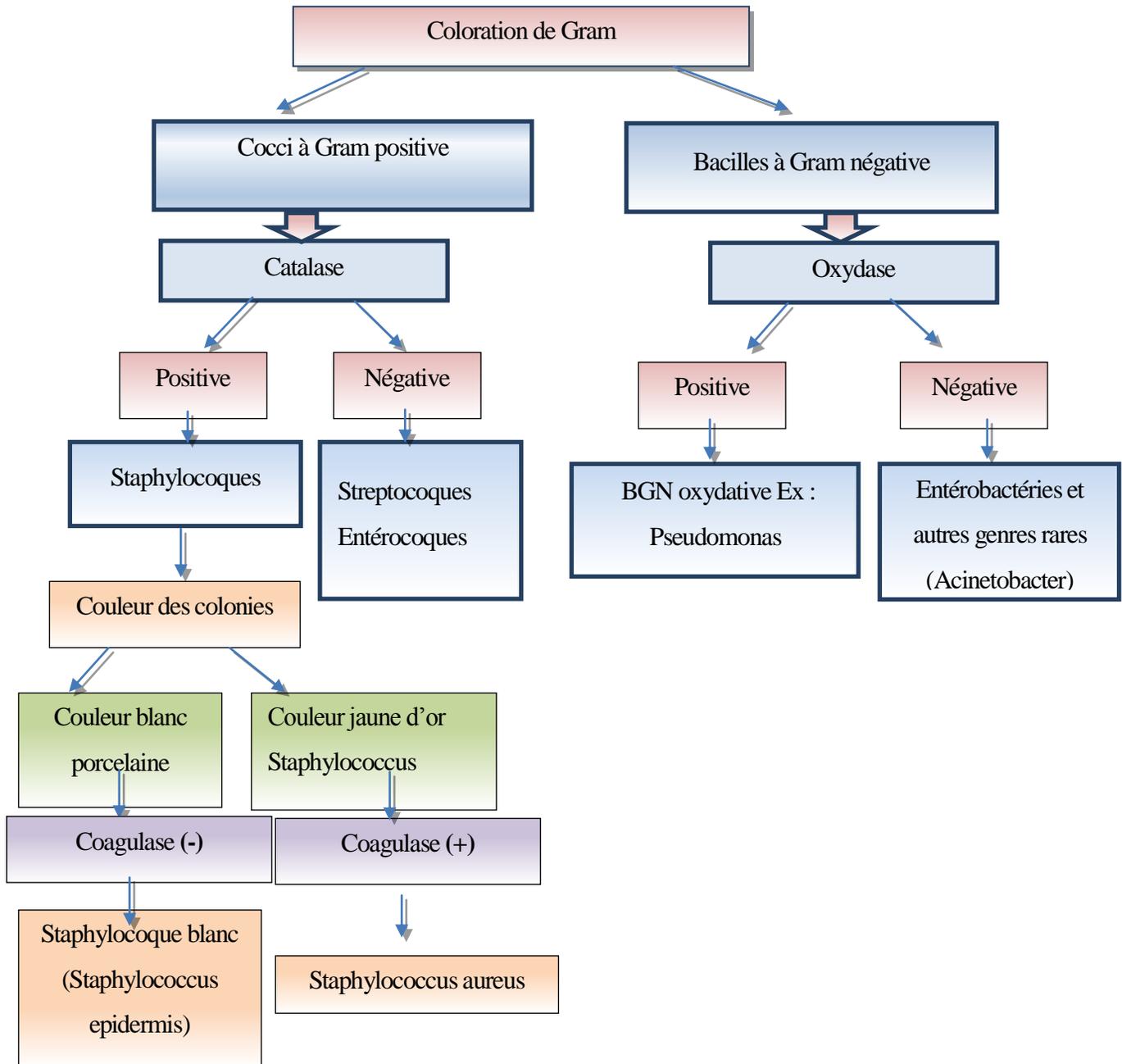


Figure 10: Principales étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif

II.3.2. Recherche des caractères biochimiques

* Galerie classique

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 culturels et morphologiques. Nous avons réalisé l'identification des bactéries isolées par les tests classiques et la galerie API20^E.

Tableau 3: Tests d'identification biochimiques des souches

Test	Principe	Technique	Résultat
1-Catalase	<p>Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent catalyser les peroxydes.</p> $\text{H}_2\text{O}_2 \xrightarrow{\text{Catalase}} \text{H}_2\text{O} + \frac{1}{2}\text{O}_2$	Mettre en contact une Colonie distincte de culture jeune après 24h avec le H ₂ O ₂ sur une lame avec une observation immédiate	Le dégagement de bulles d'oxygène indique catalase positive.
2-Oxydase	<p>* Ce test permet de mettre en évidence une enzyme : la phénylène diamine oxydase des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.</p> <p>* Cette enzyme capable d'oxyder un réactif. Le N diméthylparaphynélène diamine qui est incolore et en présence de l'enzyme, il libère un composé rose rouge</p> $\text{Réactif incolore} \xrightarrow{\text{Phényle diamine oxydase}} \text{Composé rosé}$	Sur une lame, déposer 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 immédiate	<p>*Oxydase (-) : Reste incolore</p> <p>*Oxydase (+) : Le disque prend une teinte bleue ou violette</p>

<p>4-Coagulase</p>	<p>Recherche de coagulase libre chez les staphylocoques</p>	<p>*On dépose une colonie de la souche à étudier dans 0.5 ml d'un bouillon d'enrichissement BGT ou BHIB pendant 2h.</p> <p>*Après 2h on prépare 3 tubes, tous Les tubes contiennent 300µl du plasma humain frais à TP (100%).</p> <p>1-Témoin (-) contient plasma seulement</p> <p>2-Témoin (+) contient plasma et quelque colonie de staphylococcus aureus ATCC.</p> <p>3- échantillon : contient plasma plus 5 gouttes de mélange de la suspension au début.</p> <p>Les tubes sont homogénéisés puis incubé à 35°C ou à 37°C pendant 4 à 5 heures parfois 24h</p>	<p>Test (+) : présence d'une coagulation au fond du tube</p> <p>Donc formation d'un coagulum qui se traduit par transformation du fibrinogène en fibrine.</p> <p>Test (-) : Pas de coagulation</p>
<p>Groupage des streptocoques</p>	<p>Il repose sur l'agglutination de particules de latex recouvertes d'anticorps spécifiques de chacun des groupes A, B, C, D, F, G avec une colonie bactérienne, ces latex</p>	<p>Dans une plaque déposer une goutte d'un ou de plusieurs latex sur le (les) cercle(s) correspondant(s) avec une colonie de la</p>	<p>Observer l'apparition d'une agglutination.</p>

	sont préparés à partir d'une souche déjà connue.	souche à coté de chaque latex, mélanger puis faire des mouvements de rotation pendant 1 min.	
--	--	--	--

*** Milieux d'identification**

➤ **Citrate de simmons (Recherche de la citrate perméase)**

C'est un milieu synthétique pour la différenciation des entérobactéries sur la base de l'utilisation du citrate comme seule source de carbone.

Technique

La pente estensemencée par une série de strie longitudinale, réalisée par pipette pasteur, à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillé stérile puis incubé à 37c° pendant 24 h dans l'étuve avec bouchon desserré.

Lecture

Le virage de couleur de vert au bleu se traduit par l'utilisation du substrat comme source de carbone (Citrate positive).

➤ **Milieu Mannitol-mobilité**

Le milieu mannitol convient plus particulièrement à l'étude des bacilles à Gram négatif fermentatifs (la recherche de la fermentation du mannitol) et permet d'étudier la mobilité des germes. La dégradation en anaérobiose du mannitol conduit à la formation du fructose dont l'attaque conduit elle-même à la formation d'acides à chaînes courtes (La couleur du milieu devient jaune).

Technique

On ensemence le milieu par une piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur stérile avec la souche à étudier puis incubé à 37c° pendant 18 à 24h

Lecture

- * Virage de la couleur du milieu vers le jaune indique la dégradation du mannitol.
- * Diffusion des germes autour de la piqure en tour-billant indique la mobilité.

➤ **Test de fermentation des trois sucres**

Le milieu de culture TSI (Triple Sugar Iron), est principalement utilisé pour la caractérisation biochimique des entérobactéries. Il permet de mettre en évidence la fermentation des trois sucres (Glucose, Saccharose, Lactose avec ou sans production de gaz) et la production de sulfure d'hydrogène (H₂S).

Technique

À partir d'une suspension bactérienne en eau distillée stérile d'une colonie isolée suspectée prélevée à partir d'un milieu d'isolement sélectif, on ensemence la pente par stries et le culot par piqûre centrale à l'aide d'une pipette pasteur. Incuber à 37c° pendant 24h (bouchon desserré) de manière à favoriser les échanges gazeux dans l'étuve.

Lecture

- Fermentation du glucose : culot jaune.
- Fermentation de lactose ou saccharose : pente jaune.
- Production de gaz : apparition de gaz dans le culot.
- Formation d'H₂S : formation d'une coloration noire entre le culot et la pente ou le long de la piqûre

➤ **Bouillon Clark et Lubs**

C'est un milieu glucosé utilisé pour la différenciation des entérobactéries. Le milieu Clark et Lubs (milieu RM-VP) permet de rechercher la voie de fermentation butanediolique.

Technique

Grâce à une pipette pasteur et à partir d'une suspension de la culture solide en eau distillée stérile mettre quelque goutte de la suspension dans le bouillon Clark et Lubs et incuber à 37c° pendant 24h. Après 24 h d'incubation, ajouter 5 gouttes de VP1 et 5 gouttes de VP2, On incline le tube pour permettre une bonne oxygénation pendant 10 min ensuite on fait la lecture.

Lecture

- Apparition d'un anneau rouge : VP (+).
- Absence d'un anneau rouge : VP (-).

➤ **Eau Peptonée exempte d'indole**

L'eau peptonée exempte d'indole permet la culture des germes ne présentant pas d'exigences particulières. Elle est surtout utilisée pour la recherche de la production d'indole.

Technique

Ensemencer le milieu avec une suspension préparée à partir d'une culture pure et fraîche de la souche à étudier prélevée sur milieu gélosé, incuber pendant 24 h à 37c°.

Après 24 h d'incubation, rechercher la production d'indole à l'aide du réactif Kovacs

Lecture

Indole (+) : Une coloration rouge intense apparaît à la surface du milieu.

➤ Milieu urée-indole

Il permet la recherche de l'uréase, production d'indole et la tryptophane désaminase (TDA). C'est un milieu liquide contenant de l'urée, du tryptophane et du rouge de phénol, Ce milieu complexe fournit un ensemble de résultats utiles à l'identification de nombreux germes bactériens à Gram (-), non ensemencé ce milieu est de couleur jaune-orangé.

Technique

Mettre quelque goutte de la suspension bactérienne en milieu urée -tryptophane et incuber à 37 °C pendant 18 à 24h.

Après l'incubation, on fait la lecture de l'uréase ensuite la tryptophanase : (production d'indole) et la tryptophane désaminase après l'ajout de quelques gouttes du réactif de Kovacs et TDA.

Lecture

La lecture se fait en trois étapes :

1. Urée

- * Réaction positive : le milieu vire au rose fuchsia. (Bactérie uréase +).
- * Réaction négative : le milieu ne vire pas. (Bactérie uréase-).

2. Recherche de la tryptophanase (production d'indole)

L'indole produit donne une coloration rouge en présence du réactif de Kovacs.

- * Anneau rouge en surface : indole positif.
- * Anneau incolore ou jaune : indole négatif.

3. Recherche de la Tryptophane désaminase (TDA)

La présence de tryptophane désaminase (TDA) est mise en évidence grâce à la coloration brune caractéristique qu'il donne avec le perchlorure de fer.

➤ Test ONPG

La B-galactosidase est une enzyme qui intervient dans le métabolisme du lactose. La dégradation du lactose par les micro-organismes n'est possible que si ces micro-organismes possèdent :

- Une B-galactosidase-perméase membranaire qui permet la pénétration du lactose au travers de la membrane plasmique.
- Une B-galactosidase qui catalyse l'hydrolyse du lactose en glucose et galactose

Technique

Le test est pratiqué en réalisant une suspension dense de la bactérie à tester dans l'eau distillée puis à l'aide d'une pince flambée et refroidie, un disque imprégné d'ONPG est ajouté. Le tube est incubé à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture

- * Milieu jaune : ONPG (+)
- * Milieu reste incolore : ONPG (-)

➤ Recherche de décarboxylases

Certaines espèces microbiennes possèdent des enzymes dégradant certains acides aminés : l'Ornithine décarboxylase (ODC), la Lysine décarboxylase (LDC) et l'Arginine dihydrolase (ADH). La mise en évidence de ces enzymes est utilisée en point de vue taxonomique en particulier pour les entérobactéries.

Dans le 1^{er} temps, la bactérie utilise le glucose du milieu qui s'acidifie en virant l'indicateur « le pourpe du romocrésol » au jaune. Dans un 2^{ème} temps, la décarboxylation de l'acide aminé alcalinise le milieu et refait virer l'indicateur au bleu violacé, alors que le tube témoin, sans acides aminés, reste jaune.

Technique

Introduire quelques gouttes de la suspension bactérienne à étudiée dans les milieux LDC, ODC et ADH et les recouvrir d'une couche d'huile de vaseline stérile, puis incubés à 37 c° pendant 24h.

Lecture

- * Milieu reste violet : décarboxylase positive.
- * Milieu jaune : décarboxylase négative.

➤ Teste de bile esculine

On prélève avec une pipette pasteur stérile une colonie de la culture à étudier et l'ensemencer par des stries sur gélose bile esculine Azide avec une piqûre centrale. L'incubation est effectuée à 37 C° pendant 24h

Lecture

- * Le noircissement de milieu indique que la bactérie est esculine positive, Il s'agit d'entérocoque.
- * Absence de noircissement de milieu indique que la bactérie est esculine négative, Il s'agit d'un streptocoque *sp.*

❖ **Identification biochimique des bactéries par la galerie d'Api E20**

Le système Api 20E est une version miniaturisée et standardisée des tests biochimiques conventionnels pour l'identification rapide et précise des bactéries (Pour l'identification des Enterobacteriaceae et d'autre bacille à Gram (-)). La galerie Api 20 E comporte 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés. Les tests sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les milieux.

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.
- ✓ Déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation.

Préparation de l'inoculum

On prélève une colonie bien isolée 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 boîte d'incubation avec son couvercle et on l'incube à 37°C pendant 24 heures.

Lecture de la galerie (Lecture en 2ème jour après incubation)

- ✓ Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.
- ✓ La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (Annexe 8) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique.

II.4. Teste de sensibilité aux antibiotiques

II.4.1. Antibiogramme

L'étude des profils de résistance a été effectuée par l'antibiogramme standard réalisé selon les recommandations de comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM, 2019). L'antibiogramme consiste à déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux (Jehl *et al.*, 2015).

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 11).

Technique

Milieu de culture

C'est la gélose de Mueller-Hinton coulé en boîte de pétri sur une épaisseur de 4 mm. Les boîtes doivent être séchées à 37°C avant leur emploi.

Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18h à 24h sur milieu d'isolement, racler à l'aide d'une pipette Pasteur quelques colonies bien isolées qu'on dissocie dans 2 ml d'eau physiologique à 0,9 %, bien homogénéiser la suspension bactérienne, sa charge doit être équivalente à 0,5 McFarland ce qui correspond à environ 10^8 bactéries/ml.

L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, de la culture s'il est trop faible, de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

Ensemencement

Nous avons trempé un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne en l'essorant et en le tournant sur la paroi interne du tube, afin de la décharger au maximum. L'écouvillon a été frotté sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas, en stries serrées. L'opération a été répétée 4 fois, en tournant la boîte 90° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas de l'ensemencement de plusieurs boîtes, il faut changer l'écouvillon à chaque fois.

Disposition des disques d'antibiotiques

Chaque disque d'ATB a été déposé à l'aide d'une pince en flambant à chaque disposition d'un disque d'ATB en appuyant légèrement pour qu'il colle dans la gélose et pour assurer un contact uniforme.

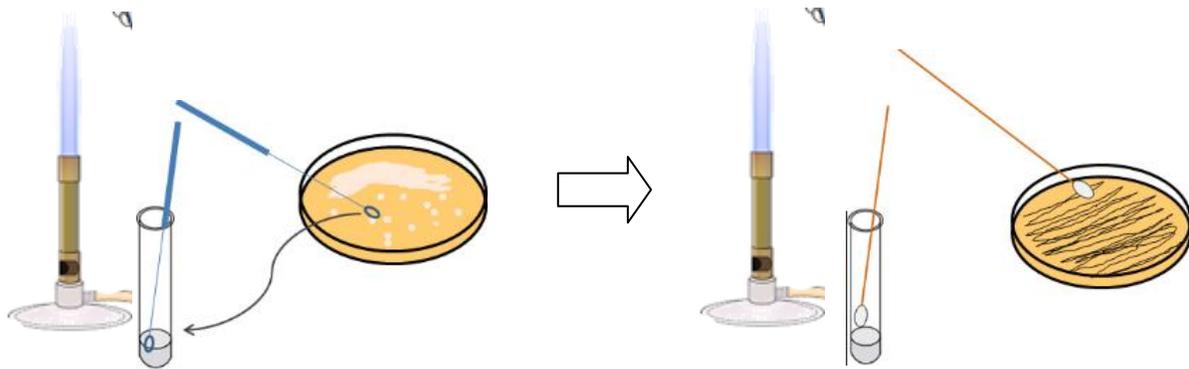
- ✦ Il ne faut pas mettre plus de 6 disques sur une boîte de 90 mm de diamètre et doivent donc être espacés de 24 mm, centre à centre et la distance entre les disques d'environ 2 à 3 cm de bord.

- ✦ Le nombre de disques déposés par boîte est donc limité du fait du chevauchement des zones d'inhibition et pour limiter les interférences entre les antibiotiques.
- ✦ Ne pas déplacer les disques après application car la diffusion des antibiotiques est très rapide.
- ✦ Pour les bactéries exigeantes (Ex : *Streptococcus spp*) ne pas mettre plus de 4 disques par boîte de 90 mm
- ✦ On laisse les boîtes 10 minutes à température ambiante pour permettre la pré diffusion des antibiotiques.
- ✦ Incubation : les boîtes sont mises à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24h.

Lecture

- ✦ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Pétri fermée.
- ✦ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang (Streptocoques), les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises, boîte de Pétri ouverte et bien éclairée.

Les diamètres d'inhibition sont mesurés en mm à l'aide d'un pied de coulisse et reportés sur une fiche d'antibiogramme de concordance pour les comparer aux diamètres critiques (CLSI) cités dans la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national. Cela permet de classer les souches dans l'une des catégories sensible (S), intermédiaire (I) résistant (R).

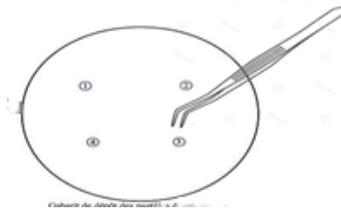


Préparation de la suspension bactérienne

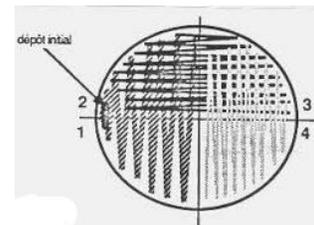
Ensemence le milieu de Mueller Hinton par la technique de l'écouvillonnage



Incuber la boîte pendant 24h à 37 C°.



Après 3 à 5 min, à l'aide d'une pince stérile, déposer les disques d'antibiotiques différents, un à un, sur la géloseensemencée, à l'extrémité de la boîte de Pétri.



Répéter l'opération quatre fois en tournant la boîte de Pétri à 90°, à chaque fois. Finir en passant l'écouvillon sur toute la périphérie de la boîte.

Figure 11: Etapes de l'antibiogramme (Originale)

II.4.2. Tests complémentaires

II.4.2.1. Méthodes de détection de BLSE

Pour certains antibiotiques ou familles d'antibiotiques, l'antibiogramme standard n'est pas suffisant et des tests complémentaires doivent être pratiqués avant une interprétation définitive.

Test de synergie

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de bactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE).

Technique

La recherche de la BLSE se fait dans des conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC) à 30 mm (centre à centre) d'un disque de C3G (céfotaxime). La boîte est ensuite incubée à 37°C pendant 18 à 24 h.

Lecture

La production d'enzyme peut se traduire par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques d'AMC et CTX (**Figure 12**).



Figure 12: Teste de synergie (Bouchon de champagne) (Originale)

* Test de confirmation (Technique du double disque ou Test espagnol)

Principe

Ce test consiste à rechercher une augmentation de la zone d'inhibition d'un disque de C3G, précédé par l'application d'un disque contenant l'AMC, comparé à un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose de Mueller-Hinton.

Technique

On procède de la même manière que la technique d'antibiogramme dans la préparation de l'inoculum et l'ensemencement, puis on place deux disques d'antibiotiques : un disque d'AMC et un disque de CTX (C3G) à une distance de 25 mm selon (Figure 13). On laisse diffuser à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps, ôter le disque d'AMC et le remplacer par un disque de CTX(C3G). On incube pendant 18 h à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

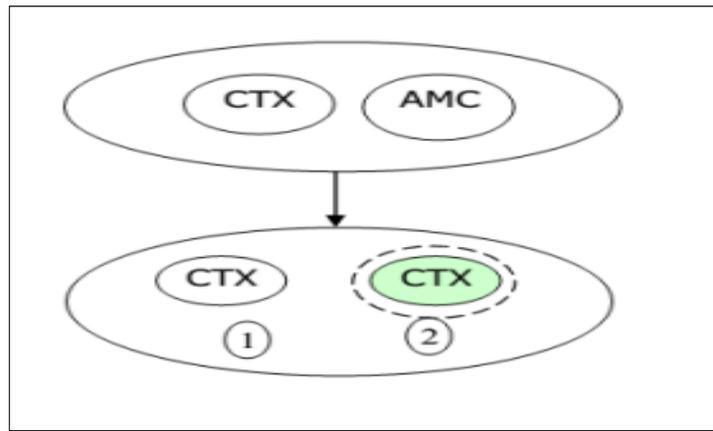


Figure 13: Schéma de détection de BLSE par le test du double disque

Lecture

Le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est \geq de 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3^{ème} génération (CTX), ce qui indique une production de bêta-lactamase à spectre élargi.

II.5. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan

II.5.1. Séchage du matériel végétal

Les parties aériennes de la plante ont été récoltées fraîches, puis elles ont été séchées à une température ambiante dans un endroit aéré pour éviter la prolifération des moisissures et ombragé afin d'éviter la photo-oxydation, dans des étagères recouvertes de papier-peint (Figure 14).



Figure 14: Partie de la plante séchée utilisée pour l'extraction de l'huile essentielle (Originale)

II.5.2. Extraction de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

L'extraction de l'huile essentielle d'origan a été effectuée, par hydrodistillation, dans un appareil de type clevenger (**Figure 15**).

Principe

L'hydrodistillation se base sur le pouvoir que possède la vapeur d'eau à transporter les huiles essentielles. La méthode consiste à mettre le matériel végétal dans un ballon en verre monocol rempli d'eau, puis de l'apporter à ébullition à l'aide d'une chauffe ballon. L'HE chargée dans les vapeurs se condense dans un réfrigérant puis se sépare de l'eau par différence de densité.

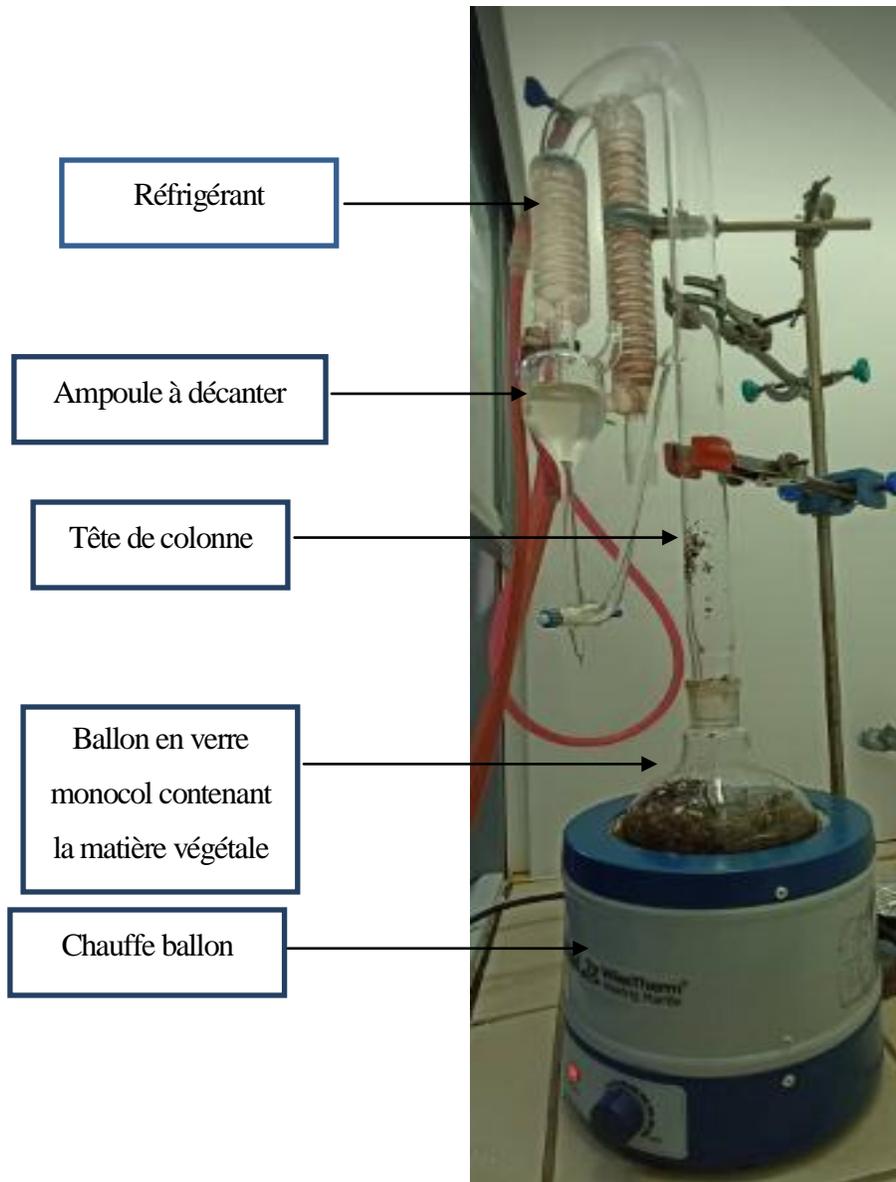


Figure 15: Appareil d'hydrodistillation de type Clevenger (Originale)

Mode opératoire

- ✓ On introduit de manière divisée 400g de matière végétale séchée et émiettées de la plante *d'Origanum vulgare* dans un ballon en verre monocol de 1 L.

- ✓ On ajoute une quantité suffisante d'eau distillée au ballon sans pour autant remplir le ballon pour éviter les débordements de l'ébullition.
- ✓ Le mélange est porté à ébullition pendant 3h à l'aide d'un chauffe ballon. Les vapeurs chargées d'huile essentielle, traversent le réfrigérant et se condensent ainsi avant de chuter dans une ampoule de décantation, l'huile se sépare par la suite de l'eau par différence de densité.
- ✓ On observe l'apparition de deux phases non miscibles: l'huile essentielle se retrouverait en surface (la partie huileuse flottante) et l'eau glacé en dessous dans l'ampoule à décanter.
- ✓ L'HE est ainsi récupéré par décantation, l'hydrolat (le distillat) est recueilli dans un flacon en verre et l'huile essentielle sera dans un tube approprié.
- ✓ L'huile ainsi obtenue est récupérée et conservée dans des flacons opaques bien scellés à température basse (4°C).

II.5.3. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle

Selon la norme AFNOR (1986), le rendement en l'huile essentielle est défini par le rapport entre la masse de l'huile essentielle obtenue après extraction et la masse de la matière végétale utilisée. Il est exprimé en pourcentage (%) et calculé selon la formule suivante :

$$\mathbf{RHE} = \frac{\mathbf{M'}}{\mathbf{M}} \times 100$$

RHE : rendement en huile essentielle exprimé en pourcentage (%)

M' : masse de l'huile essentielle obtenue en (g)

M : masse de la matière végétale utilisée en (g).

II.5.4. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare*

L'analyse sensorielle est une source d'information essentielle qui reflète les attentes et les tendances des consommateurs. L'analyse a été effectuée en observant et en inhalant directement l'huile essentielle. L'évaluation des propriétés organoleptiques constitue généralement une partie des études visant à analyser les facteurs qui affectent la qualité de l'huile essentielle. Dans cette étude, trois critères sont considérés pour évaluer la qualité organoleptique : l'odeur, la couleur et l'aspect.

II.5.5. Propriétés chimiques (analyses qualitatives et quantitatives)

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est une méthode séparative qui permet l'identification et le dosage des différents composés d'un mélange. Le principe est basé sur les différences d'affinité des composés du mélange avec la phase stationnaire et la phase mobile.

➤ **Le mode opératoire :**

L'analyse GCMS des huiles essentielles a été réalisée par Un chromatographe Hewlett-Packard Agilent 2890 équipé d'une colonne capillaire de type HP-5MS (30m x 0.25mm, épaisseur film 0.25µm, Hewlett-Packard) avec 5% Phenyl 95% le diméthylpolysiloxane en phase stationnaire, relié à un détecteur (FID), la température du four a été programmée à 45°C pendant 8min, puis 7 /min à 250°C, et isotherme pendant 2 min pour un temps d'analyse de 127 min. Le volume injecté est de 0,2 µl en mode split 20 :1 à 280°C de température de détection (interface). Le gaz vecteur est de l'hélium (pureté 99,995%) envoyé avec un débit de 0,5 ml/min ; Les conditions du spectromètre de masse sont : l'analyseur de masse : des quadripôles, une ionisation par impact électronique de 70eV, et la température de l'interface est de 300°C, les spectres de masse des électrons ont été acquis en mode ICT scan (de 30 à 550) m/ z. L'identification des composés a été réalisée par la base de données NIST 08

II.5.6. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan

L'activité antibactérienne a été évaluée sur des souches pathogènes isolées à partir des prélèvements biologiques (urine et pus) des patients hospitalisés à l'hôpital de Koléa ou externes. La conservation des souches a été réservée pour les souches identifiées comme SARM, BLSE, ...etc, afin de tester l'effet de l'huile essentielle de *Origanum vulgare* sur ces BMR. Les souches ont été conservées dans des milieux gélosés prêt à l'emploi dans des tubes de 10 ml.

Les souches bactériennes ont été réactivées par repiquage à partir du milieu de conservation sur des différents milieux de culture solides (gélose nutritive pour les bactéries non exigeantes ,GSC/GSF pour les bactéries exigeantes, Hektoen pour les bacilles à Gram négatif (BGN), Chapman pour les staphylococcus), préalablement fondus, coulés dans des boîtes de Petri sur 4 mm d'épaisseur (les boîtes doivent être refroidies et séchées avant d'être ensemencés). Après 24 h d'incubation à l'étuve (37°C), les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes.

II.5.6.1. Méthode de l'aromatogramme (diffusion en milieu gélosé ou Méthode de disque)

Principe

L'aromatogramme est basé sur une technique utilisée en bactériologie appelée méthode de disques ou méthode par diffusion en milieu gélosé qui est semblable à un antibiogramme standard. Bien qu'elle soit reconnue comme fiable et reproductible, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire des HE à l'intérieur d'une boîte de Pétri, dans un milieu nutritif solide (Mueller Hinton). Notre étude va se porter sur :

- ✓ L'huile essentiel de zeitipharm (commercial)
- ✓ Huile essentiel extrait à partir d'origan récolté
- ✓ Hydrolat récupéré d'extraction d'origan

Technique

De la même manière que l'antibiogramme pour les étapes (milieu, préparation de l'inoculum et l'ensemencement). Puis, elle consiste à déposer des disques vierges (6 mm de diamètre) imprégnés de 10µl de HE Zeitipharm , Huile d'extraction et Hydrolat à la surface d'une gélose Muller Hinton préalablement inoculée avec une suspension de la bactérie à étudier. Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 min pour que l'huile essentielle puisse diffuser, ensuite dans une étuve à 37°C pendant 24 h. Les zones d'inhibition ont été mesurées à l'aide d'un pied à coulisse.

Lecture

A la sortie de l'étuve, l'absence de la croissance microbienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en mm (y compris le diamètre du disque de 6 mm). L'échelle d'estimation de l'activité antibactérienne évaluée par la méthode d'aromatogramme est citée par Mutai et al. (2009) :

Tableau 4: Échelle d'estimation de l'activité antibactérienne

<u>Absence d'activité</u>	<u>Activité faible</u>	<u>Activité moyenne</u>	<u>Très forte</u>
ND (Non déterminé)	Entre 6 et 10mm	Entre 10 et 16mm	≥ 16 mm

A partir des résultats obtenus de l'étude de l'aromatogramme, nous avons sélectionné les souches ayant des diamètres de zone d'inhibition les plus importants, pour une étude quantitative par la détermination de la concentration minimale inhibitrice de l'huile essentielle de *Origanum vulgare* sur ses souches.

II.5.6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)

A. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (Méthode de dilution)

Principe

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme étant la dernière ou la plus basse concentration d'un agent antimicrobien (huile essentielle) qui peut inhiber visiblement la croissance d'un micro-organisme après 24h pour les bactéries. Son but est d'établir le niveau de sensibilité des pathogènes envers les agents antimicrobiens en l'occurrence des HE étudiées dans ce cas. Cette CMI est déterminée selon la méthode des dilutions sur milieu gélosé : MH pour les bactéries.

Technique

Est une technique quantitative permettant de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI). Il s'agit d'effectuer une série de dilutions de l'huile essentielle dans le milieu gélosé Mueller Hinton liquide en utilisant du tween 80.

a) Préparation d'une Solution -Mère

- 1) Peser 10 000 µl de l'huile essentielle d'extraction (10 ml) .
- 2) Préparer un mélange de 100 µl de (95 µl milieu Mueller Hinton liquide + 5 µl Tween80).
- 3) On mélange 10 000µl de l'huile essentielle de l'extraction avec 100 µl du mélange (Mueller Hinton liquide et Tween 80) : C'est la Solution Mère.
- 4) La concentration de l'huile essentielle est donc 100µl/ml parce que :

$$[HE] \quad 10\,000\mu\text{l} / 100\mu\text{l} = 100\mu\text{l} / \text{ml}$$

b) Préparation de l'inoculum pour les tests en milieu liquide

L'inoculum a été préparé à partir de colonies fortement et très fortement inhibitrice par l'huile essentielle de *Origanum vulgare*. Racler à l'aide d'une pipette pasteur 2 à 3 colonies jeune de 18 à 24 h bien isolées et parfaitement identiques dans 10 ml d'eau physiologique et bien homogénéiser la suspension bactérienne. Ensuite, la densité optique a été ajustée à 0,4 MC Farland à l'aide d'un densitomètre à 620nm.

Cette densité correspond à une concentration de 10^8 UFC/ml. L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, de la culture s'il est trop faible, de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.

c) Préparation de Microplaque

- ✓ Nommez les souches bactériennes sur la microplaque,
- ✓ Faire 3 essais de chaque souche bactérienne
- ✓ On met 180 μ l de la Solution Mère dans la première ligne avec une concentration [HE]= 100 μ l/ml
- ✓ On met dans les autres puits 90 μ l de Mueller–Hinton liquide.
- ✓ Une gamme de concentration décroissante en huile essentielle, donc à partir de la solution mère à l'aide d'une pipette automatisée, on prélève 90 μ l et on met dans le deuxième puit qui contient MH liquide, homogénéisé bien puis on prélève 90 μ l et on répète l'opération jusqu'à la dernière rangé et On jette la dernière 90 μ l
- ✓ On ajoute 10 μ l de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur dans tous les puits.
- ✓ Série de dilution décroissante en l'huile essentielle donc ([100],[50],[25] ... μ l /ml etc.

Lecture

Après incubation, une observation à l'œil nu a été effectuée et la plus faible concentration pour laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée à l'œil nu correspond à la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI).

A. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

Principe

La Concentration Minimale Bactéricide (CMB) est la petite concentration de l'agent inhibiteur ne laissant subsister que 0,01% ou moins de survivants de l'inoculum initial après 18 heures de culture à 37°C. Cette valeur caractérise l'effet bactéricide de l'huile essentielle.

Technique

- ✓ 10 μ l sont prélevées à partir de cultures au niveau des puits (ne présentant pas de turbidité visible), sontensemencées sur des milieux Gélose avec des stries et incubés pendant 24h à 37°C.

Chapitre III : Résultats et discussion

Notre étude s'est axée sur l'examen cyto bactériologique des prélèvements urinaires et purulents provenant de patients hospitalisés dans les divers services de l'Etablissement Public Hospitalier (EPH) de Kolea et d'autres provenant de patients non hospitalisés. Aussi, les bactéries isolées ont été identifiées afin de déterminer leur profil de résistance aussi bien aux antibiotiques qu'à l'huile essentielle de l'origan.

I. Caractéristiques des patients atteints d'infection urinaire

Notre étude prospective sur l'examen cyto bactériologique des urines nous a permis de sélectionner, sur les 733 échantillons d'urine analysés, 98 cas d'ECBU positifs traduisant une infection urinaire avec un taux de 13.4%. Alors que 550 ECBU étaient négatifs (75%) et 85 ECBU étaient contaminés (11.6%) (Figure 16).

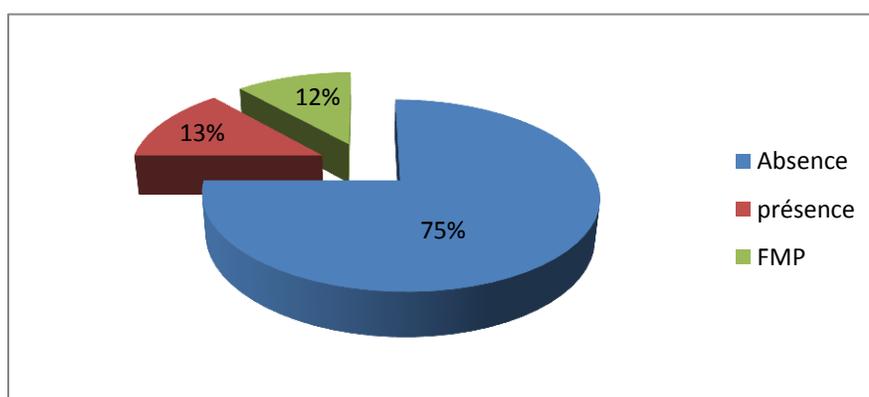


Figure 16: Taux de prévalence de l'infection urinaire

La prévalence des infections urinaires dans notre étude se rapproche de celui trouvé par **Sy et al., (2021)** 17,4% et un peu plus élevé que celui trouvé par **Hailaji et al., (2016)** notant 18,4%. Par contre, ce taux est supérieur à celui obtenu par **Ishrat et al.,(2022)** et **Kalambry et al.,(2019)** où le pourcentage de positivité était 28,13% et 25% respectivement. Cette différence de taux de prévalence peut être expliquée par l'inégalité de la taille de la population étudiée.

I.1. Répartition des cas d'infection urinaire selon le sexe

Nos résultats montrent qu'une infection urinaire était confirmée chez 58 patients de sexe féminin (59.2%) et 40 patientes de sexe masculin (40.8%) (Figure 17). Cette prédominance féminine n'était pas statistiquement significative ($p = 0,93$).

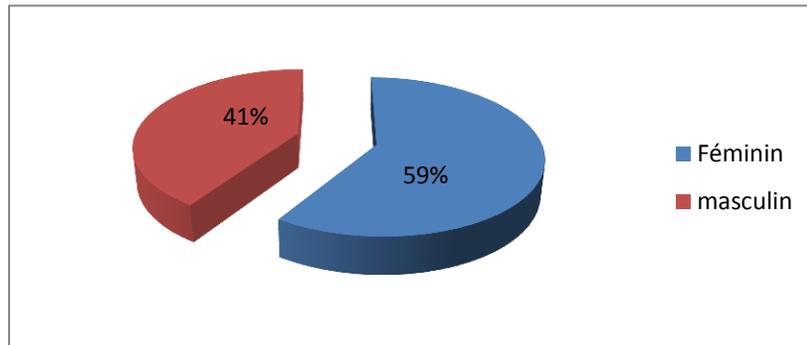


Figure 17: Répartition des cas d'IU selon le sexe

Cette prédominance féminine est en concordance avec les résultats rapportés par plusieurs autres études (Ishrat et *al.*, 2022 ; Ramilitiana et *al.*, 2014 ; Hailaji et *al.*, 2016). Elle pourrait s'expliquer par :

- L'anatomie de l'appareil génital chez la femme qui favorise l'IU. Elle a un urètre très court ce qui facilite l'accès de bactéries à la vessie. La proximité entre l'anus et le méat urinaire facilite grandement l'accès de l'urètre aux bactéries intestinales provenant de rectum. En outre, l'homme a un appareil génital bien protégé ; l'urètre est plus long.
- Les femmes enceintes sont particulièrement à risque en raison de la pression exercée par le bébé sur le système urinaire, les changements hormonaux, aussi la grossesse dilate les voies excrétrices (Mauroy et *al.*, 1996).
- Après la ménopause, les IU peuvent être plus fréquentes à cause de l'absence de certaines hormones.
- L'usage d'un diaphragme et de spermicides comme moyens contraceptif augmentent le risque d'IU.
- La fréquence des rapports sexuels qui favorisent l'ouverture du méat urétral favorisant ainsi l'accès des germes à la vessie (Berthelemy, 2014).

I.2. Répartition des cas d'infection urinaire selon l'âge

La répartition des IU selon l'âge montre que les infections du tractus urinaire sont moins fréquentes chez les enfants (30.6%) que chez les adultes (69.4%) (**Figure 18**). Cette étude démontre qu'il n'existe pas un lien statistiquement significatif entre la présence d'infection urinaire et l'âge ($p=0,76$).

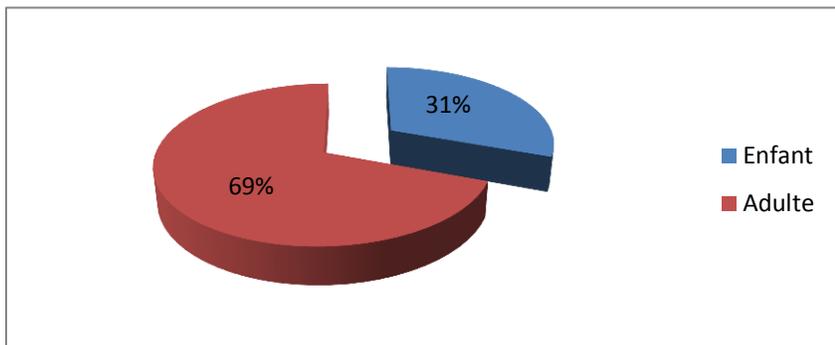


Figure 18: Répartition des cas d'IU selon l'âge.

Nos résultats sont proches de ceux de **Barrier, (2014)** et **Sy et al., (2021)**. En effet, la fréquence des infections de tractus urinaire augmente avec l'âge et dépend de plusieurs facteurs : l'augmentation avec l'âge des troubles de la motricité vésicale (effet des médicaments, alitement...), la déshydratation, le défaut d'hygiène et la baisse des défenses immunitaires. Globalement, l'appareil urinaire est pauvre en cellules immunocompétentes (**Barrier, 2014**).

I.3. Répartition des cas d'infection urinaire selon le service

Les prélèvements d'urine reçus des malades au niveau du laboratoire de bactériologie pendant notre étude prospective, provenaient des 6 services. Le nombre le plus élevé des IU positive appartenait aux patients consultant à titre *externe* avec un pourcentage de 56.1% (55/98) suivi par les patients hospitalisés au niveau du service de pédiatrie avec un taux de 30.6% (30/98)(**Figure 19**).

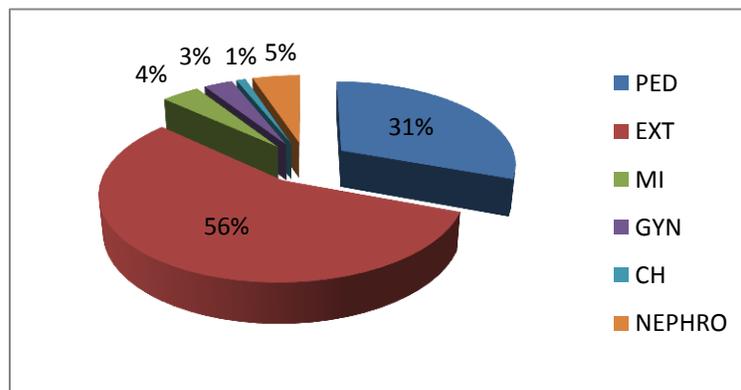


Figure 19: Répartition des cas d'IU selon le service

I.4. Résultats de l'examen cyto bactériologique des urines

I.4.1. Aspect macroscopique des urines

L'aspect macroscopique permet de donner une idée préliminaire sur l'existence d'une infection urinaire. Sur les échantillons analysés trois types d'aspects macroscopique ont été détectés : claire, trouble, hématurie (**Figure 20**)

- ✚ Une urine claire est donc un bon un signe santé, elle est due à une bonne hydratation du patient.
- ✚ L'aspect trouble de l'urine peut révéler à une infection ou un signe bénin provoqué suite à un régime alimentaire riche en phosphates.
- ✚ L'aspect hématurique de l'urine (urine rouge), il est remis en cause généralement par la présence du sang dans l'urine, comme il peut être due à une alimentation riche en pigment rouge (ex : betteraves) ou suite à la prise de certains médicaments.

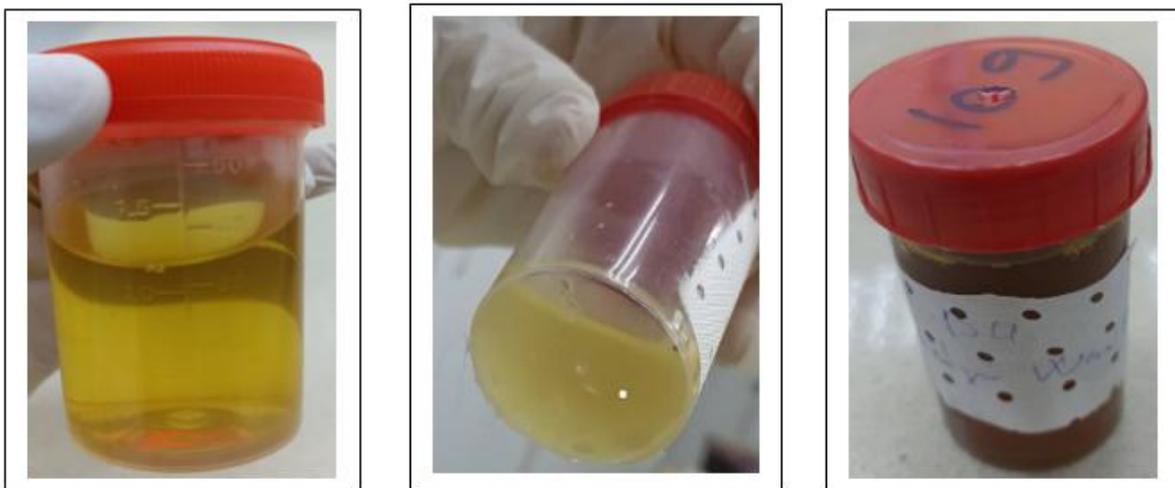


Figure 20: Différents aspects macroscopiques de l'urine (Photo originale).

I.4.2. Examen microscopique

✚ Examen qualitatif

D'après l'analyse des échantillons, nous avons constaté la présence des leucocytes, des hématies, des germes, la présence des cellules épithéliales et des cristaux, des levures et des cellules rénales (Tableau 5).

Tableau 5: Les différents éléments cellulaires des urines

Leucocytes	En cas d'infection urinaire, les leucocytes sont très souvent rencontrés en grand nombre, car la multiplication bactérienne s'accompagne d'une levée des défenses immunitaires.
Hématies	Une forte hématurie peut même être repéré à l'œil nu. Les traumatismes, les calculs, les cystites hématuriques, la tuberculose, les tumeurs de l'appareil urinaire, les troubles de la coagulation (à la suite par exemple de traitements anticoagulants) peuvent en être à l'origine.
La présence des cellules épithéliales et des cristaux	Dans l'urine ne représente 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	Leur présence est liée à une mycose, se présente sous forme d'une petite olive ovale brillante isolée
Les Cellules rénales	Les cellules rénales sont des cellules qui recouvrent la paroi des tubules rénaux. On en retrouve un petit nombre dans les urines normales.

- ✓ L'absence de leucocytes et de germes lors de cet examen signifie que l'échantillon est négatif.
- ✓ L'infection urinaire se manifeste essentiellement par une leucocyturie très importante liée à la multiplication bactérienne.

- ✓ Cependant, au cours de cet examen il s'est avéré que dans certaines situations, il est possible d'observer un nombre élevé de leucocytes en l'absence de bactéries due à un traitement aux antibiotiques pris avant d'effectuer l'examen.
- ✓ Il convient également d'observer un taux de leucocyte très faible associé à une présence significative de bactéries notamment chez les personnes immunodéprimées qui représente un terrain favorable.

✚ Examen quantitatif (Dénombrement)

La détection sous microscope des leucocytes et des germes ne signifie pas systématiquement une infection, il faut que le nombre de ces éléments atteigne un seuil critique (Tableau 6).

Tableau 6: Interprétation de résultat de l'ECBU

Leucocyturie	Bactériurie	Culture	Interprétation
$<10^4/ml$	$<10^3UFC/ml$	Négative	Urine stérile
$\geq 10^4/ml$	$\geq 10^3UFC/ml$	Positive une seule espèce bactérienne	Infection urinaire certaine selon espèce
$\geq 10^4$	$\geq 10^3UFC/ml$	Positive 02 espèces bactériennes	Contamination ou infection (contexte) ECBU de contrôle
$<10^4/ml$	$\geq 10^5UFC/ml$	Positive 01 seule espèce bactérienne	Infection débutante ; Infection sur terrain particulier (Immunodéprimé, femme enceinte ..etc.).
$\geq 10^4 ml$	$<10^3UFC/ml$	Négative	Infection traitée par antibiotiques décapité, étiologie non bactérienne.

I.4.3. Examen microbiologique

A. Examen macroscopique d'uroculture

Après 24h d'incubation à 37°C, les caractères morphologiques des colonies ont été notés. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau (I) Annexe (05).

B. Identification microscopique

✚ Coloration du Gram

La coloration de Gram a permis d'identifier deux groupes de germes : les bacilles à Gram négatif et les Cocci Gram positif (Figure 21).

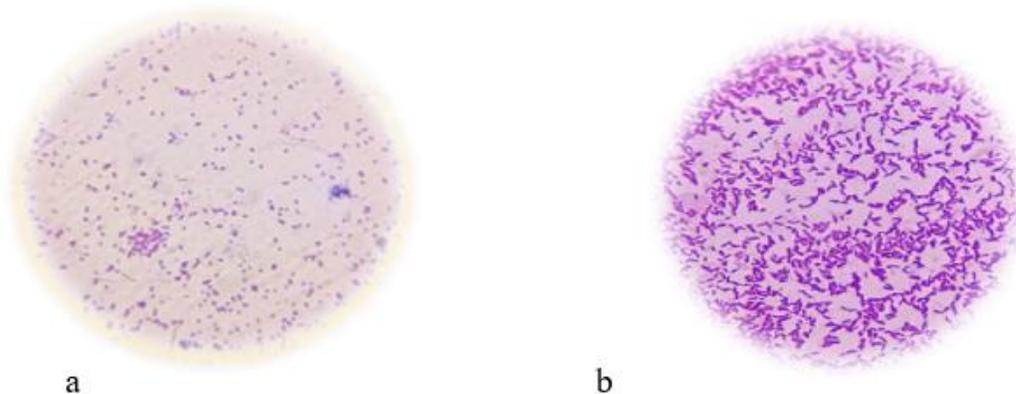


Figure 21: Identification par coloration du Gram (a :Bacille à Gram positif (BGP), b :Bacille à Gram négatif(BGN) au microscope optique à l'objectif $\times 100$

C. Identification biochimique

✚ Galerie classique

L'identification bactérienne a été complétée par des tests biochimiques plus précis dont les résultats obtenus sont mentionnés dans Annexe (07).

✚ Galerie Api 20 E

En outre, l'identification des entérobactéries par le système Api 20 E a montré que les souches testées répondent aux profils numériques spécifiques Annexe (08).

✚ Tests d'orientation

Les résultats des tests supplémentaires d'orientation (test de catalase, oxydase, coagulase et test de streptococcus d'agglutination) sont illustrés dans Annexe (06).

I.4.4. Profil bactériologique des infections urinaires

I.4.4.1. Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon la coloration de Gram

Dans l'ensemble des cultures positives, nous avons isolés et identifiés 98 germes. D'après les résultats obtenus, on remarque que la bactérie Gram (-) est la catégorie majoritaire causale de l'infection urinaire avec un pourcentage de 95,92 % par contre 4,08 % étaient des bactéries Gram + (**Figure 21**).

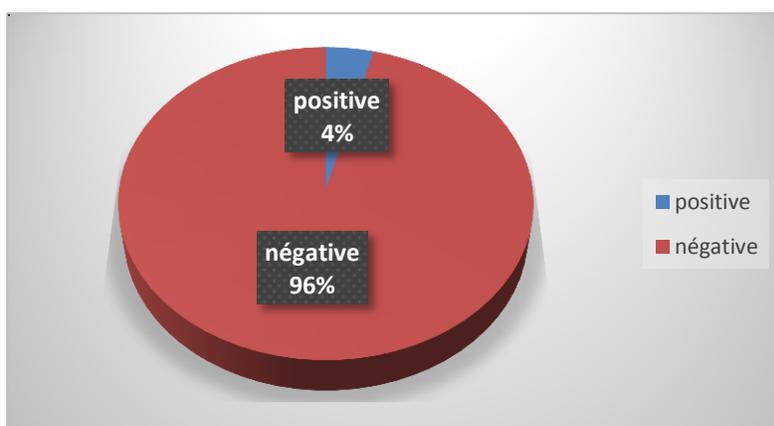


Figure 22: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon la coloration de Gram

Nos valeurs sont proches de celles de Shields *et al.*, (2021), Sy A *et al.*, (2021) et Ishrat, *et al.*,(2022) qui ont trouvé la prédominance des bactéries Gram négatif comme agents étiologiques des infections urinaires.

I.4.4.2. Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon le groupe bactérien

L'ensemble des cultures positives est dominé par les *Enterobacteriaceae* avec un taux de 93,87% (92 souches), suivis par les *Staphylococcaceae* avec un pourcentage de 3,06% (03 souches) puis en dernier les BGNNF avec un taux de 2,04% (02 souches) **Figure 23**. Ces résultats sont similaires avec ceux obtenus par Shields *et al.*, (2021), Sy A *et al.*,(2021) et Ishrat, *et al.*,(2022).

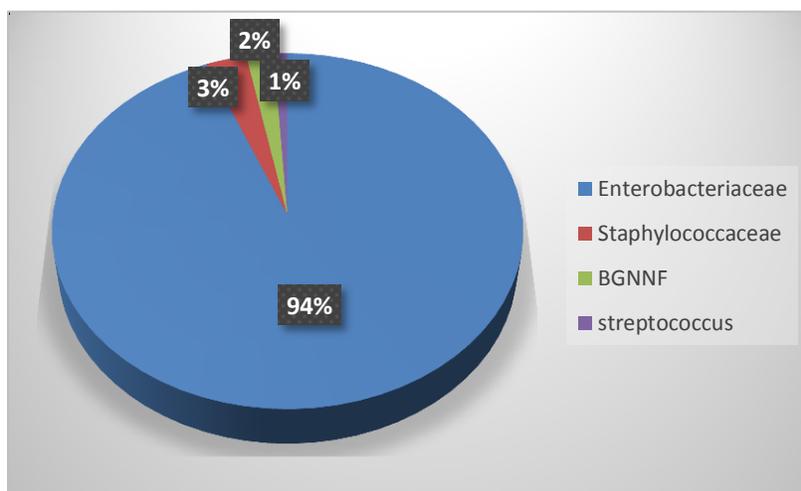


Figure 23: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon le groupe bactérien

I.4.4.2. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne

D'après les résultats de la répartition globale des différentes espèces isolées d'ECBU (Tableau 7), nous avons observé que *Escherichia coli* est l'espèce la plus isolée représentant 58,16% (57 souches) ; suivie de *Klebsiella pneumoniae* avec 13 souches (13,27%), *Klebsiella oxytoca* avec 09 souches (9,18%) ; *Enterobacter sp*, *Proteus mirabilis* les deux avec un taux de 06 souches (3,06%), puis *S. aureus* et *P. aeruginosa* avec 22,81% (03 souches), *Serratia marcescens* et *Streptococcus* groupe D avec 1,02% (une souche).

Tableau 7: Répartition des bactéries isolées d'ECBU selon l'espèce bactérienne

Famille/ genre		Espèce		Nombre (%)
Entérobactéries	92(93,87%)	<i>Escherichia coli</i>		57(58,16%)
		<i>Klebsiella</i>	<i>K.pneumoniae</i>	13(13,27%)
			<i>K. oxytoca</i>	09(9,18%)
		<i>Enterobacter sp</i>		06(6,12%)
		<i>Serratia marcescens</i>		01(1,02%)
		<i>Proteus mirabilis</i>		06(6,12%)
BGNNF	02(2,04%)	<i>P. aeruginosa</i>		02(2,04%)
Staphylococcus	03(3,06%)	<i>S. aureus</i>		03(3,06%)

Nos résultats sont proches de celles d' Shields *et al.*, (2021), Sy A *et al.*,(2021) et Ishrat, *et al.*,(2022) montrant une prédominance d'*E.coli* qui s'explique par le fait que cette espèce est la plus dominante de la flore intestinale et qu'elle peut migrer de l'intestin vers le tractus urinaires. Par ailleurs, *E. coli* exprime une multitude de facteurs de virulence qui lui permettent de coloniser le tractus urinaire et de persister face aux mécanismes de défenses de l'hôte. Ces facteurs peuvent être divisés en deux catégories : les facteurs de virulence associés à la surface de la cellule bactérienne (flagelle, fimbriae, pili, antigène K capsulaire) et les facteurs de virulences qui sont sécrétés et exportés sur le site d'action (toxines, système d'acquisition de fer) (Bien *et al.*, 2012).

D'autres facteurs de pathogénicité peuvent être mis en évidence :

- ✓ Augmentation de pH chez *Proteus* qui possèdent une uréase très active qui transforme l'urée en ammoniac. Il y a une possibilité de dépôt de calculs phosphoammoniacomagnésien sur la paroi vésicale (Riegel, 2002).
- ✓ *Staphylococcus aureus* adhère directement par ses composés pariétaux.
- ✓ *Pseudomonas aeruginosa* : cette espèce produit de :
 - ❖ L'exotoxine A à des quantités variables d'une souche à une autre et dépend de la concentration en fer du milieu. Elle provoque un œdème et une nécrose tissulaire.
 - ❖ L'élastase et l'exo-enzyme S qui sont produites par la majorité des souches provoque les mêmes effets mais en moindre intensité.

I.4.5. Etude de la sensibilité des bactéries isolées d'ECBU aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme de différentes espèces identifiées ont été exprimés par la lecture de diamètre d'inhibition et la comparaison aux valeurs critiques des diamètres d'inhibition de chaque espèce, retrouvées dans la 7ème édition de la standardisation des antibiogrammes à l'échelle nationale(2020).

I.4.5.1 Profil de sensibilité des souches d'*Escherichia coli*

Pour les 57 souches isolées d'*Escherichia coli*, l'antibiogramme a montré une résistance élevée à l'Amoxicilline (98%), Amoxicilline +Acide clavulanique (72,9%), plus au moins pour Furanes (48,72%), Cefotaxime (52,83%) et Cefazoline (57,41%). Par contre, ces souches présentent une sensibilité significative vis-à-vis la Gentamicine (92,5%) et la Cotrimoxazole (62.8%) (Figure 24).

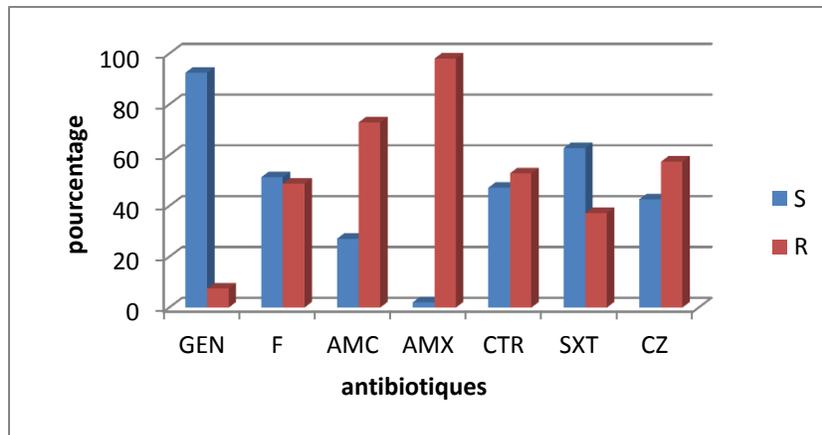


Figure 24: Profil d'antibiorésistance d'Escherichia coli isolées d'ECBU

I.4.5.2 Profil de sensibilité des souches de *Klebsiella Pneumonie*

Pour les 13 souches de *Klebsiella pneumoniae*, l'antibiogramme a révélé une résistance totale à amoxicilline (AMX) (100%) et une résistance élevée aux furanes (F) (90,9%), amoxicilline+acide clavulanique (AMC) ainsi qu'au cefotaxime (CTX) (76,92%) et au ceftazidime (CAZ) (84,61%). Par contre, une sensibilité élevée vis-à-vis la gentamycine (GEN) (81,81%) a été notée (**Figure 25**).

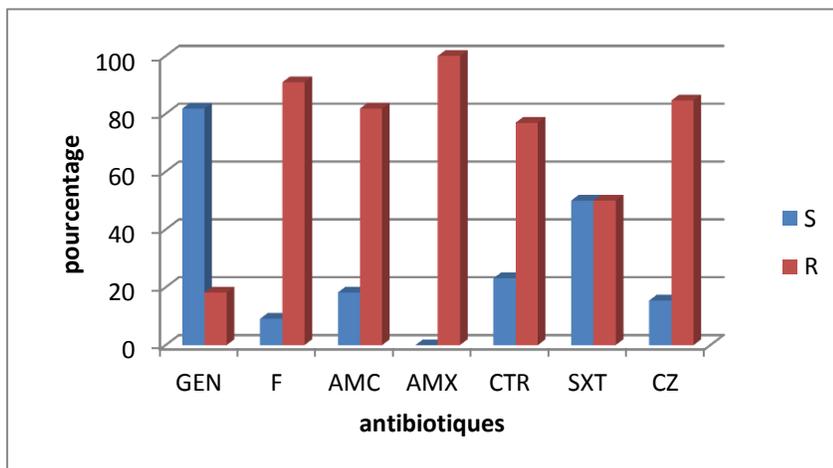


Figure 25: Profil d'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae* isolées d'ECBU

I.4.5.3 Profil de sensibilité des souches de *Klebsiella oxytoca*

Pour les 9 souches isolées de *Klebsiella oxytoca*, l'antibiogramme a montré une résistance totale à l'Amoxicilline, et une résistance plus au moins élevée à l'Amoxicilline + Acide Clavulanique (77.8%), et au furanes (55.6%). Par contre, ces souches sont totalement sensibles à la Gentamicine (**Figure 26**).

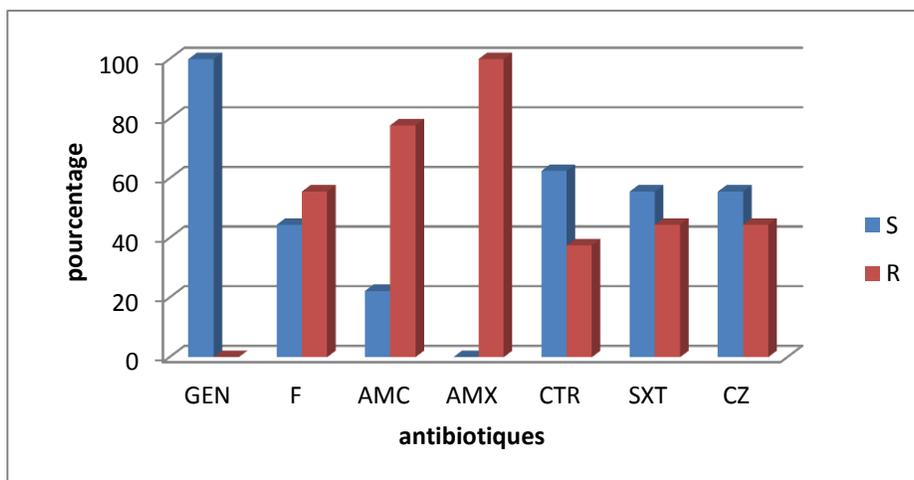


Figure 26: Profil d'antibiorésistance de *Klebsiella oxytoca* isolées d'ECBU

I.4.5.4 Profil de sensibilité des souches de *Proteus mirabilis*

Pour les 6 souches de *Proteus mirabilis* isolées, l'antibiogramme a montré une résistance totale aux furanes, l'amoxicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique et une résistance élevée (83.3%) vis-à-vis la Cefazoline (CZ). Par contre, une sensibilité totale était observée vis-à-vis la gentamycine (GEN), plus au moins pour le cotrimoxazole (SXT) et la cefotaxime.

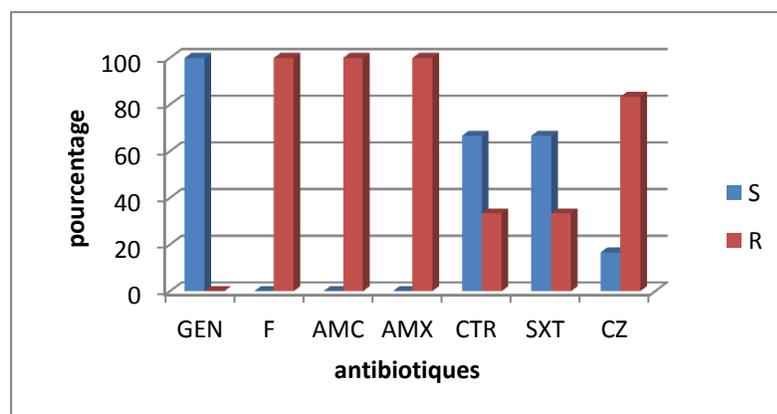


Figure 27: Profil d'antibiorésistance de *Proteus mirabilis* isolées d'ECBU

I.4.5.5. Profil de sensibilité des souches d'*Enterobacter sp*

Les souches d'*Enterobacter sp* (n=6) ont montré une résistance élevée à l'Amoxicilline (100%), Cefazoline (83,33%) et Gentamicine (66,66%). En revanche, ces souches sont plus au moins sensibles à l'amoxicilline+acide clavulanique, furanes et Cefotaxime (**Figure 28**).

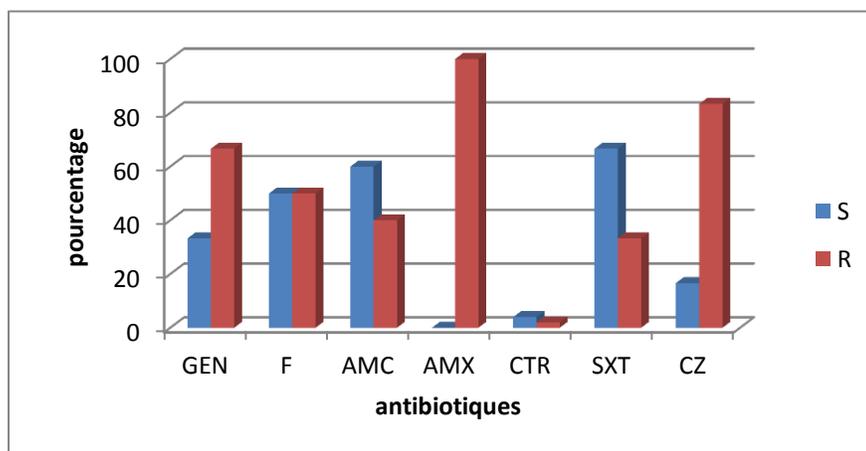


Figure 28: Profil d'antibiorésistance d'*Enterobacter sp* isolées d'ECBU

I.4.5.6. Profil de sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus*

Un totale de 3 souches de *S. aureus* ont été isolées. Nous avons constaté une très grande résistance de ses souches vis-à-vis à la pénicilline (100%). Les résultats de l'antibiogramme ont montré que toutes ces souches étaient sensibles (100%) à la vancomycine, la gentamicine, la rifamycine et le cotrimoxazole. On note également des taux faibles de résistance (33.3%) vis-à-vis la lévofloxacine, l'ofloxacine, la pristnamycine, l'oxacilline, l'érythromycine, la tétracycline, la clindamycine et l'acide fusidique

I.4.5.7. Profil de sensibilité des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

Les deux souches isolées de *Pseudomonas aeruginosa* sont totalement sensibles aux Gentamicine et Ciprofloxacine. Les deux souches était résistant vis-à-vis l'association Ticarcilline + acideclavulanique, Aztreonam et Ceftazidime.

I.4.5.8. Profil de sensibilité de la souche de *Streptococcus* groupe D

Le profil de résistance de la souche de Streptocoque a montré une sensibilité totale vis-à-vis la vancomycine, la rifampicine, la tecarcyline la pénicilline, la clindamycine, l'érythromycine et l'ampicilline.

I.4.5.9. Profil de sensibilité de la souche *Serratia marcescens*

Le résultat de l'antibiogramme d'une seule souche isolée a montré une sensibilité totale pour la gentamicine, sulfaméthoxazole, furane, amoxicilline et le ceftazidime alors que cette souche était résistante vis-à-vis le céfotaxime.

II. Caractéristiques des patients atteints d'infection purulente

Durant la période de notre stage, nous avons récolté 66 échantillons de pus. Nous considérons comme positifs, les prélèvements qui, après culture sur les différents milieux utilisés, montrent un développement bactérien. Parmi les 66 prélèvements de pus étudiés, 44 se sont avérés positifs, soit un taux de positivité de 66.7% alors que 22 prélèvements se sont révélés négatifs, soit un pourcentage de 33.3% (**Figure 29**).

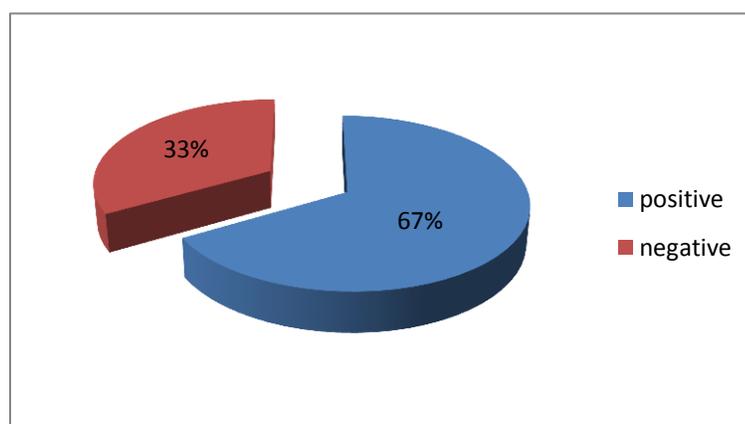


Figure 29: Répartition des prélèvements purulents selon les résultats de cultures

Nos résultats sont proches à ceux de Abu-Harirah *et al.*, (2020) ; Gupta *et al.*, (2019) et Anbalagan, *et al.*,(2017) soit un pourcentage de 54,53% ; 61,87% et 67.3% de cultures positives respectivement, mais sont supérieurs à ceux trouvés par Mahat *et al.*, (2017) avec un taux de 43.7% de cultures positives. Les cultures négatives s'expliquent soit par la présence des germes exigeants et qui ne poussent pas dans les milieux usuels notamment les germes anaérobiques, soit sont liées le plus souvent à un traitement antibiotique entrepris durant la période de prélèvement ou bien d'une suspicion d'infection qui n'a pas lieu.

II.1. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe

D'après les résultats de cette étude, le taux de prélèvements purulents positifs chez les patients de sexe masculin (56,8%) était supérieur à celui des patients de sexe féminin (43,2%) ($P>0.6$), avec un sexe ratio Homme/Femme de 1.3 (**Figure 30**).

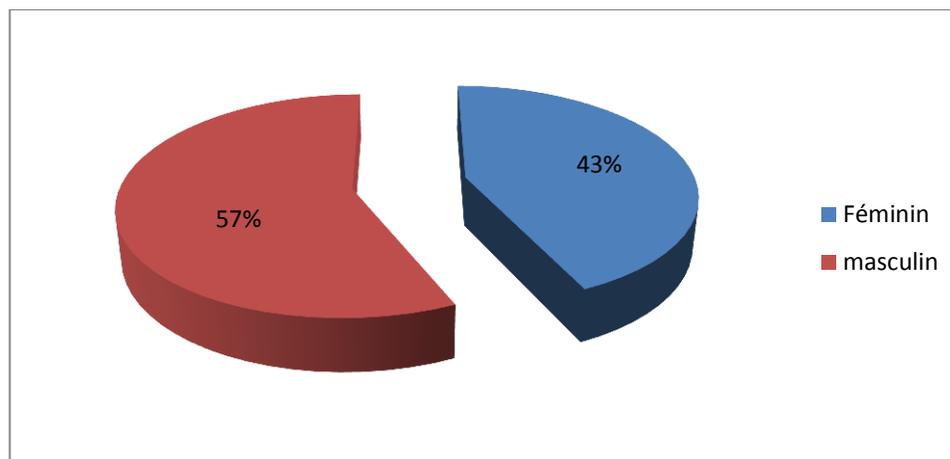


Figure 30: Répartition des prélèvements purulents positifs selon le sexe

Nos résultats diverge des résultats obtenu par Misha *et al.*, (2021), Gupta *et al.*, (2019) et Abu-Harirah *et al.*, (2020) rapportant une prédominance des infections purulentes chez le sexe féminin. Par contre, nos données sont en accord avec celles de Batatia et Daoudi (2016), Gomatheswari et Jeyamurugan (2017), et Shimekaw *et al.*, (2022) rapportant la dominance de sexe masculin pour les infection purulentes . Cette dominance de sexe masculin semble être due au fait que les hommes respectent moins l'hygiène que les femmes. Aussi, la multiplicité des facteurs de risque chez l'homme, représentés essentiellement par son activité particulière favorisant des microtraumatismes (Beldi *et al.*, 2019).

II.2. 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 (18.2%) que chez les adultes (81.8%) (**Figure 31**).

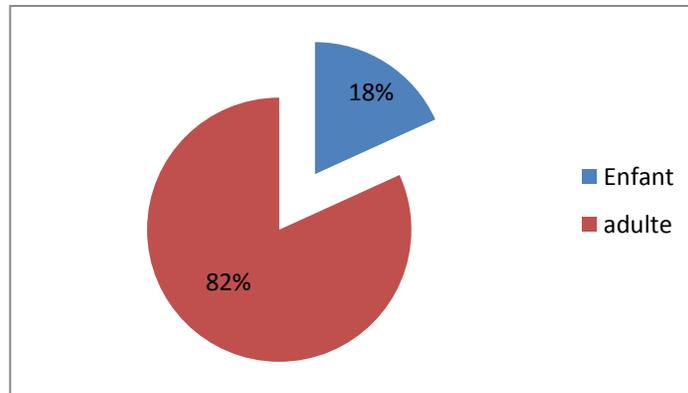


Figure 31: Répartition des prélèvements purulents selon l'âge

Selon Beldi *et al.*, (2019), la prédominance d'âge adulte est expliquée du fait que l'âge avancé est un facteur classique de risque. Ils ont tendance à ne pas faire du sport et sont moins engagés dans un régime alimentaire équilibré. Par contre, ils sont plus disciplinés avec la prise des médicaments. De plus, le taux élevé des infections purulentes chez les adultes peut être lié à l'altération physiologique de leur système immunitaire et les différentes pathologies chroniques associées (diabète, hypertension artérielle, obésité, immunodépression...) favorisant la survenue des infections.

II.3. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le service

Les prélèvements de pus reçus au niveau du laboratoire de microbiologie, provenaient des différents services de l'EPH de Kolea, et de quelques EPH de Blida (décrit comme externe). Les prélèvements externes présentaient le taux le plus élevé de positivité de pus avec un pourcentage de 40.9%, suivi par le service de chirurgie et le service de pédiatrie, avec des taux de 34.1% et 20.5% respectivement. La fréquence la plus faible a été enregistrée au niveau de service de médecine interne 4.5% (**Figure 32**). La différence des taux de positivité en fonction de service n'était pas statistiquement significative ($p=0.08$).

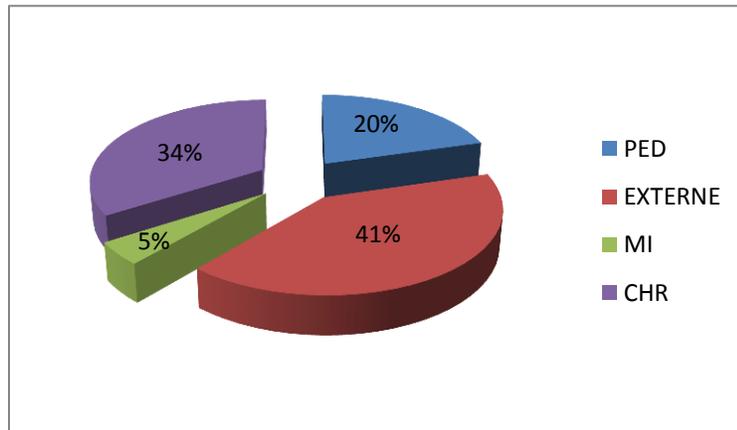


Figure 32: Répartition des prélèvements purulents selon le service

La prédominance de service chirurgicale pourrait s'expliquer par plusieurs facteurs : un séjour préopératoire prolongé, un traitement immunosuppresseur, une mauvaise préparation cutanée du champ opératoire et les conditions d'intervention au niveau de la salle d'opération.

II.4. Répartition des prélèvements purulents positifs selon le type de culture

L'analyse cyto bactériologique du pus nous a permis de classer les cultures en deux groupes : cultures monomicrobiennes avec un taux de 77.3% et cultures polymicrobiennes avec un taux de 22.7% (**Figure 33**).

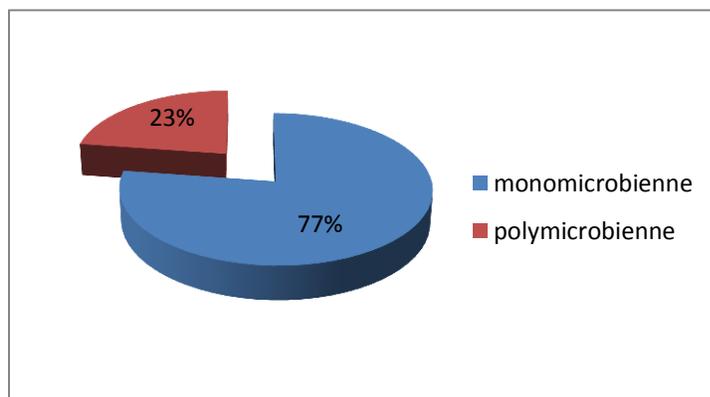


Figure 33: Répartition des prélèvements purulents selon le type de culture

Nos résultats sont en concordance avec ceux rapportée par **Verma, (2012)** et ceux retrouvés par **Amin et al., (2017)** qui ont trouvé des taux de 84.31% et 79.92% des cultures monomicrobiennes respectivement. Les cultures polymicrobiennes peuvent être issues de prélèvements effectués au niveau de zones superficielles qui sont donc contaminés directement par la flore commensale ou bien de prélèvements effectués au niveau de zones profondes communiquant avec des flores commensales qui peuvent contaminer le prélèvement. Le préleveur, les instruments, les salles et l’environnement hospitalier peuvent constituer également des sources de contamination de prélèvements.

II.5. Profil bactériologique des infections purulentes

II.5.1. Répartition des bactéries isolées de pus selon la coloration de Gram

Dans l’ensemble des cultures positives, nous avons isolé et identifié 57 germes. Les résultats illustrés dans la figure 34 indiquent que 63,16% du total des isolats sont des bactéries à Gram négatif alors que 36,84% sont des bactéries à Gram positif.

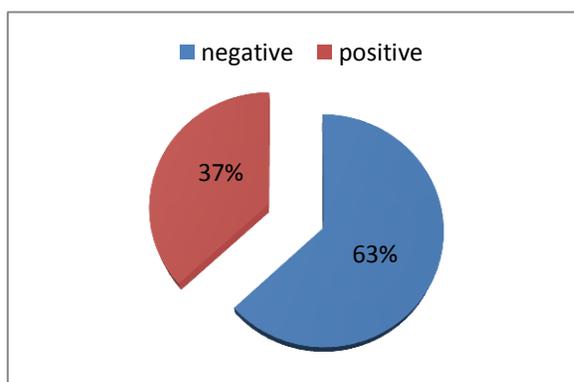


Figure 34: Répartition des isolats bactériens de pus selon la coloration de Gram

Nos résultats sont semblables à ceux de **Wadekar et al., (2020)** (61.38% Gram négatives et 38.62% Gram positif), **Bankar et al., (2018)** (51.97% Gram négatif et 47.36% Gram positif), **Mahat et al., (2017)** (71.82% Gram négatif et 28.18% Gram positif) et **Shama et al., (2018)** (89% Gram négatif et 11% Gram positif). Cette prédominance des bactéries à Gram négatif dans les infections purulentes pourrait être dû à la résistance élevée de ces bactéries par rapport aux isolats à Gram positif et donc à leur persistance dans les plaies infectées.

II.5.2. Répartition des bactéries isolées de pus selon le groupe bactérien

La répartition des souches isolées des prélèvements purulents selon le groupe bactérien montre que les entérobactéries sont les germes les plus incriminés avec un taux de 42,11% (24 souches), suivis par les staphylocoques avec un taux de 22,81% (13 souches), puis les Pseudomonas avec un taux de 21,05% (12 souches), suivi par les Streptocoques avec un taux de 12,28% (07 souches) et les enterocoques avec un taux de 1,75% (01 souche).

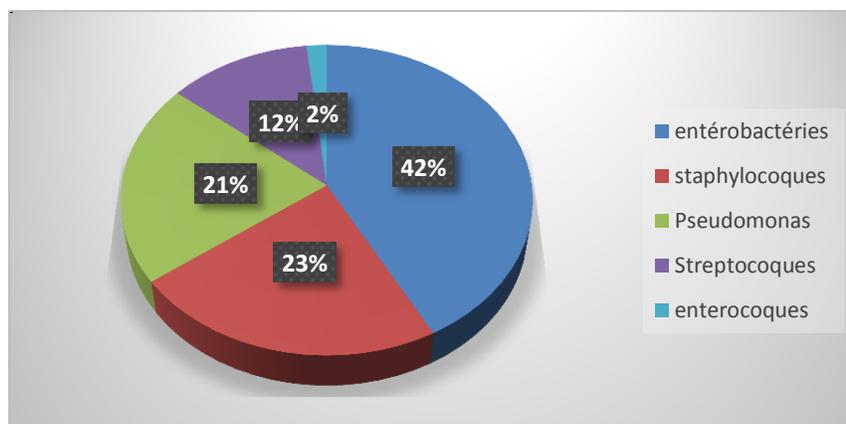


Figure 35: Répartition des bactéries isolées des prélèvements purulents selon le groupe bactérien

Nos résultats sont en concordance avec les résultats d'**Abu-Harirah et al., (2020)** et **Anbalagan et al., (2022)** qui ont montré une prédominance des entérobactéries suivi par les staphylococcus. Les entérobactéries constituent une très vaste famille qui représente près des trois quarts des isolements d'un laboratoire de bactériologie médicale (**Denis et al., 2007**). Les espèces de cette famille représentent la flore endogène de l'intestin. Elles sont à l'origine d'un grand nombre d'infections communautaires et d'infections nosocomiales (**Pilly et al., 2013**).

II.5.3. Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne

D'après les résultats de la répartition globale des différentes espèces isolées (Tableau 8), nous avons observé que *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus isolée représentant 22,81% (13 souches) ; suivie de *Klebseilla pneumoniae* avec 08 souches (14,03%), *Proteus mirabilis* avec 07 souches (12,28%) et *Pseudomonas aeruginosa* avec 06 souches (10,53%), puis *Escherichia coli* et *Pseudomonas spp* les deux avec un taux de 8,77% (05 souches). Les Streptocoques groupe D avec 04 souches (7,02%) et *Klebseilla oxytoca* avec 02 souches (3,51%). Les autres bactéries retrouvées dans les prélèvements purulents de notre

population étaient : *Chrysonomonas luteola*, *S.* groupe A,B,G , *Enterobacter*, *Serratia marcescens* avec un taux de 1.75% (01 souche).

Tableau 8: Répartition des bactéries isolées selon l'espèce bactérienne.

Famille/ genre		Espèce		Nombre (%)
Entérobactéries	24(42,11%)	<i>Escherichia coli</i>		05(8,77%)
		<i>Klebseilla</i>	<i>K.pneumoniae</i>	08(14,03%)
			<i>K. oxytoca</i>	02(3,5%)
		<i>Enterobacter</i>		01(1,75%)
		<i>Serratia marcescens</i>		01(1,75%)
		<i>Proteus mirabilis</i>		07(12,28%)
BGNNF	12(21,05%)	<i>P. aerugenosa</i>		06(10,53%)
		<i>P.spp</i>		05(8,77%)
		<i>Chrysonomonas luteola</i>		01(1,75%)
Streptococcus	07(12,28%)	<i>S. groupe A</i>		01(1,75%)
		<i>S. groupe B</i>		01(1,75%)
		<i>S. groupe D</i>		04(7,02%)
		<i>S. groupe G</i>		01(1,75%)
Staphylococcus	13(22,81%)	<i>S. aureus</i>		13(22,81%)

Dans notre étude, le pourcentage d'isolement des *S. aureus* est de 22,81%. Ce résultat est proche à celui rapporté par plusieurs études : **Kumar et al., (2020)** (26,29%), **Anbalagan et al., (2022)** (25,12%) et **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)** (18.5%). *Staphylococcus aureus* est un pathogène humain courant qui peut coloniser la peau, le nez et le pharynx avec des narines antérieures comme réservoir principal (**Ansari et al., 2019**). C'est la principale cause des infections de la peau et les tissus mous. Elle provoque une variété de ces infections, allant du bénin (impétigo) à la mort immédiate. Il s'agit de l'agent pathogène le plus couramment isolé des infections du site opératoire, des abcès cutanés et de la cellulite purulente (**Tonge et al., 2015**).

Klebsiella pneumonia présente un taux d'isolement de 14,03%. Ce taux est proche à celui trouvé par **Rao et al., (2017)** (12.15%), **Gomatheswari et Jeyamurugan, (2017)** (12.5%) et **Kumari et al., (2017)**

(9.6%). *Klebsiella pneumoniae* est un pathogène opportuniste, qui affecte principalement les personnes dont le système immunitaire est affaibli et tend à provoquer des infections nosocomiales. C’est une bactérie Gram négative qui réside dans l’environnement, y compris dans le sol et les eaux de surface et sur les dispositifs médicaux. Elle colonise facilement les surfaces muqueuses humaines, y compris le tractus gastro-intestinal et l’oropharynx, où les effets de sa colonisation semblent bénins. À partir de ces sites, les souches de *K. pneumoniae* peuvent pénétrer dans d’autres tissus et provoquer des infections graves chez l’homme tel que les abcès hépatiques (Paczosa et Meccas, 2016).

II.6. Profil de résistance des souches isolées de prélèvements purulents

II.6.1 Profil de résistance des *Staphylococcus*

Un totale de 13 souches de *S. aureus* ont été isolées de prélèvements purulents durant notre étude. Nous avons constaté une très grande résistance de ses souches vis-à-vis à érythromycine, céfoxitine, lincomycine. Les résultats de l’antibiogramme ont montré que toutes ces souches étaient sensibles à lévofloxacine, l’ofloxacine, ciprofloxacine et le cotrimoxazole.

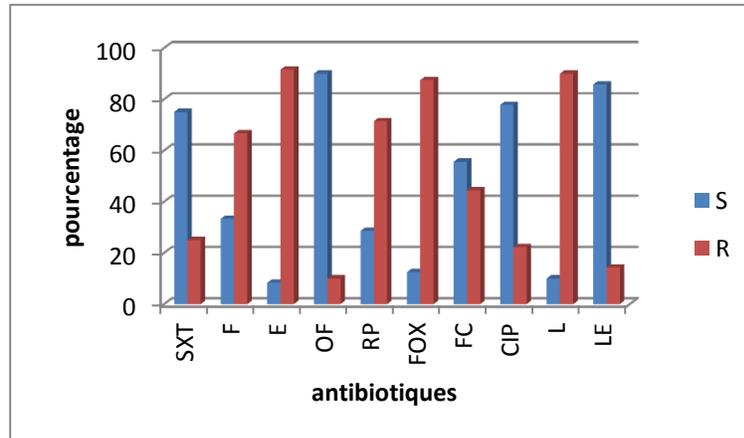


Figure 36: Profil d’antibiorésistance de *S. aureus* isolés de pus

II.6.2. Profil de résistance des Entérobactéries

➤ *Klebsiella pneumoniae*

Pour les 08 souches isolées, une sensibilité élevée vis-à-vis la gentamycine (GEN) (85,7%) a été notée. Par contre, une grande résistance a été enregistrée aux : furanes (F) (80%), amoxicilline (AMX) (100%), sulfaméthoxazole (SXT) (62.5%) ainsi que cefotaxime (CTX) (100%) et ceftazidime (CAZ) (100%).

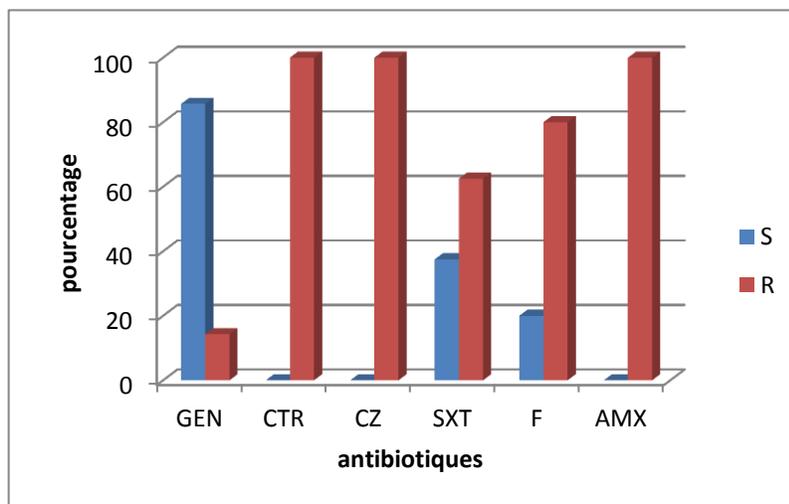


Figure 37: Profil d'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae* isolées de pus

➤ **Proteus mirabilis**

Pour les 7 souches de *Proteus mirabilis* isolées, l'antibiogramme a montré une résistance totale à l'Ampicilline, furanes, la Cefazoline et cefotaxime. Par contre, une sensibilité élevée était observée vis-à-vis gentamycine (GEN), plus au moins pour : Cotrimoxazole (SXT).

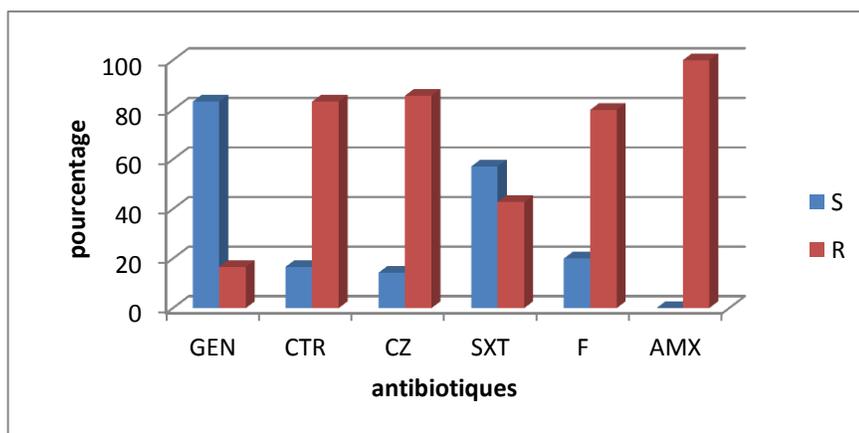


Figure 38: Profil d'antibiorésistance de *Proteus mirabilis* isolées de pus

➤ **Escherichia coli**

Pour les 5 souches isolées d'Escherichia coli, l'antibiogramme a montré une résistance élevée à l'Ampicilline (100%), Cefazoline (100%). Par contre, une sensibilité élevée vis-à-vis la gentamicine, colistine et furane (100%), plus au moins pour cefotaxime (60%) et Cotrimoxazole(60%).

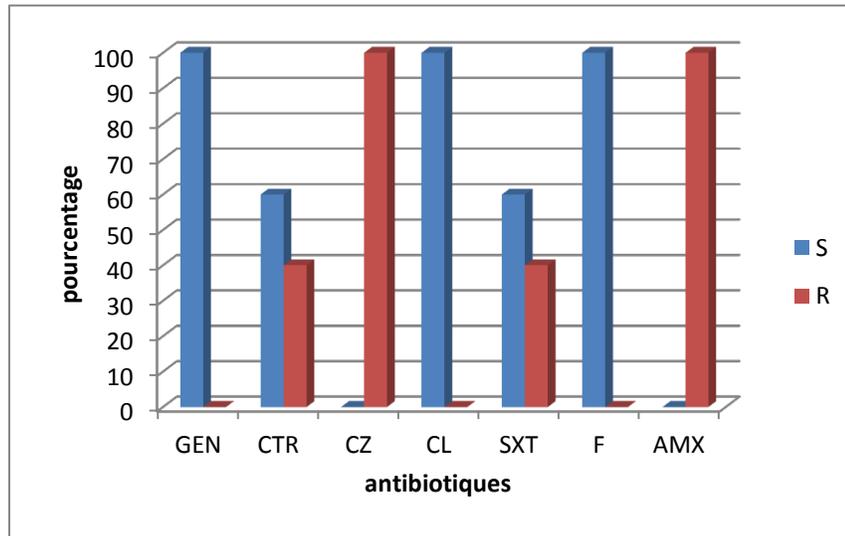


Figure 39: Profil d'antibiorésistance d'Escherichia coli isolées de pus

II.6.3. Profil de résistance des BGNNF

➤ **Pseudomonas aeruginosa**

Les 6 souches isolées de Pseudomonas sont totalement résistantes à ticarcilline + acide clavulanique et ceftazidime, ticarcilline et Aztreonam (100%). Par ailleurs, ces souches étaient sensibles vis-à-vis gentamicine , ciprofloxacine et tobramycine

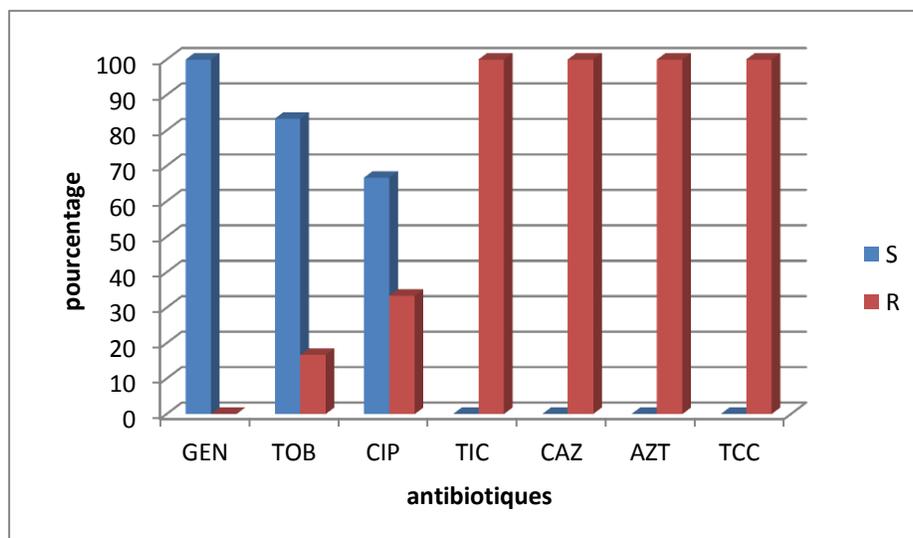


Figure 40: Profil d'antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa* isolées de pus

Nos résultats d'antibiogramme des bactéries isolées d'ECBU et de pus sont semblables avec les résultats obtenus par **Souilah et Mouzaoui (2017)**. *E. coli* est un germe qui est naturellement sensible à de très nombreux antibiotiques. L'émergence puis la diffusion de différents mécanismes de résistance acquise au sein de cette espèce limitent maintenant les indications d'un certain nombre d'antibiotiques de première intention. Selon nos résultats de l'antibiogramme, nous avons observé les souches *d'E.coli* montrent une résistance assez importante à l'Ampicilline et l'Amoxicilline. Ces résultats sont proches à ceux de **GonsuKamga et al., (2014)**. Cette résistance *d'E.coli* à l'Amoxicilline peut être expliquée par l'utilisation abusive et incontrôlée de ce type d'antibiotique avec ou sans avis d'un médecin. La résistance des souches pourrait s'expliquer par une baisse de l'activité de l'inhibiteur des beta-lactamases, résultante d'une hyperproduction de pénicillinases, ou de l'inactivation de l'inhibiteur lui-même.

Les céphalosporines (Céfalexine, Céfoxitine, Céfotaxime, Céftriaxone et Céftriaxime), les aminosides (Gentamicine) et les monobactames (Aztreonam) conservent en revanche une excellente activité sur *E. coli*.

On a noté une forte résistance à la Colistine suivi la Cefazoline et la Fosfomycine, qui peut être expliquée par le fait qu'en plus du mécanisme de résistance par production de pénicillinases et de bêta-lactamases, *Klebsiella* et *Proteus* secrètent une uréase qui alcalinise l'urine, dont le pH naturellement acide ce qui empêche la prolifération des germes.

La résistance totale des souches de *Staphylococcus aureus* qui a été enregistrée pour la pénicilline, est proche de celle trouvée par **Rao et al., (2014)**, **Khanam et al., (2018)**, **Benaouda-zaoui, (2013)** et **Btataia et Douadi, (2016)** avec des taux de 84.62%, 84.5%, 94% et 94.47% respectivement. Toutes les souches

isolées de *S. aureus* sont sensibles à la vancomycine, la rifampicine, sulfaméthoxazole, ce qui concorde avec les résultats trouvés par **Bâtai et Douadi, (2016)**. On note une sensibilité totale vis-à-vis la rifampicine, ce qui est proche des résultats trouvés par **Batatia et Daoudi (2016)** (93.45%) et **Benaouda-zaoui (2013)** (96%).

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolées dans notre étude montrent une sensibilité élevée vis-à-vis les antibiotiques testés. Nos résultats sont confirmés par le réseau algérien de la surveillance de la résistance bactérienne des antibiotiques, qui montre une sensibilité naturelle vis-à-vis la céftazidime, la colistine et la nétilmicine, et une sensibilité inconstante à la ticarcilline, lalévofoxacine, la tobramycine, la pipéracilline et à l'aztréonam.

P. aeruginosa possède plusieurs systèmes d'efflux à trois composants, dont certains confèrent une résistance aux β -lactames lorsqu'ils sont fortement exprimés. La surexpression confère une résistance à la ticarcilline, à l'aztréonam, au céfépime et au méropénem. *P. aeruginosa* héberge une céphalosporinase inductible de type AmpC qui peut être réprimée suite à des mutations dans le système de régulation. La résistance aux fluoroquinolones résulte de mutations dans les gènes codant pour la topoisomérase II et IV et / ou de l'hyper-expression des systèmes d'efflux (**Ruppé et al., 2015**).

Les Streptocoques montrent encore une bonne sensibilité à la plupart des médicaments. Ces résultats sont similaires à ceux de **Rao et al., (2014)** et **Khanam et al., (2018)**. La résistance aux Macrolides, Lincosamides, Streptogramines (MLS) peut être due à plusieurs mécanismes : la modification de cible causée par des ARNr méthylase, des mutations ciblant l'ARNr 23S ou acquisition d'efflux actif.

III. 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 représenté dans le Tableau 9.

Tableau 9: Répartition des bactéries multi-résistantes des les prélèvements urinaires et purulentes

Famille/ genre		Espèce		Type de BMR	Origine de prélèvement
Entérobactéries	64(55,17%)	<i>Escherichia coli</i>		entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE)	Urinaire 48 souches
		<i>Klebseilla</i>	<i>K.pneumoniae</i>		
			<i>K. oxytoca</i>		
		<i>Enterobacter</i>			
		<i>Serratiamarcescens</i>			
<i>Proteusmirabilis</i>					
BGNNF	11(84,61%)	<i>P.aeruginosa</i>		Des BGNNF producteurs de carbapénèmase	Urinaire absence
		<i>P.spp</i>			Purulente 11 souches
		<i>Chrysonomonasluteola</i>			
Staphylococcus	12(75%)	<i>S. aureus</i>		Staphylococcus aureus résistante a la métilicine (SARM)	Urinaire 3 souches
					Purulente 09 souches

III.1. Profil d'antibiorésistance des souches d'entérobactéries BLSE (BLSE)

Les 64 souches d'entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi se caractérisent par un taux de résistance élevé aux pénicillines et aux céphalosporines. Une résistance plus au moins élevée est notée pour le ceftazidime (88,7%) et furane (69.64%) (**Figure 41**).

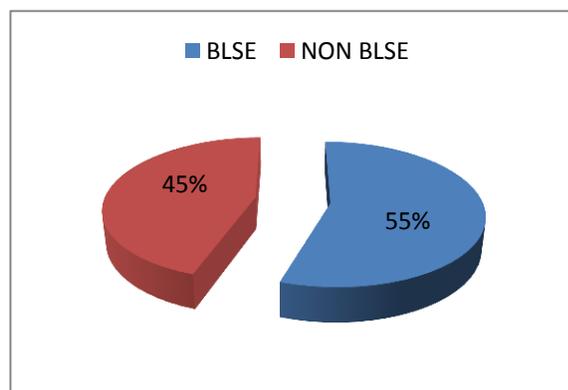


Figure 42: Production de BLSE chez les Enterobactériaceae.

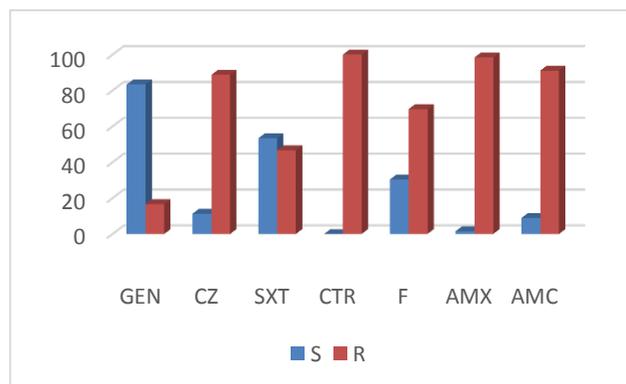


Figure 41: Profil d'antibiorésistance des souches d'EBLSE.

Le taux élevé de résistance à l'AMP/AMX (98,4%) peut être expliqué par le fait que de cette résistance est probablement due à la sécrétion d'une pénicillinase chromosomique, ou par une résistance acquise chez les autres souches.

La production de BLSE est notée chez 55% des souches d'entérobactéries, un taux relativement consistant avec celui obtenu par **Lachhab *et al.*, (2017)** (42,5%) et par **Sharma *et al.*, (2015)** (45,5%).

La résistance de ces souches aux céphalosporines (C1G et C3G) avec un taux élevé (88,7 et 100%), se rapprochent des données de **Mahrane et TaliMaamar (2018)** (81,4% et 73,1%) et de **Vasudevaet *al.*, (2016)** (83,4% et 66,7%).

III.2. Profil d'antibiorésistance des BGNNF producteurs de carbapénèmase

Les souches de BGNNF munies de carbapénèmase sont caractérisées par des taux de résistances très élevés à l'ensemble des ATB testés, sauf à la colistine pour lesquels l'activité n'a été testée que sur quelques souches, et la résistance été noté chez 33.33% des souches.

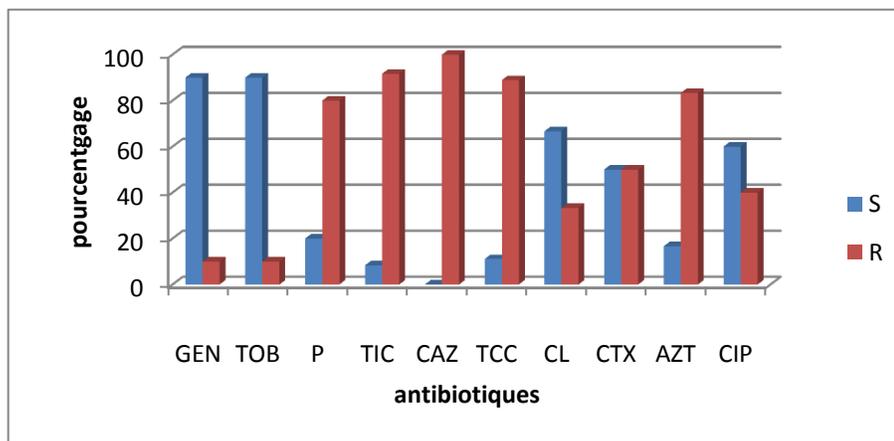


Figure 43: Profil d'antibiorésistance des BGNNF producteurs de carbapénèmase.

Les fluoroquinolones, CIP et l'aztréoname, sont les molécules les plus efficaces contre les souches de *Pseudomonas spp.* Isolées dans notre étude, avec un taux de sensibilité de 60%, ce qui est similaire de celui rapporté par **Baniket al., (2018)** (66,7% sensibles à la ciprofloxacine) et **Vasudevaet al., (2016)** (60% sensibles aux quinolone et 40% sensibles à l'aztréoname). Nous rapportons une résistance de 78.5% des souches de *Pseudomonas* aux autres β -lactamines (TIC, TCC, PIP, CAZ et IPM) et aux aminosides (AK, TOB, GM et NET) ce qui se rapproche des taux rapportés par **Baniket al., (2018)** (75% d'efficacité de l'imipénème et de la gentamycine).

III.3. Taux de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) et leur profil d'antibiorésistance

La résistance à la méticilline a été déterminée en utilisant le disque de céfoxitine, et a été notée chez 12 souches de *S. aureus* (25%). Ces souches se caractérisent par un taux très élevé de résistance aux β -lactamines, aux quinolones, à l'acide fusidique ainsi qu'à la kanamycine. Aucune résistance n'a été notée pour les glycopeptides et les macrolides et apparentés, ainsi que pour le chloramphénicol (**Figure 44**).

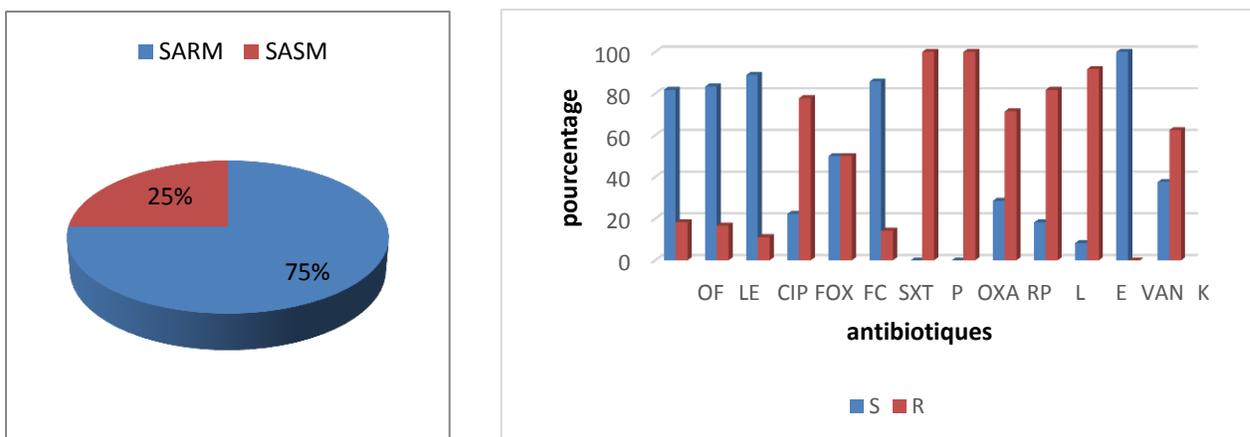


Figure 44: Taux des SARM et leur profil d'antibiorésistance.

Nos résultats sont proches aux résultats trouvés par **Batatia et Douadi, (2016)** (18%). Cette Résistance est due à l'acquisition d'une protéine de liaison à la pénicilline additionnelle « la PLP2a ». Les PLP sont des protéines possédant une activité enzymatique (transpeptidases, carboxypeptidases ou glycosyltransférases) impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne et possédant une affinité pour les β -lactamines.

La résistance à la méticilline, qui entraîne une résistance à toutes les β -lactamines, est déterminée par la présence d'un gène chromosomique (*mecA*) inclus dans un élément génétique mobile "la cassette staphylococcique" (SCC*mec* : staphylococcal cassette chromosome *mec*), ce gène code pour la PLP2a. Cette PLP additionnelle a moins d'affinité pour les β -lactamines et en particulier pour la méticilline (**Quincampoix et Mainardi, 2001**).

IV. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle de l'origan

IV.1. Rendement en huile essentielle

L'hydrodistillation de la partie aérienne sèche de la plante *Origanum vulgare* a permis d'obtenir un rendement en huile essentielle de **2.5 %**.

Nos résultats concordent avec ceux rapportés par **Bouhaddouda et al., (2016)** dont le rendement est estimé à 2.52% pour *O. vulgare* de la wilaya de Guelma. Cependant, ce taux est nettement supérieur à celui obtenu par **Mechergui et al., (2010)** indiquant que les parties aériennes de *O. vulgare* en Tunisie, ont un

rendement en huile essentielle de 0.1-0.7%. Il est aussi relativement supérieur à celui rapporté par **Derwich et al., 2018** au Maroc avec un rendement en huile essentielle de 1.1%.

D'après la littérature, cette variabilité de rendements en huile essentielle *O. vulgare* peut être due à divers facteurs :

- ✦ Le temps de l'hydrodistillation, la durée de séchage, le rapport Eau/Matière végétale et la température de chauffage (**Fadil et al., 2014**).
- ✦ Elle peut être liée, également, aux facteurs écologiques notamment climatiques (chaleur, froid, stress hydrique), facteurs géographiques (altitude, nature du sol, taux d'exposition au soleil) et génétiques (croisements naturels) (**Veres et al., 2003**).
- ✦ Différents types d'extraction des substances actives de la plante permettent d'obtenir différents taux de rendement.
- ✦ L'espèce végétale elle-même, l'organe végétal, le stade de la croissance, la période de
- ✦ Cueillette (floraison), la conservation du matériel végétal et le génotype.

IV.2. Résultats de l'étude analytique de l'huile essentielle

IV.2.1. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de l'origan

Les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle couleur, aspect, odeur ont été mentionné dans la Figure 45 et dans le Tableau 10.

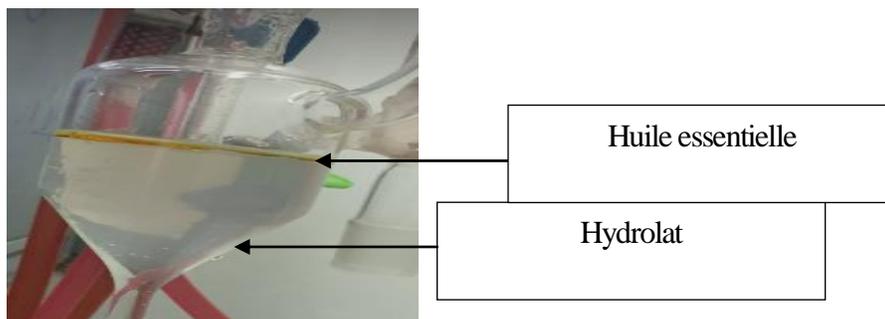


Figure 45: l'aspect de l'huile et hydrolat après hydrodistillation (Photo originale)

Tableau 10: caractéristiques organoleptiques de HE d'Origanum vulgare

Caractéristiques d'HE d'Origanum vulgare	Couleur	Aspect	Odeur
	Jaune très claire	Liquide mobile limpide	Aromatique herbacé et persistante de saveur piquante et d'odeur fortement aromatique.

Les propriétés physiques et organoleptiques sont considérées comme étant des critères de vérification et de contrôle de la qualité de l'HE. Nos résultats montrent que les paramètres organoleptiques de notre huile essentielle sont conformes aux normes AFNOR et ceux déterminées par la pharmacopée européenne 2005.

IV.2.2. Composition chimique de l'huile essentielle de l'origan

La composition qualitative et quantitative de l'huile essentielle de l'origan est consignée dans le **tableau 11**, par ordre d'élution et selon les familles chimiques. Le chromatogramme obtenu par l'analyse CG/SM de de l'huile essentielle de l'origan est représenté par **la figure 46**.

Notre étude a été axée sur les composés volatiles majoritaires de l'HE tandis que les molécules ayant des fragments de masse inférieure à 1% n'ont pas été rapportées. L'analyse de l'huile essentielle par CG/SM nous a permis d'identifier les principaux composants, dits majoritaires : Carvacrol (27,33%), 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl) (21,03%), p-Cymenene (20,09%), Thymol (19,09%),. L'analyse CG/SM a également révélé que certains composés sont présentés dans l'huile essentielle avec des quantités appréciables telles que : Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl) -(2.49 %), α -Terpinene (2.04%) et beta. -Pinene (1.10%).

Tableau 11: Composition chimique de l'HE d'Origanum vulgare identifiée par CG/SM

N° du composant	Temp de rétention	Nom de composant	Area %
1	13.084	beta. -Pinene	1.10
2	14.768	α -Terpinene	2.04
3	15.639	p-Cymenene	20.09
4	18.123	1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl) -	21.03
5	30.849	Benzene, 1-methoxy-4-methyl-2-(1-methylethyl) -	2.49
6	34.998	Thymol	19.01
7	35.905	Carvacrol	27.33

Nos résultats de l'analyse CG/SM sont proches de ceux rapportés par **Bouhaddouda et al., (2015)**, dont les principaux constituants de l'huile étaient le para-cymène (25.615%), le thymol (23.129 %), carvacrol (20.321%), Gamma-terpinène (16.612%) et l'alpha-terpinène (1.787%). Alors que **Amrouni et al. (2014)** ont rapporté une composition différente pour cette huile essentielle qui présentait 33.85% de carvacrol, 23.64% de thymol, 20.85% de para-cymène et 12.03% de γ -terpinene.

Les variations des compositions chimiques de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* peut être due à la zone géographique, l'emplacement ou l'environnement dans lequel pousse les plantes testées (**Guerra-Boone et al., 2015**). De plus, la différence entre les compositions chimique des HEs peuvent être dues aux variations des conditions de culture, ou à des modification structurelle ou physiologique de la plante causée par des facteurs environnementaux spécifiques (**Gong et al., 2014**). Ces variations des teneurs des huiles essentielles d'*Origanum vulgare* peuvent être attribuées à différents facteurs environnementaux prenant en compte que l'huile essentielle et sa composition quantitative et qualitative peut être influencée par les conditions climatiques (notamment le type de climat, l'altitude, le taux d'exposition au soleil), le type de sol, le stade de croissance de la plante en question, le moment de la récolte, la méthode d'extraction (**Bouhaddouda, 2016 ; Heni, 2016**) et le climat méditerranéen ou continental contient une grande quantité de phénols (**Arcila-Lozano, 2004**).

IV.3. Screening antibactérien de l'huile essentielle de l'origan

L'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*O. vulgare* extrait par hydro distillation au CRAPC, celui de son hydrolat ainsi que l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'*O. vulgare* commercial Zeitipharm ont

été évalué sur 23 souches bactériennes multirésistantes, par la méthode de diffusion du disque. 15 souches BMR ont été sélectionnées à partir des prélèvements urinaires et purulents alors que 8 souches BMR ont été aimablement fournies par le laboratoire de microbiologie de Kolea. Une dose de 10 µL /disque en HE ou en hydrolat a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne.

Les résultats obtenus en termes de zone d'inhibition sont illustrés dans le **tableau 12**. A noter que le diamètre de la zone d'inhibition compris le diamètre du disque (6 mm).

Tableau 12: Screening antibactérien de l'huile essentielle d'O. vulgare in vitro

Souches	HE (CRAPC) concentrée DZI (mm) (Charge 10 µl/disque)	HE concentrée (zeitipharm) DZI (mm) (Charge 10 µl/disque)	Hydrolat DZI (mm) (Charge 10 µl/disque)	Profil de résistance (R) / sensibilité (S)	Origine
<i>Escherichia coli</i> (S1)	25	24	8	S: F, GEN R: SXT, CZ, AMX, CTX	Urine
<i>Escherichia coli</i> (S2)	15	13	7	S: GEN R: AMX, CZ, CTX, SXT, AMC	Urine
<i>Escherichia coli</i> (S3)	26	20	-	S: SXT, F, GEN R: CTX, AMX, CZ	Pus
<i>Escherichia coli</i> (S4)	≥30	20	-	S: COT, C R: AMP, AMC, FOX, CN, CTX,	Urine
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S1)	21	19	9	S: SXT R: AMC, AMX, F, CZ, CTR	Urine

<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S2)	14	13	7	S: GEN R: CZ, CTX, F, AMX, SXT	Urine
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S3)	16	17	7	S: GEN, SXT R: CTX, AMX, CZ, F	Pus
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S4)	19	19	9	S: F R: CZ, CTX, AMX, SXT, GEN.	Pus
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S4)	08	07	-	S: GEN R: CZ, CTX, AMX, F, SXT, AMC	Pus
<i>Enterobacter cloacea</i> (S1)	20	17	7	S: SXT R: AMX, GEN, CTR, CZ, F	Urine
<i>Enterobacter cloacea</i> (S2)	12	24	9	S: F, AMC R: AMX, CZ, SXT, GEN, CTX, CIP, CL	Pus
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	-	-	-	S: CL, GEN, TAB, CIP R: CAZ, TIC, TCC, AZT, P	Pus
<i>Proteus mirabilis</i>	≥30	27	-	S: GEN, SXT R: CTX, AMX, CZ, F	Pus
<i>Chryseomonas luteola</i>	27	25	7	S: SXT, CL R: F, CZ, GEN, AMC, CTX, AMX, TIC, TCC, PI, AZT	Pus
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	25	6	S: RIF, TET, COT, FO R: P, OXA, FOX, GEN, AK, E, CL, L, SP, CIP, TEL.	Pus

<i>Enterococcus faecium</i>	28	21	9	S : AMP R : TE, VA, TEI, GEN, ST, CIP, LEV, E, RIF, FO, C	Pus
<i>Proteus Penneri</i>	21	18	6	S : AMP R : AMP AMC FOX CN CTX F TE GEN	Urine
<i>Streptococcus D</i>	11		8	S : CIP, RP R : AMP, TE, VA, TEI, GEN, ST, LEV, E, RIF, FO, C	Pus
<i>Morganella morganii</i>	25	21	9	S : GEN, SXT R : CTX, AMX, CZ, F	Urine
<i>Acinetobacter baumanii</i>	≥30	≥30	7	S : TIC, TCC R : CAZ, CTM, AZM, TOB, GMI, AK, CIP, PI, LE, IMP, CL	Urine
<i>Serratia marcescens</i>	13	13	9	S : GEN R : CTX, AMX, CZ, F, SXT	Urine
<i>Escherichia coli</i>	26	26	7	S : CIP R : AMP, AMC, FOX, CN, CTX, AT, COT, C, GMI, CIP, AK	Pus

(-) Aucune zone d'inhibition ; R : Résistant ; S : Sensible ; HE : Huile Essentielle ; DZI : Diamètre des Zones d'Inhibition en mm.

Nos résultats ont montré que plusieurs souches bactériennes responsables des infections urinaires et purulentes sont sensibles vis-à-vis l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare*, avec des diamètres de zone d'inhibition (DZI) variant entre 08 et 30 mm pour une quantité d'HE de l'organ extrait par hydrodistillation 10 µL/disque ; et entre 07 et 30 mm avec les disques imprégnés de 10 µL d'HE commercial Zeitipharm d'organ ; entre 06 et 09 mm avec les disques imprégnés de 10 µL de l'hydrolat d'organ.

D'après les résultats obtenus, nous avons remarqué que parmi les 23 souches isolées et testées, le diamètre de zone d'inhibition le plus important est de ≥ 30 mm. Ce diamètre est obtenu avec les trois souches de *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli* et *Acinetobacter baumanii* pour l'huile essentielle au CRAPC et un diamètre de ≥ 30 mm a été obtenu avec la souche *Acinetobacter baumanii* pour HE de Zeitipharm.

Les diamètres de zones d'inhibition oscillent entre (08 -28 mm) pour l'HE d'origan extrait par hydrodistillation. La souche *K. pneumoniae* était la souche la moins sensible avec un diamètre de 8 mm. Les autres souches (*Streptococcus D*, *Serratiamarcescens*, *E. Coli*, KP avec *Enterobacter cloacea*) étaient sensibles avec un diamètre entre 10 à 16 mm ; donc HE d'origan a une activité moyenne pour ces bactéries. En revanche, les souches (*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacea*, *Escherichia coli*, *Chryseomonas luteola*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecium*, *ProteusPenneri* , *Morganella morganii*, *Providencia*) sont extrêmement sensibles vis-à-vis l'HE d'origan avec un diamètre qui dépasse 16 mm. En ce qui concerne HE de zeitipharm, des diamètres de zones d'inhibition compris entre (07-27 mm) ont été notés.

Pseudomonas aeruginosa était la souche résistante pour les deux huiles (CRAPC et zeitipharm).

Par rapport à l'hydrolat, nos résultats révèlent que les diamètres des zones d'inhibition étaient entre (6-9 mm) pour toutes les bactéries testées. On peut donc constater que les bactéries sont moins sensibles à l'hydrolat par rapport aux huiles essentielles de l'*Origanum vulgare*. Les hydrolats sont sensibles aux développements des bactéries à cause de leur faible teneur en huile essentielle et à la présence de particule végétale mais l'intérêt principale des hydrolats sur le plan thérapeutique, c'est qu'ils sont beaucoup mieux tolérés que les huiles essentielles et bien que l'eau est la première source de contamination par les bactéries, ces hydrolats doivent être conservés précisément au frais, à l'abri de la lumière et de la chaleur.

Nos résultats concordent avec ceux de **Douhaddouda, (2016)** rapportant que les bactéries Grams négatif telles que *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC700603 sont les souches extrêmement sensibles à l'action de l'huile essentielle d'*origanum vulgare* avec des DZI variant entre 15-59 mm alors que *P. aeruginosa* ATCC 27853 était la souche la moins sensible. D'autre part, **Bejaoui et al., (2013)** ont montré que les HEs d'*Origanum vulgare* de Tunisie ont une grande activité antibactérienne contre *Escherichia coli* ATCC 8739 et *Staphylococcus aureus* ATCC6538. De plus, **Özkalp et al., (2010)** ont montré une activité antibactérienne importante des huiles essentielles d'origan contre la croissance d'*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae*.

D'autres études confirment nos résultats et rapportent que l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* possède un effet antibactérien contre la souche *Proteus mirabilis* (**Chaudhry et al., 2007**), la souche *Chryseomonas luteola* MU 65 (**Sarac et Ugur, 2008**) et vis-à-vis les souches *Acinetobacter baumannii*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii*, *Providencia rettgeri* et *Enterobacter cloacae* (**Kluga et al., 2017 ; De salivia et al., 2018 ; Vasconcelos et al., 2019**).

Plusieurs travaux rapportent que les huiles essentielles sont plus actives sur les bactéries Gram positives que sur les bactéries Gram négatives (**Derwich et al., 2010 ; Bari et al., 2010**). Cela est dû aux différences structurales entre les parois cellulaires. Chez les bactéries Gram positives, le peptidoglycane est très épais et associé à des protéines pariétales exposées et à des structures polyosidiques (acides lipoteichoïques et acides teichoïques). Par contre, chez les bactéries Gram négatives, le peptidoglycane est très fin et associé à une enveloppe externe complexe définissant un espace périplasmique. Cette membrane externe est une bicouche lipidique asymétrique hydrophobe constituée de phospholipides, de protéines (porines) et lipopolysaccharides. L'espace périplasmique est rempli d'enzymes qui dégradent les substances complexes pour qu'ils puissent traverser la membrane cytoplasmique, et inactivent les produits chimiques toxiques (antibiotiques) (**El harras et al., 2013**). Toutefois, notre étude ne révèle aucun lien apparent, ni aucune corrélation entre l'activité inhibitrice des essences aromatiques et la nature de la paroi bactérienne. Nous avons constaté dans notre étude une activité antibactérienne élevée contre les bactéries Gram positive et celles Gram négative.

D'après **EL-AMRI et al., (2014)**, l'activité biologique d'une huile essentielle est à mettre en relation avec sa composition chimique, les groupes fonctionnels des composés majoritaires et les effets synergiques entre ces derniers et les composés mineurs. Le mode d'action des huiles essentielles dépend en premier lieu du type et des caractéristiques des composants actifs, en particulier leur propriété hydrophobe qui leur permet de pénétrer dans la double couche phospholipidique de la membrane de la cellule bactérienne. Cela peut induire un changement de conformation de la membrane, une perturbation chémo-osmotique d'ions (K^+) et des cations comme H^+ ou dissipent le gradient ou bien d'autres chercheurs montrent que les constituants polaires de HE de l'*Origanum vulgare* agissant en synergie ou possédant des propriétés d'activités biologiques.

La résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* à l'huile testée n'est pas surprenante. En effet, cette bactérie possède une résistance aux agents biocides qui est en relation avec la nature de sa membrane externe (**Mann et al., 2000**). *P. aeruginosa* est un pathogène opportuniste associé à un grand nombre d'infections nosocomiales et communautaires. La pathogénicité de cette bactérie est due à la production de plusieurs facteurs de virulence intra et extracellulaires (**Rumbaugh et al., 1999**).

L'espèce *P. aeruginosa* est connue pour sa résistance intrinsèque aux agents antimicrobiens notamment les antibiotiques d'une part, et la structure de leurs membranes externes, particulièrement imperméables aux molécules hydrophobes (**Abi-Ayad et al., 2011**). La résistance des souches de *P. aeruginosa* est peut-être aussi due à leur capacité à former un biofilm (**Abi-Ayad et al., 2011**), qui est une

organisation complexe composée de différentes strates dans lesquelles les bactéries se retrouvent en conditions physiologiques spécifiques à leur situation.

IV.4. Résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB)

Les résultats des CMI et CMB obtenus de l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare* sur quelques bactéries multi-résistante sont représentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau 13: Résultats de la concentration minimale inhibitrice et bactéricide (CMI/CMB)

Les souches	CMI (µl/ml)	CMB (µl/ml)
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S1)	0,78	0,78
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (S2)	0,78	0,78
<i>Enterobacter cloacea</i>	0,78	6,25
<i>Proteus mirabilis</i>	0,78	0,78
<i>Escherichia coli</i> (S1)	0,78	1,56
<i>Escherichia coli</i> (S2)	1,56	1,56
<i>Escherichia coli</i> (S3)	0,78	0,78
<i>Escherichia coli</i> (S4)	0,19	0,78
<i>Escherichia coli</i> (S5)	0,19	0,78
<i>Acinetobacter baumannii</i>	0,19	0,78
<i>Morganella morganii</i>	0,19	0,19

Les résultats de notre analyse ont révélé que les souches BMR testées ont eu des CMI variant entre 0,19 et 1,56 µl/ml et des CMB variant entre 0,19 et 6,25 µl/ml. Plusieurs études, de part du monde, ont été réalisées pour évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de l'origan. Il a été démontré que l'huile essentielle de *O. vulgare* possède une activité antibactérienne avérée mais la quantité nécessaire pour inhiber les germes est variable selon les souches bactériennes (0,015 à 1,82 mg/ml) (H et al., 2010 ; De Silva et al., 2018 ; Vasconcelos et al., 2019).

En effet, il est difficile, voire problématique, de faire des comparaisons entre les valeurs de CMI des différentes publications. D'un côté, la composition chimique de l'huile essentielle de l'origan varie considérablement, en quantité et en qualité, entre les différents travaux, et de l'autre, les méthodes utilisées pour asseoir cette activité *in vitro* et le choix des germes étudiés diffèrent entre les études.

La plupart des méthodes utilisées ont été critiquées par plusieurs auteurs. Les notions des CMI et CMB ne sont pas définies d'une façon précise et universelle ; les auteurs ont exprimé les résultats avec différentes unités. Ces concentrations peuvent être exprimés en mg/ml, µl/ml ou en % (Vol/Vol), ce qui rend la comparaison des résultats entre eux difficile (**Hammer *et al.*, 1999 ; Oussou *et al.*, 2008**).

CONCLUSION

CONCLUSION

Notre travail a permis d'isoler et d'identifier les différentes espèces bactériennes incriminées dans les infections urinaires et purulentes, au niveau de l'EPH de Kolea, ainsi que leurs profils d'antibiorésistance ; à partir duquel on a sélectionné les BMR sur lesquelles on a évalué l'activité antibactérienne de HE d'*origanum vulgare*.

A la lumière des résultats obtenus, il en sort que :

- La prévalence des infections urinaires était 13.4% (98/733) avec une prédominance de sexe féminin (59.2%) et de sujet adulte (69.4%).
- Le profil bactériologique des IU est dominé par les entérobactéries avec un taux 93,87% dont *E. coli* en chef de file avec une fréquence de 58.16% suivie par *K. pneumonia*, et *K. oxytoca*.
- Parmi les 66 prélèvements de pus étudiés, 66.7% ce sont avérés positifs, principalement chez les patients de sexe masculin (56,8%) et adulte (81.8%).
- Le profil bactériologique des infections purulentes est dominé par les entérobactéries avec un taux de 42,11%, suivis par les staphylocoques avec un taux de 22,81%, puis les *Pseudomonas* avec un taux de 21,05%. Les espèces les plus isolées étaient *Staphylococcus aureus* (22, 81%) suivie de *Klebseilla pneumoniae* (14,03%), *Proteus mirabilis* (12,28%) et *Pseudomonas aeruginosa* (10,53%).
- L'analyse des résultats de l'antibiogramme des souches isolées dominés essentiellement par des entérobactéries a révélé que les Céphalosporines, les Monobactames et les aminosides étaient les antibiotiques les plus efficaces sur les différentes souches bactériennes isolées. En revanche, le niveau de résistance acquise aux antibiotiques devient plus élevé pour certains ATB notamment l'ampicilline et l'amoxicilline + acide clavulanique.
- L'extraction par hydrodistillation de l'huile essentielle d'*O. vulgare* a donné un rendement de 2.5%. L'analyse de l'huile obtenue par CG-SM a permis d'identifier les principaux composants, dits majoritaires : Thymol (19,09%), p-Cymenene (20,09%), 1,4-Cyclohexadiene, 1-methyl-4-(1-methylethyl) (21,03%), Carvacrol (27,33%).
- D'après les résultats du screening antibactérien, plusieurs souches bactériennes responsables des infections urinaires et purulentes se sont avérées sensibles vis-à-vis l'huile essentielle de l'*Origanum vulgare*, avec des diamètres de zone d'inhibition (DZI) variant entre 08 et 30 mm pour une quantité

d'HE de l'origan extrait par hydrodistillation de 10 µL/disque et entre 07 et 30 mm avec les disques imprégnés de 10 µL d'HE commercial Zeitipharm d'origan. et entre 06 et 09 mm avec les disques imprégnés de 10 µL de l'hydrolat d'origan.

- L'hydrolat d'*origanum vulgare* possède une activité antibactérienne faible vis-à-vis toutes les souches testées dont le diamètre des zones d'inhibition oscille entre 06 à 09 mm.
- Les résultats de notre étude ont révélé que les souches BMR testées ont eu des CMI variant entre 0,19 et 1,56 µl/ml et des CMB variant entre 0.19 et 6,25 µl/ml.

L'huile essentielle de l'origan paraît être une solution naturelle et efficace dans la lutte contre les BMR et pourra faire partie intégrante de l'arsenal thérapeutique anti-infectieux. Reste à confronter ces résultats avec les études toxicologiques *in vivo* de cette huile essentielle.

Comme perspective, il serait intéressant :

- ✚ Tester des quantités croissantes (20, 40 et 60 µL) d'HE par disque, séparément afin d'apprécier l'action inhibitrice "dose dépendante" de l'HE de l'origan.
- ✚ Tester les composés purs de l'HE de l'origan vis-à-vis les bactéries multi-résistantes et d'apprécier l'effet synergie-antagonisme entre les différents constituants majoritaire et minoritaire.
- ✚ Faire d'autres études sur l'hydrolat d'*origanum vulgare* pour des usages externes ou cosmétiques (gel antiseptique).

Les résultats de cette courte étude nous incitent à proposer quelques recommandations :

- * Renforcement de l'application des mesures d'hygiène.
- * Sensibiliser la population à éviter l'automédication des antibiotiques qui constitue un risque des échecs thérapeutiques et facilite l'émergence des résistances bactériennes.
- * Mettre en place un réseau de surveillance des bactéries multi-résistantes

**Références
bibliographiques**

Références bibliographiques

Abi-Ayad, M., Abi-Ayad, F.Z., Lazzouni, H.A. and Rebiahi, S.A. (2011). Antibacterial activity of *Pinus halepensis* essential oil from Algeria (Tlemcen). *J. Nat. Prod. Plant Resour.* 1 (1): pp. 33-36.

Abu-Harirah, H.A. et al. (2020) 'Multidrug Resistant Bacterial Profile and Patterns for Pus Isolates and Recurrent Wound Infections in Nongovernmental Hospitals of Jordan', *Journal of Pharmaceutical Research International*, pp. 54–62. Available at: <https://doi.org/10.9734/jpri/2020/v32i4231054>.

Alekseeva, M. et al. (2020) 'Origanum vulgare L. – a review on genetic diversity, cultivation, biological activities and perspectives for molecular breeding', p. 15.

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.

Amrouni, S. et al. (2014) 'Effet de l'huile essentielle d'*Origanum vulgare* et de *Thymus ciliatus* sur *Pseudomonas aeruginosa* VIM-2 carbapénèmase', *Phytothérapie*, 12(5), pp. 309–313. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0842-x>.

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', p. 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.

Bacteriological Profile of PUS/ WOUND SWAB and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus Aureus* Isolated from PUS & WOUND SWAB of Indoor Patients of Tertiary Care Hospital, Durg, Chhattisgarh India. *International Journal of Innovative Research in Medical Science* , 3 (4):2455-8737.

Bankar, N., Wankhade, A., Brahmane, R., Hathiwal, R., Chandi, D. (2018).

Banik, A., Bhat, S. H., Kumar, A., Palit, A., Sneha, K. (2018). Bloodstream infections and trends of antimicrobial sensitivity patterns at Port Blair. *Journal of Laboratory Physicians.* 10:332-7.

Barrier Letertre C. 2014. Infections urinaires chez les personnes âgées, Thèse de Docteur en Pharmacie, Université Angers, Rennes.

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.

Bejenaru, C. et al. (2017) 'Natural products used for food preservation', in *Food Preservation*. Elsevier, pp. 365–411. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-804303-5.00011-0>.

BELDI, nadia and **BOURICHA**, M. (2019) 'ETUDE PROSPECTIVE DE PROFIL BACTERIOLOGIQUE DES INFECTIONS DU PIED DIABETIQUE DANS LA REGION DE OUARGLA (SAHARA, ALGERIE)'.

Belyagoubi L,2006. Effet de quelques essences végétales sur la croissance des moisissures des détériorations des céréales. Thèse de doctorat. P41.

BEJAOUI A.,CHAABANE H., JEMLI M., BOULILA AN., BOUSSAID M.(2013)-essential oil composition and antibacterial activity of origanum vulgare

Bendahou M.,Muselli A., Dubois M.G., Benyoucef M ., Desjorbet J.M. , Bernandini A.F., Costa J.(2008). Antimicrobien activity and chemical composition of origanum glandulosum Desf. Essentialoil and extractobtained by microwave extraction: comparison with hydrodistillation. Food chemistry 106 :132-139.

BOUHADDOUDA N. AOUADI S., LABIOD R.,(2016)-evaluation of chemical composition and biological activities of essential oil and methanolic extract of origanum vulgare l. ssp. glandulosum (desf.) from Algeria ., international journal of pharmacognosy and phytochemical research., 8(1),104-112p.

CAILLAUD M A.(2013)-étude de l'espèce Origanum vulgare L ,thèse doctorant .

Caron, F. et al. (2018) 'Practice guidelines for the management of adult community-acquired urinary tract infections', *Médecine et Maladies Infectieuses*, 48(5), pp. 327–358. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.03.005>

Chaudhry, N.M.A., Saeed, S. and Tariq, P. (no date) 'ANTIBACTERIAL EFFECTS OF OREGANO (ORIGANUM VULGARE) AGAINST GRAM NEGATIVE BACILLI', p. 5.

Chishti, S., Kaloo, Z.A. and Sultan, P. (2013) 'Medicinal importance of genus Origanum: A review', p. 8.

Costa, A.C. da et al. (2009) 'Antibacterial activity of the essential oil of Origanum vulgare L. (Lamiaceae) against bacterial multiresistant strains isolated from nosocomial patients', *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 19, pp. 236–241. Available at: <https://doi.org/10.1590/S0102-695X2009000200010>.

Denis, F., Ploy, M.-C., Christian, M., Bingen, É., Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale: techniques usuelles, Elsevier Masson, paris.

Derwich E., Benziane Z. & Taouil R., (2010). GC/MS analysis of volatile compounds of the essential oil of the leaves of Mentha pulegium growing in Morocco. Chem. Bull."POLITEHNICA" Univ. (Timisoara). 55(69): 103-106.

De Silva, B. et al. (2018) 'Comparative in vitro efficacy of eight essential oils as antibacterial agents against pathogenic bacteria isolated from pet-turtles', *Veterinárni Medicína*, 63(No. 7), pp. 335–343. Available at: <https://doi.org/10.17221/142/2017-VETMED>.

Dubois J., Mitterrand H etDauzat A. 2006. Dictionnaire étymologique et historique du français. Larousse.

EFSA Panel on Additives and Products or Substances used in Animal Feed (FEEDAP) et al. (2019) 'Safety

and efficacy of an essential oil from *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* (Link) Ietsw. for all animal species', *EFSA Journal*, 17(12). Available at: <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2019.5909>.

Elliott, T., Casey, A., Lambert, P.A., Sandoe, J. (2012). *Lecture Notes: Medical Microbiology and Infection*. Wiley, Edition 2. 288p.

Fadil, M., Farah A., Ihssane, B., Haloui, T., Rachiq, S. (2014). *Int. J. Innov. Appl. Stud.*, 8 (2014) 372.

FIGUEREDO G.(2007)- Etude chimique et statistique de la composition d'huiles essentielles d'origans (Lamiaceae) cultivés issus de graines d'origine méditerranéenne., thèse doctorat ., Université Blaise Pascal.

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 Current Microbiology and Applied Sciences*, 6 (10):1405-1413.

GONG HY., LIUD WH., LV GY., ZHOUE X.(2014)-Analysis of essential oils of *origanum vulgare* from six production areas of china and pakistan *sociedade brasileira deFarmacognosia* (24)., 25-32p.

Gonsu Kanga 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*. P : 2-4.

Govindarajan, M., Rajeswary, M., Hoti, S. L. & Benelli, G. (2016). Larvicidal potential of carvacrol and terpinen-4-ol from the essential oil of *Origanum vulgare* (Lamiaceae) against *Anopheles stephensi*, *Anopheles subpictus*, *Culex quinquefasciatus* and *Culex tritaeniorhynchus* (Diptera: Culicidae). *Research in Veterinary Science*, 104, 77-82

GUERRA-BOONE L., ALVAREZ-ROMÁN R., SALAZAR-ARANDA R.(2015)-antimicrobial and antioxidant activities and chemical characterization of essential oils of *thymus vulgaris*, and *origanum majorana* from northeastern méxico ., *pak. j. pharm. sci.*, 28(1), 363-369 p.

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', p. 4. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2019.e02956>.

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. P : 348.

Hans W K. 2007. 1000 plantes aromatiques et médicinales. Terre édition. 223- 336 P. ISBN 978-2-35530-003-5

Hollenbach, C.B. et al. (2015) 'Reproductive Toxicity Assessment of *Origanum vulgare* Essential Oil on Male Wistar Rats', *Acta Scientiae Veterinariae.*, p. 7.

- Ietswaart, J.H.** (1980). A taxonomic revision of the genus *Origanum* (Labiatae). LaHague: Leiden University Press
- Ishrat, A., Sharma, S.S. and Choudhary, S.** (2022) ‘The burden of recurrent urinary tract infections in patients attending a tertiary care hospital in Northern India’, 11(1), p. 5.
- 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*. *Pharmacologyonline* 3. P : 1025.
- Janani, K. et al.** (2019) ‘Chemical constituent, minimal inhibitory concentration, and antimicrobial efficiency of essential oil from *oreganum vulgare* against *Enterococcus faecalis*: An in vitro study’, *Journal of Conservative Dentistry : JCD*, 22(6), pp. 538–543. Available at: https://doi.org/10.4103/JCD.JCD_80_19.
- Khanam, R.A., Rafiqul Islam M., Sharif A, Parveen R., Sharmin I., Yusuf M.A.** (2018). Bacteriological Profiles of Pus with Antimicrobial Sensitivity Pattern at a Teaching Hospital in Dhaka City. *Bangladesh Journal of Infectious Diseases*, 5(1): 11-13.
- Kim, S. I., Yoon, J. S., Jung, J. W., Hong, K. B., Ahn, Y. J. & Kwon, H. W.** (2010). Toxicity and repellency of *origanum* essential oil and its components against *Tribolium castaneum* (Coleoptera: Tenebrionidae) adults. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 13(4), 369-373.
- Kluga, A. et al.** (2017) ‘Antibacterial Activity of *Melissa officinalis* L., *Mentha piperita* L., *Origanum vulgare* L. and *Malva mauritiana* against Bacterial Microflora Isolated from Fish’, *Advanced Research in Life Sciences*, 1(1), pp. 75–80. Available at: <https://doi.org/10.1515/arls-2017-0013>.
- Kumar, M. et al.** (2020) ‘Bacterial Profile and Antibiogram of Pus Isolates in a Tertiary Care Hospital’, p. 7.
- Kumari, P. H., Rani, P. U., Vijayalakshmi, P.** (2018). Evaluation of microbiological profile and antibiogram of aerobic bacteria isolated from pus samples. *Journal of Medical & Allied Sciences*, 8 (1):2 6 - 3 5.
- Larabi K., Masmoudi A., 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*.Vol 33. P : 351.
- Lachhab, Z., Frikh, M., Maleb, A., Kasouati, J., Doghmi, N., Ben Lahlou, Y., Belefquih, B., Lemnouer, A., Elouennass, M.** (2017). Bacteraemia in Intensive Care Unit: Clinical, Bacteriological, and Prognostic Prospective Study. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*. 2017(9).
- Llana-Ruiz-Cabello, M. et al.** (2017) ‘A subchronic 90-day oral toxicity study of *Origanum vulgare* essential oil in rats’, *Food and Chemical Toxicology*, 101, pp. 36–47. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.01.001>.
- Licciardello, F., Muratore, G., Suma, P., Russo, A. & Nerin, C.** (2013). Effectiveness of a novel insect repellent food packaging incorporating essential oils against the red flour beetle (*Tribolium castaneum*). *Innovative Food Science & Emerging Technologies*, 19, 173-180.

Lombrea, A. et al. (2020) 'A Recent Insight Regarding the Phytochemistry and Bioactivity of *Origanum vulgare* L. Essential Oil', *International Journal of Molecular Sciences*, 21(24), p. 9653. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms21249653>.

Lukas, B. et al. (2008) 'Essential Oil Compounds of *Origanum Vulgare* L. (Lamiaceae) from Corsica', *Natural product communications*, 3, pp. 1127–1131. Available at: <https://doi.org/10.1177/1934578X0800300717>.

Machu A. 2009. *Origan vulgaire*. Ed. Faculté libre des sciences et technologies. p: 6.

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).

Mahrane, S. et Tali Maamar, H. (2018). Profils de sensibilité et de résistance des bactéries isolées d'hémocultures. In : Réseau Algérien de Surveillance de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (AARN), 18ème Rapport d'évaluation Surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques, Edition 2018.

MECHERGUI K ., JAOUADI W., COELHO J., SERRA M.C ., KHOUJA M.L .(2015)-biological activities and oil properties of *origanum glandulasum* desf . ,lavoisier .,2-8 p.

Misha, G., Chelkeba, L. and Melaku, T. (2021) 'Bacterial profile and antimicrobial susceptibility patterns of isolates among patients diagnosed with surgical site infection at a tertiary teaching hospital in Ethiopia: a prospective cohort study', *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1), p. 33. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12941-021-00440-z>.

Nasr, M., Sendi, J. J., Moharramipour, S. & Zibae, A. (2017). Evaluation of *Origanum vulgare* L. essential oil as a source of toxicant and an inhibitor of physiological parameters in diamondback moth, *Plutella xylostella* L. (Lepidoptera: Pyralidae). *Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences*, 16(2), 184-190.

Paczosa MK., Meccas J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiol Mol Biol Rev.* 80(3):629-61.

Pezzani, R., Vitalini, S. and Iriti, M. (2017) 'Bioactivities of *Origanum vulgare* L.: an update', *Phytochemistry Reviews*, 16(6), pp. 1253–1268. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11101-017-9535-z>.

Quincampoix, J. C. et Mainardi, J. L. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif. *Réanimation.* 10: 267-275.

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.

Rumbaugh, K.P., Griswoldt, R.T., Hamood, N. (1999). *Pseudomonas aeruginosa* strains obtained from patterns with tracheal uJiny tract and infection variation in virulence factors and virulence. *J of Hospital Infection.* 43: 211 -218.

Ruppé, É., Woerther, P.L., Barbier, F. (2015). Mechanisms of antimicrobial resistance in Gram-negative bacilli. *Annals of Intensive Care*, 2(21): 2-15.

Sahin F., Gulluce, M., Daferera, D., Sokmen, A., Sokmen, M., Polissiou, M., Agar, G. et Ozer, H. (2004). Biological activities of the essential oil and méthanol extract of *Origanum vulgare* sp. vulgare in the Eastern Anatolia region of Turkey. *Food control* .15 :549-557.

Sarac, N. and Ugur, A. (2008) ‘Antimicrobial Activities of the Essential Oils of *Origanum onites* L., *Origanum vulgare* L. Subspecies *hirtum* (Link) Ietswaart, *Satureja thymbra* L., and *Thymus cilicicus* Boiss. & Bal. Growing Wild in Turkey’, *Journal of Medicinal Food*, 11(3), pp. 568–573. Available at: <https://doi.org/10.1089/jmf.2007.0520>.

Shama, M., Murugesan, K., Vijayan, H., (2018). Isolation Identification and Antibiotic Sensitivity Pattern of Pyogens from Pyogenic Pathogens. *Biomed Pharmacol.*; 11(1):463–8.

Sharma, R., Sharma, R., Gupta S. (2015). Bacteriological Analysis Of Blood Culture Isolates With Their Antibiogram From A Tertiary Care Hospital. *International journal of pharmaceutical science and reaserch*. 6(11): 4847-4851.

Shields, R.K. et al. (2021) ‘Burden of illness in US hospitals due to carbapenem-resistant Gram-negative urinary tract infections in patients with or without bacteraemia’, *BMC Infectious Diseases*, 21(1), p. 572. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06229-x>.

Shimekaw, M., Tigabu, A. and Tessema, B. (2022) ‘Bacterial Profile, Antimicrobial Susceptibility Pattern, and Associated Risk Factors Among Patients With Wound Infections at Debre Markos Referral Hospital, Northwest, Ethiopia’, *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 21(2), pp. 182–192. Available at: <https://doi.org/10.1177/1534734620933731>.

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.

Vasconcelos, N.G. et al. (2019) ‘*Origanum vulgare* L. essential oil inhibits the growth of carbapenem-resistant gram-negative bacteria’, *Revista da Sociedade Brasileira de Medicina Tropical*, 52. Available at: <https://doi.org/10.1590/0037-8682-0502-2018>.

VASUDEVA P ., VASUDEVA N.(2015)-*Origanum majorana* L. phyto-pharmacological., *Indian journal of Natural Products and Resources.*,6(4),261-267p.

Vasudeva, N., Nirwan, P. S., Shrivastava, P. (2016). Bloodstream infections and antimicrobial sensitivity patterns in a tertiary care hospital of India. *Therapeutic Advances in Infectious Disease*. 3(5) : 119– 127.

Veres, K., Varga, E., Dobos, A., Hajdu, Zs., Mathe, I., Nemeth, E., Szabo. (2003). Investigation of the composition and stability of the essential oils of *Origanum vulgare* ssp., *vulgare* L., and *O.vulgare* ssp.Hitus (Link) Ietswaart. *Chromatographia*. 57 (12), 95-98.

Verma, P. (2012). A study on isolation of different type of bacteria from pus. *International Journal Of Pharmacy & Life Sciences* , 3 (11), 2107-2110.

Wadekar, M., Sathish, J., Pooja, C. (2020). Bacteriological profile of pus samples and their antibiotic susceptibility pattern. *Indian Journal of Microbiology Research*, 7 (1):43–47.

Annexe 01 : Matériel biologiques

❖ **Urine**



Figure 01 : Poches urinaires



Figure 02 : Flacon urinaire

❖ **Pus**



Figure 03 : Ecouvillon sans et avec milieu d'enrichisse-



Figure 04 : Seringue

❖ **Matière végétale**

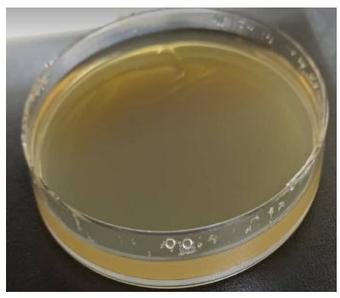
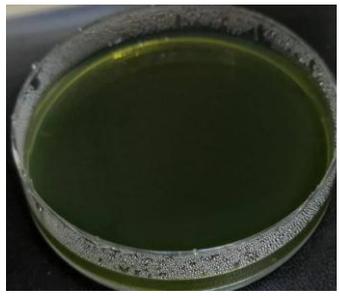


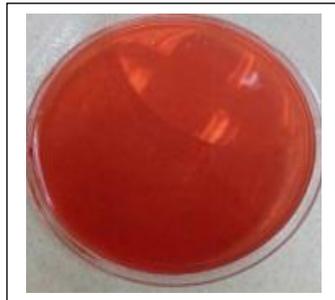
Figure 05 : matière végétale séchée et émiettée

Annexe 02 : Matériel non biologique

✓ Milieux de culture

Tableau I : Milieux solides.

Milieux de culture	Composition chimique (pour 1L)	Intérêt d'utilisation
<p>La gélose nutritive</p> 	<p>-Peptone 5 g - Extrait de viande1g - Extrait de levure2 g - Chlorure de sodium... 5g - Agar agar..... 15g -PH7.4</p>	<p>Milieu d'isolement non - sélectif des germes non exigeant.</p>
<p>Milieu Hektoen</p> 	<p>-Extrait de levure..... 3g -Protéase de peptone..... 12g -Lactose..... 12g -Saccharose..... 12g -Salicine......2g -Citrate ferrique1,5g -Fuschsine acide 0,1g -Bleu de promothymol0,065g -Chlorure de sodium5g -Thiosulfate de sodium.....5g -Sels biliaires9g -Agar 14g -Ph7.5</p>	<p>Milieu sélectif pour l'isolement et différenciation des bacilles Gram (-) entéropathogènes (BGN).</p>
<p>Gélose au sang Frais</p> 	<p>La gélose au sang frais, est Constituée d'une base nutritive non sélective à laquelle a été ajoutée 5% de sang frais. ✦ La gélose de base au sang et de la composition suivante :</p> <p>- Protéase peptone.....15 g - Extrait de foie.....2,5 g - Extrait de levure.....5 g - Chlorure de sodium.....5 g - Agar.....12 g - pH = 7,4 ± 0,2</p>	<p>Isolement et identification de certaines bactéries exigeantes par exemple les Streptococcus Neisseria meningitidis, les corynébactéries et bien sûr toutes les bactéries non exigeantes, et permet de Mettre en évidence le pouvoir hémolytique de certaines bactéries (hémolyse alpha et bêta)</p>

<p>Gélose au sang cuit</p> 	<p>La gélose au sang cuit possède les Mêmes éléments cités précédemment pour la gélose au sang frais sauf que les 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</p>	<p>Milieu d'enrichissement pour les germes exigeants</p>
<p>Gélose Muller-Hinton (MH).</p> 	<p>Infusion de viande de bœuf.....300ml Peptone de caséine..... 7,5g Amidon de maïs.....1,5g Agar.....10g pH=7,4</p>	<p>Milieu non sélectif, cette gélose est couramment utilisée pour les tests de sensibilité aux antibiotiques, Pour les bactéries exigeantes, comme, par exemple, les Streptococcus, utilise MH additionné au sang.</p>
<p>Milieu Chapman</p> 	<p>-Peptone.....10g -Extrait de viande de bœuf...1g -Chlorure de sodium.....75g -Mannitol.....10g -Rouge de phénol.....0.025g -Agar.....15g Ph=7.5</p>	<p>Le milieu Chapman est un milieu sélectif pour staphylococcus, surtout utilisé en microbiologie médicale, permettant la croissance des germes halophiles.</p>
<p>Gélose MacConkey</p> 	<p>-Peptone..... 20g -sels biliaires1g -Cristal violet.....0,001g - Lactose 10g -Rouge neutre.....0.05g -Chlorure de sodium.....5g</p>	<p>Sélectif des gram négatif</p>

<p>La gélose BEA (bile esculine azide)</p>	<ul style="list-style-type: none"> -Tryptone.....17g -Peptone pepsique de viande. ...3 g -Extrait de levure.....5g -Bile de bœuf déshydratée.....10 g -Azide de sodium.....0,25 g -Esculine.....1g -Citrate ferrique ammoniacal.. 0,5 g - Citrate de sodium.....1g 	<p>La gélose BEA est un milieu d'isolement sélectif, utilisé pour la recherche des Enterococcus et Streptococcus du groupe D.</p>
<p>Gélose conservatrice</p> 		<p>Pour conserver les souches</p>



Figure 06 : Les milieux de culture

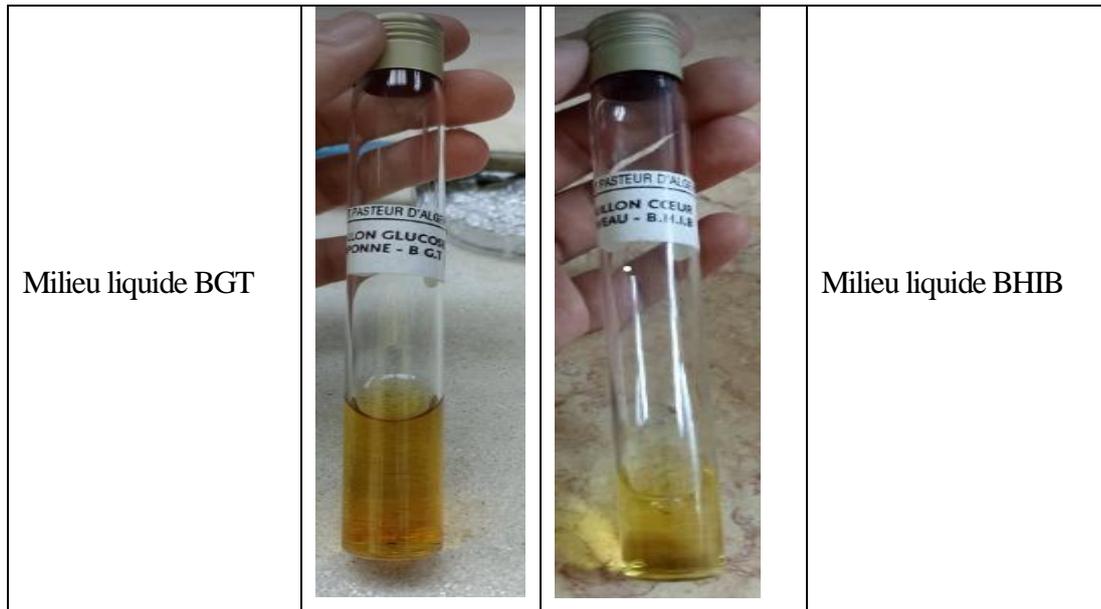


Figure 07 : Les milieux liquides BGT et BHIB.

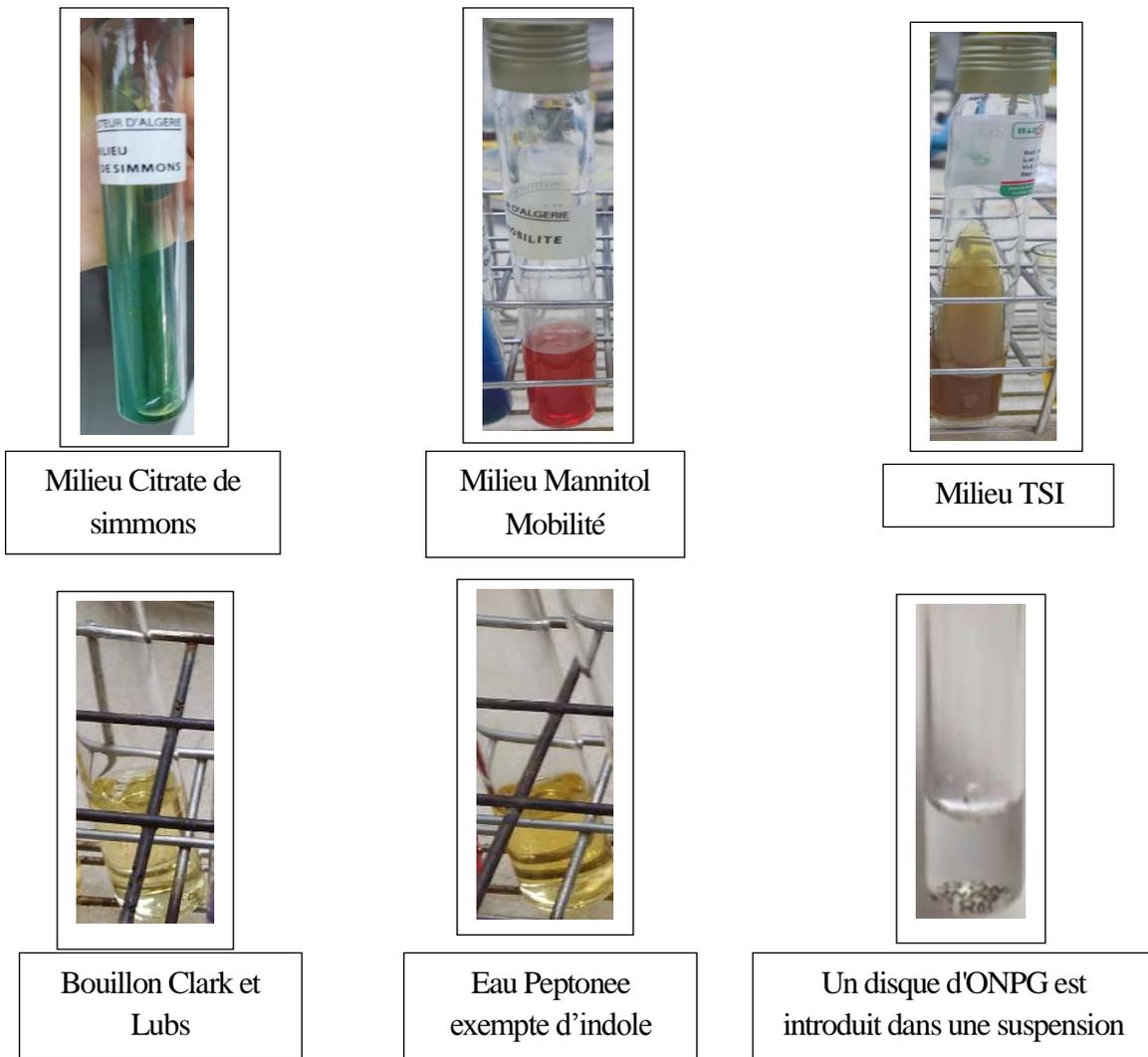
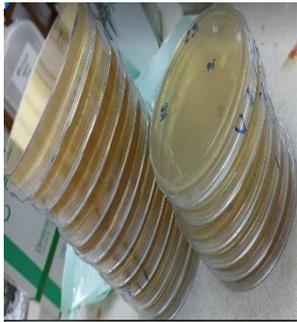


Figure 08 : Milieux de la galerie classique avant ensemencement.

Annexe 03 :

Tableau II : Appareillage, Verreries et Réactifs.

 <p>Flacon stérile</p>	 <p>Poche urinaire</p>	 <p>L'eau physiologie</p>	 <p>Cellule de Malassez</p>
 <p>Bec bunsen</p>	 <p>Pied à coulisse</p>	 <p>Micropipette</p>	 <p>Microscope optique</p>
 <p>Les écouvillons</p>	 <p>Huile de vaseline</p>	 <p>Sécheuse</p>	 <p>Etuve d'incubation à 37C°</p>
 <p>Réfrigérateur à 4 C°</p>	 <p>Bain marie pour liquéfier les milieux</p>	 <p>Autoclave (Stérilisation)</p>	

 <p>Densitomètre</p>	 <p>Jarre d'anaérobiose</p>	 <p>Les réactifs de la galerie classique (Kovacs, VP1, VP2, TDA)</p>	 <p>Crayon de Gram</p>
 <p>Portoir</p>	 <p>Portoir</p>	 <p>Les disques d'antibiotiques.</p>	 <p>Balon monoclonal</p>
 <div data-bbox="213 1547 775 1648" style="border: 1px solid black; padding: 5px;"> <p>Flacon monoclonal avec spatule et entonnoir</p> </div>		 <p>Flacon en verre brun stérile pour conservation de HE</p>	 <p>Boîtes de pétri</p>

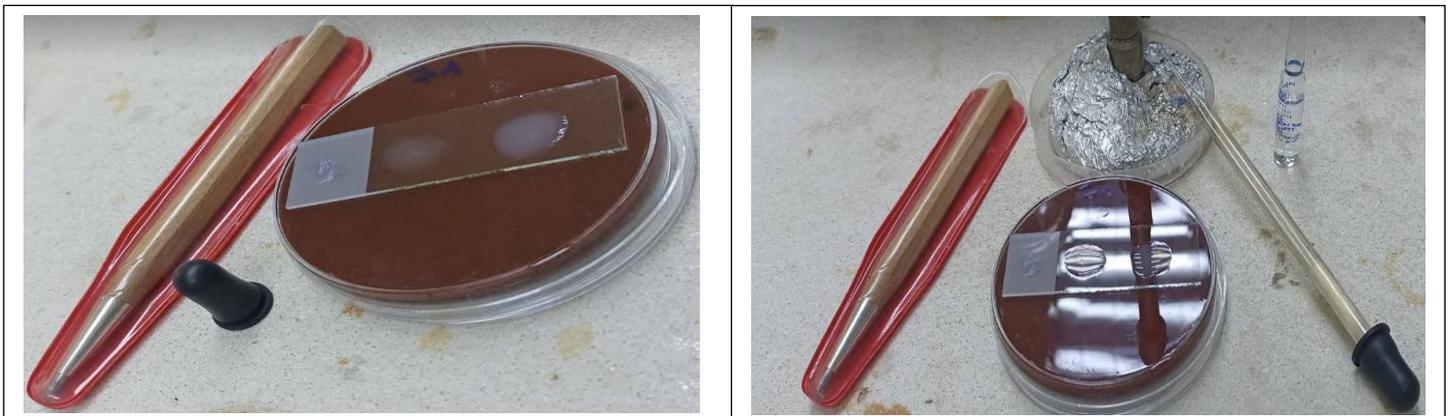
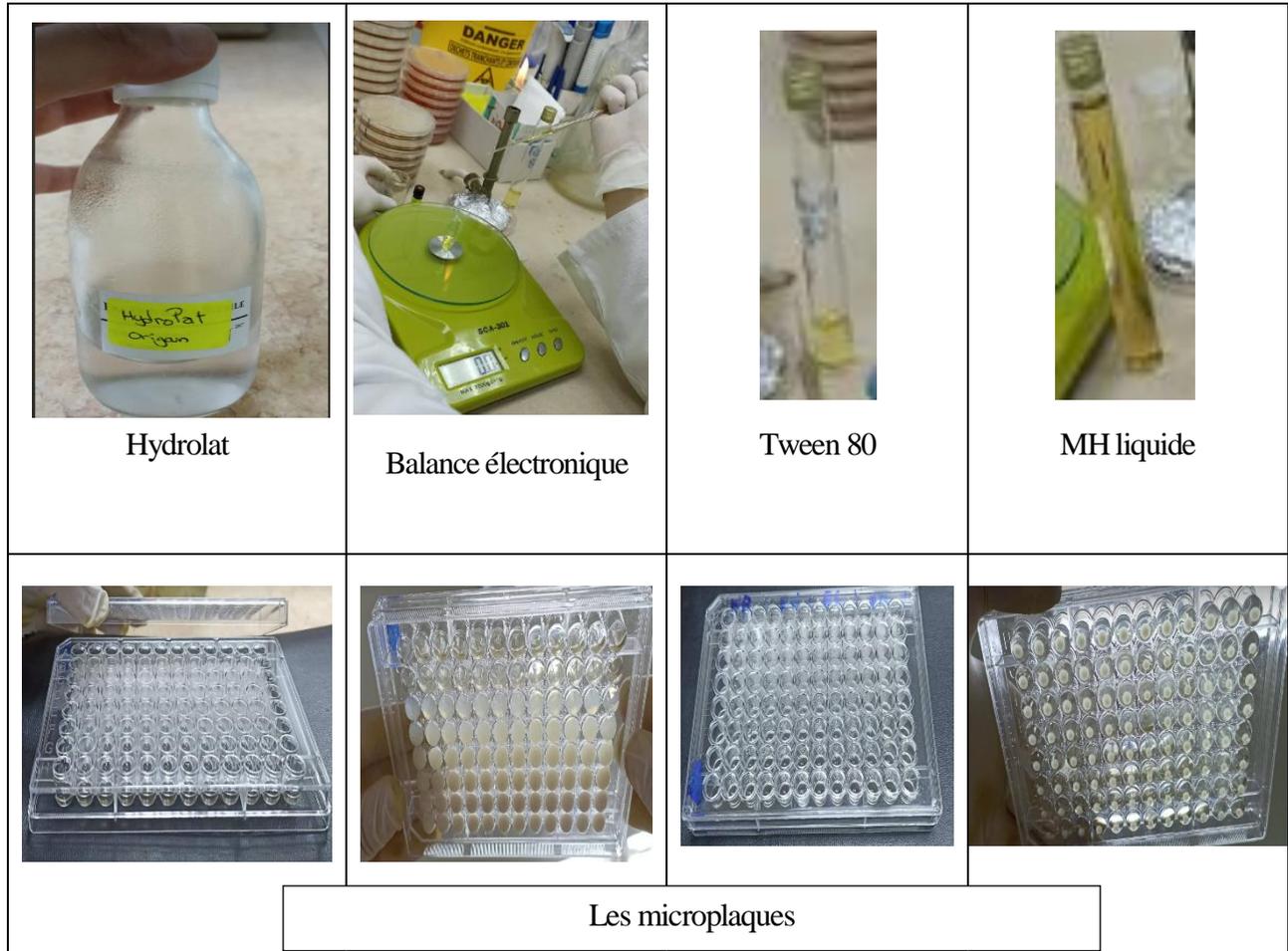


Figure 09 : Préparation d'un frottis.

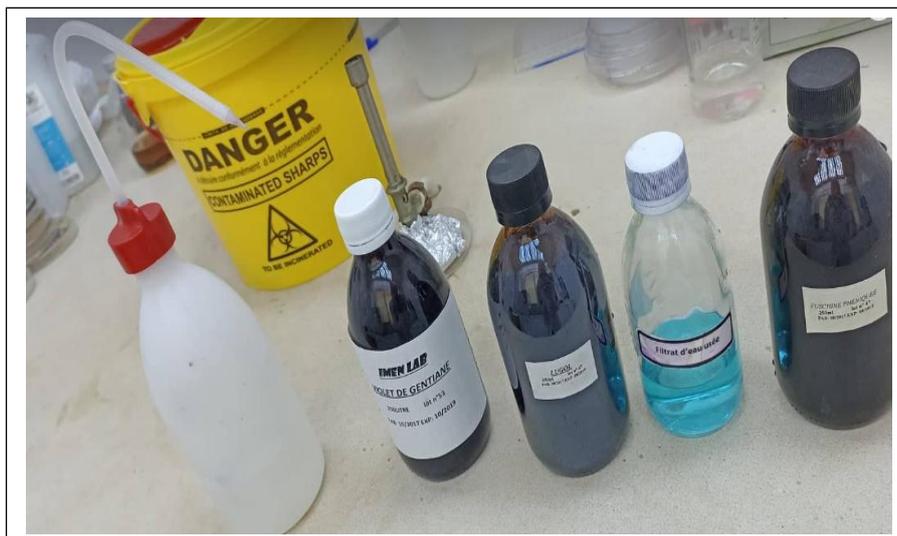
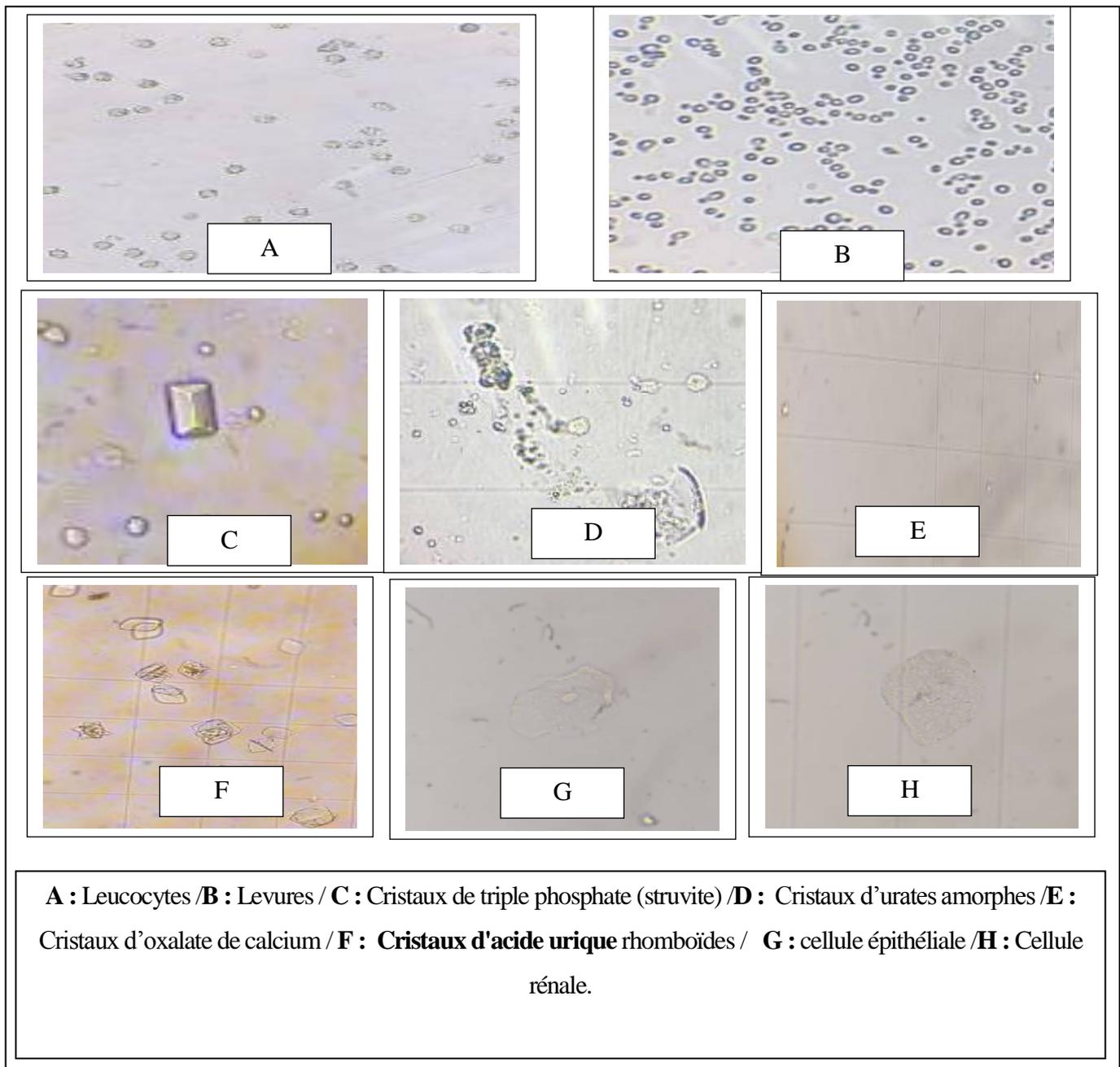


Figure 10 : Les différent réactifs de la coloration du gram

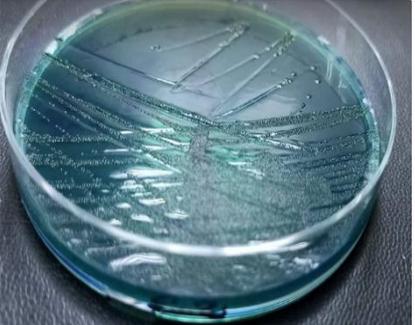
Tableau III : Les autres matériels

❖ Les autres matériels non biologiques ont mentionné dans le tableau ci-dessus :

Autres matériel	Tube en verre
	Pipette pasteur
	Anse de platine
	Lames et lamelles
	Tubes à essais stériles
	Pince métallique
	Poire
	Eau distillée stérile
	Compressees stériles
	Disques d'ONPG (Ortho-Nitro-Phénol-Galactosidase)
	Milieu LDC (lysine Décarboxylase) ; Milieu ODC (Ornithine-Décarboxylase) ; Milieu ADH (Arginine Dihydrolase)
	Disques imprégnés du réactif de dérivé N-diméthyles du paraphynélène diamine.
	H2O2 (L'eau oxygénée)
	Disques vierge diamètre 6 mm
	Papier aluminium
Embouts en plastique	

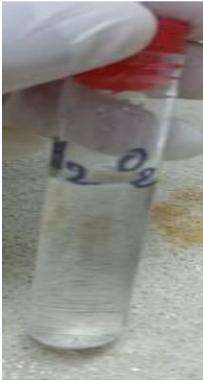
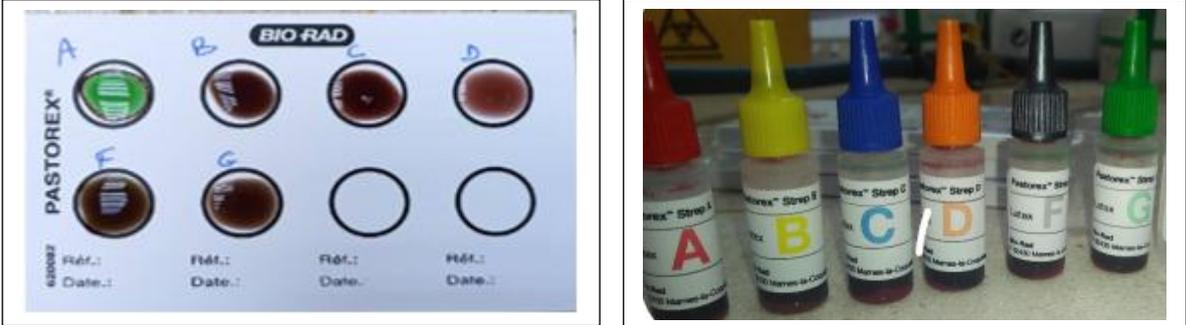
Annexe 04 : Les éléments cellulaires des urines observés lors d'un examen qualitatif

Annexe 05 : Les aspects macroscopiques des colonies**Tableau IV** : Aspects des cultures des germes isolés dans cette étude

Germes isolés	Aspect des cultures	Observation
Escherichia coli		Rondes, lisses à bords réguliers, opaques et blanchâtres sur GN.
Escherichia coli		Coloration orange qui signifie l'acidification de milieu et la dégradation de lactose dans le milieu Hektoen par cette bactérie.
Klebsiella pneumonie		De larges colonies muqueuses, volumineuses, Lactose (+).
Proteus mirabilis		Des colonies bleu -verte à centre noir dans L'Hektoen qui signifie que cette bactérie elle est de lactose moins comme Proteus mirabilis.

Enterobacter		Grosses colonies, bombées, lisses et brillantes dans GN
Staphylococcus Aureus		La couleur jaune doré signifie l'acidification de milieu Chapman (dégradation de mannitol) par cette bactérie
Pseudomonas aeruginosa		Pigmentation verte dans le milieu GN due à l'espèce Pseudomonas aeruginosa qui a produit cette pigmentation Pyoverdine
Serratia marcescens dans milieu Hektoen		Pigmentation rouge due à l'espèce Serratia marcescens qui a produit cette pigmentation prodigiosine

Annexe 06 : Identification biochimique (Tests d'orientation)

<p>Catalase</p>		 <p>Aspect du test Positif</p>	 <p>Aspect du test Négatif</p>
<p>Coagulase</p>			
<p>Oxydase</p>			
<p>Test d'agglutination PASTOREX (Etude sérologiques des streptocoques)</p>			

Annexe 07 : Identification biochimique Galerie classique



Annexe 08 : Galerie Api 20 E



Figure 11 : Galerie Api E20 avant ensemencement

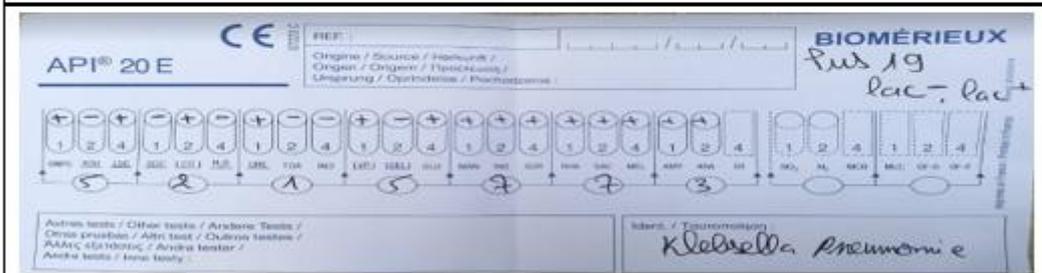


Figure 12 : Galerie API Klebsiella pneumoniae



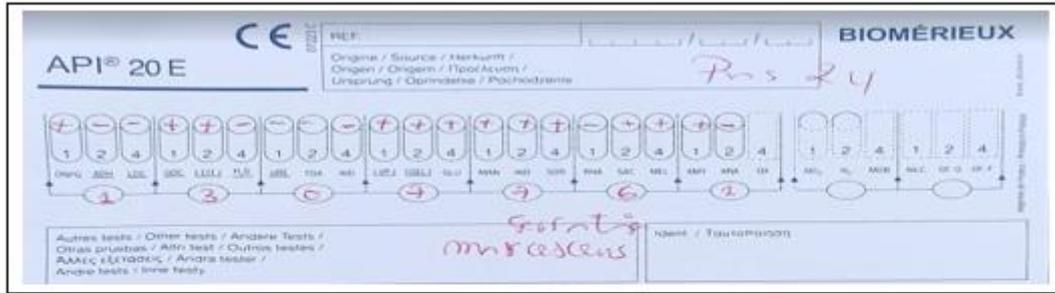


Figure 13 : Galerie API *Serratia marcescens*

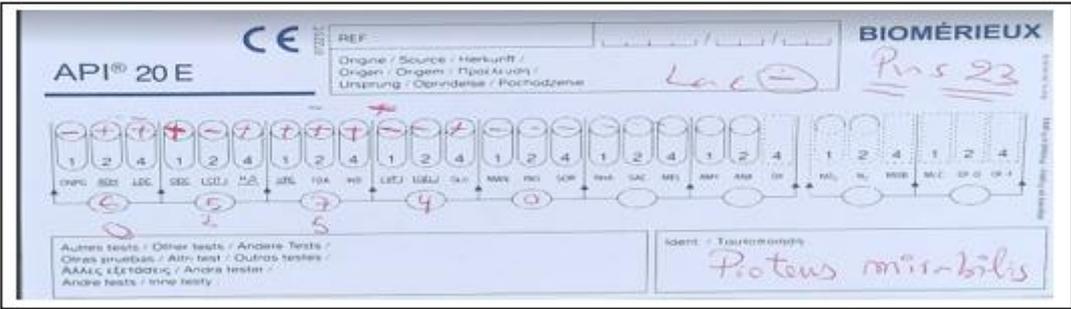


Figure 14 : Galerie API *Proteus mirabilis*

Annexe 09 : Les fiches

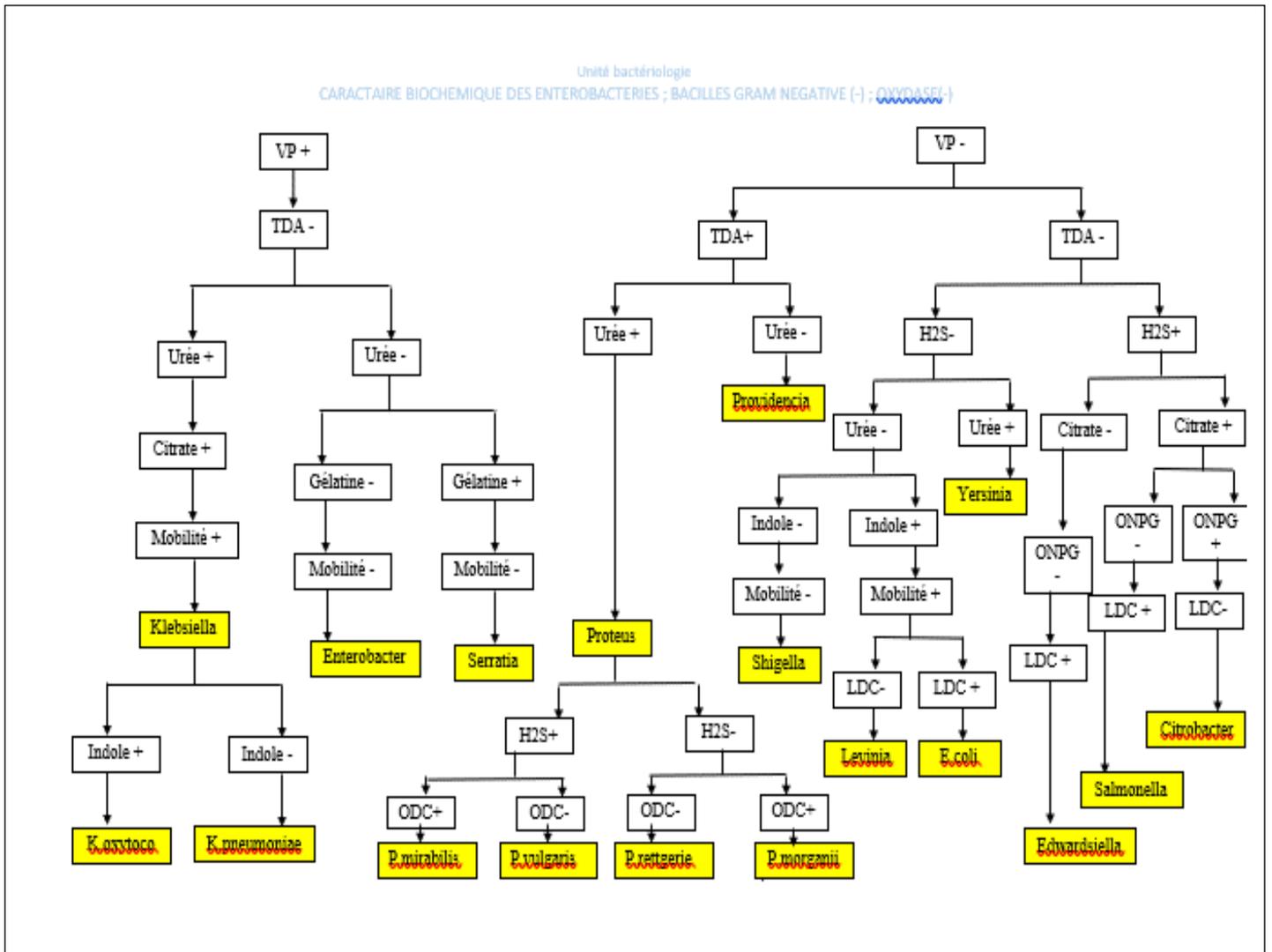


Figure 15 : Caractère biochimique des entérobactéries ; bacille à Gram (-) ; Oxydase

UNIVERSITÉ SAÏD DABOUZ ALGER 21
Service laboratoire central
Unité : microbiologie

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

FICHES DE RENSEIGNEMENTS

IDENTITE DU MALADE :

NOM de jeune fille Pour les femmes mariées

Nom PRENOM AGE

Sexe Externe Encéint Oui Non

Hospitalisé Service

PRELEVEMENT :

Nature Type

Date de prélèvement

Traitement aux A.T.B. Oui Non

Renseignements clinique

Les antécédents du patient

Figure 16 : Notre fiche de renseignement

SECTEUR SANITAIRE DE KOLEA

مستشفى القليعة

HOPITAL DE KOLEA

LABORATOIRE CENTRAL

DEMANDE D'ANALYSE

Docteur:.....

Nom et Prénom du malade :.....

Age :..... Sexe:.....

Service :..... Salle :.....Lit N° :.....

Nature du prélèvement :.....Dossier N°:.....

Date :.....Heure :.....

Exam en demandés :.....

Diagnostic :.....

Traitement éventuel :.....

Signature du médecin,

Figure 17 : Exemple de fiche de renseignement d'Hôpital Koléa

Annexe 10



Figur18 : Les étapes de la CMB

Annexe 11

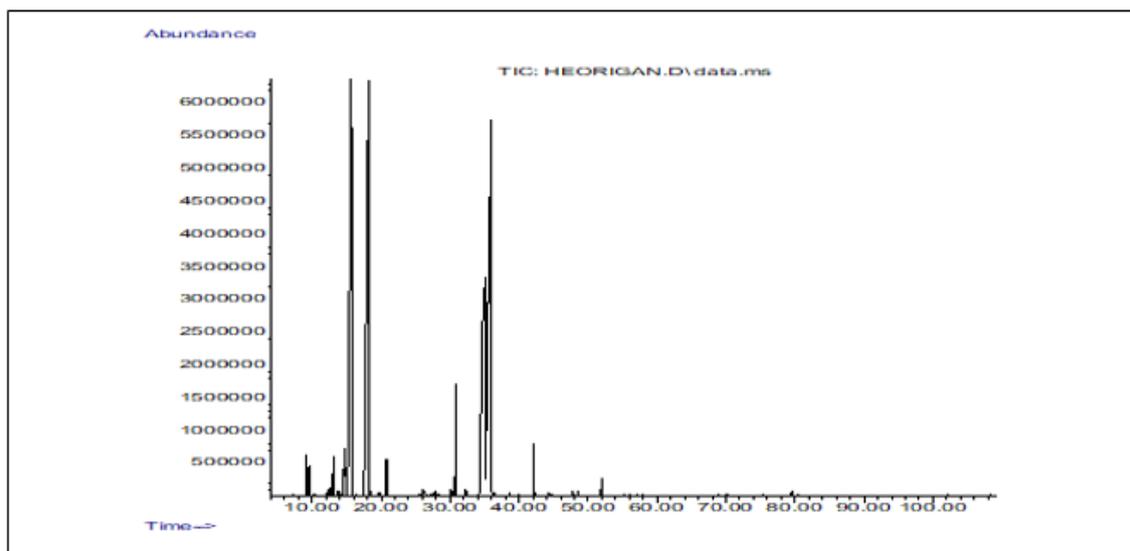


Figure 46: Chromatogramme CG-SM de l'huile essentielle extraite d'O. vulgare (abondance en fonction du temps de rétention en minutes)