

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université De Saad Dahleb Blida-1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie Département de Biologie  
**Mémoire de fin d'étude**

En vue de l'obtention du Diplôme de MASTER

Filière : Science de la nature et de la vie  
Option : Microbiologie

**Thème :**

**Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de  
Romarin (*Rosmarinus officinalis*) sur quelques bactéries  
multirésistantes**

**Réalisé par :**

M<sup>lle</sup> CHITA Imène

M<sup>lle</sup> BELLEILI Imène

Soutenu le **16/07/2023** devant le jury composé de :

Mme BENHOUNA I.	MCB	Université de Blida 1	Présidente
Mme OUAHCHIA C.	MCB	Université de Blida 1	Examinatrice
Mme BOKRETA S.	MCB	Université de Blida 1	Promotrice

**Année universitaire 2022 – 2023**

## **Remerciement**

*En tout premier lieu, nous souhaitons exprimer notre gratitude envers notre Divinité, **le Dieu Allah**, le tout-Puissant et Miséricordieux, dont la bienveillance infinie nous a octroyé la volonté inébranlable, la force incommensurable, le courage indomptable et, par-dessus tout, la patience exemplaire qui ont été nécessaires à l'accomplissement de cette entreprise.*

*La réalisation de ce mémoire a pu être concrétisée grâce à la contribution de plusieurs individus auxquels nous souhaitons exprimer notre sincère reconnaissance et gratitude.*

*Permettez-nous d'exprimer nos sincères remerciements à l'ensemble des professeurs, intervenants et individus qui, par le biais de leurs paroles éclairantes, de leurs écrits érudits, de leurs conseils avisés et de leurs critiques constructives, ont orienté nos réflexions et ont généreusement accepté de nous rencontrer et de répondre à nos interrogations tout au long de notre recherche.*

*Nous souhaitons exprimer nos profonds remerciements à notre promotrice, **Mme BOKRETA.S***

*Pour sa gentillesse et son soutien indéfectible tout au long de ce projet de recherche. Ses connaissances approfondies, son expertise et sa disponibilité ont été d'une valeur inestimable. Ses conseils éclairés, ses suggestions perspicaces et sa bienveillance ont guidé nos pas et ont contribué de manière significative à l'avancement de notre travail.*

*Nous tenons à adresser nos vifs remerciements à **Mme OUAHCHIA.C***

*Pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant d'examiner notre travail.*

*Nous voudrions remercier Mme **BENHOUNA.I***

*À qui nous a honorés d'avoir accepté de présider le jury*

*Nous tenons à remercier vivement **tous les enseignants et les professeurs** du département de biologie de l'université de Blida 1 Pour leurs efforts fournis durant toute la période d'étude qui doivent voir dans ce travail la fierté d'un bien acquis, ainsi qu'à tous ceux qui ont*

*Nous remercions tous **nos camarades** de la section pour tous les souvenirs que nous avons gardés de cette étape de notre vie.*

*Et enfin un grand merci à toutes personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce travail*

# ***Dédicace***

*Louange à Allah, Seigneur du monde, qui m'a comblé de grâce en me permettant d'achever en bonne santé ce modeste travail.*

*Je dédie ce travail*

## ***À mes très chers parents***

*Pour m'avoir permis de réaliser ce travail grâce à leur amour, leurs encouragements jusqu'à la fin de ce travail. Leur soutien inconditionnel, leur disponibilité, leur patience et leurs conseils ont été d'une valeur inestimable. Ils ont toujours facilité mon parcours, au prix de nombreux efforts. Il m'est impossible de leur rendre tout ce qu'ils m'ont offert. Rien n'aurait été possible sans eux. Cette réussite est donc un peu la mienne, mais surtout la leur.*

## ***À mes frères***

*Qui ont toujours été là pour moi et qui m'ont soutenu dans mon travail.*

## ***À tous les membres de ma famille***

*Qui n'ont cessé de m'encourager tout au long de mon projet.*

## ***À toutes mes chères amies***

*Particulièrement Raounak, Chahinez et Sihem qui me donnent toujours l'envie d'aller de l'avant.*

*Enfin, je dédie ce travail*

## ***À toute ma promotion de Microbiologie***

*Mes années d'études n'auraient pas été si mémorables sans la compagnie de mes amies de ma spécialité Microbiologie. J'espère que les liens tissés durant ces années seront solides et que le temps n'effacera pas cette amitié si forte et belle qui nous unit.*

***Imène C***

# Dédicace

Je tiens à dédier ce travail à toutes les personnes qui me sont chères :

À mes très chers parents :

Mon père Hakim et ma mère Fairouz je vous Remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et durant toutes les années de mes études, je vous aime beaucoup que Dieu vous Protège et vous garde.

À mes chères sœurs Narimane et Merieme et mon chère frère AMIN

Je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu vous Protège et vous garde.

À la famille BELLEILI et la famille NAHAL de grands jusqu' aux petits

À ma binôme Imène qui ma aider beaucoup pour réaliser ce travail

À toutes mes chères amies

Asma, Manel, Hanane et Sofia pour votre encouragement votre soutien et toute les moments passés de joie ou de tristesse

À tous mes professeurs durant les cycles de ma scolarité

À ma promotrice madame Soumeya Bokreta, votre gentillesse, votre patience et disponibilité qui ont constituées un apport considérable sans lequel ce travail n'aurait pas pu être réalisé.

À toute la promotion de la Microbiologie 2022/2023

Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

**Imène B**

## Résumé

De nos jours, les bactéries multirésistantes (BMR) sont de plus en plus courantes et causent des infections potentiellement mortelles tant dans les hôpitaux que dans la communauté.

Dans le but de rechercher de nouveaux agents naturels antibactériens aux intérêts thérapeutiques, l'huile essentielle de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* de la flore Algérienne, a fait l'objet de détermination de son pouvoir antibactérien *in vitro* sur des souches pathogènes multirésistantes isolées et identifiées à partir de divers prélèvements pathologiques reçu de différents services de l'EPH de Blida, Brahim Abdellah Tirichine.

Sur 598 prélèvements effectués, nous avons identifiée 129 souches bactériennes, parmi lesquelles 58 souches étaient multirésistantes, représentant ainsi un taux de 44,96%. Parmi celles-ci, *E. coli* et *K. pneumoniae* sont les espèces les plus prépondérantes avec des fréquences de 34.48% (n=20) et 27.59% (n=16) respectivement, suivi par *S.aureus* 12% (n=7), *P.aeruginosa* et *A. baumannii* avec 9% (n=5) chacune.

L'analyse du profil d'antibiorésistance a permis d'identifier plusieurs Bactéries Multi-Résistantes (BMR), dont des *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) et des entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre élargi (BLSE). Concernant les entérobactéries examinées, il a été constaté qu'elles manifestaient une résistance à l'ensemble des antibiotiques soumis aux tests, provenant de diverses familles antibiotiques. De plus, un taux de résistance de 100% a été observé pour les souches d'*Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* envers la majorité des antibiotiques évalués.

L'analyse de HE de romarin par la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse nous a permis d'identifier les principaux composés majoritaires, à savoir : 1,8-Cineole (39.972%), Camphor (12.831%) et l'alpha-pinène (11.032%). Les résultats de l'effet antibactérien de l'HE essentielle de *R. officinalis* révèle son activité contre la majorité des souches BMR testées, avec des diamètres de zone d'inhibition (DZI) variant entre 12 et 32 mm, à l'exception de certaines souches de *P. aeruginosa*. Les souches les plus sensibles sont *S.aureus* suivi *A.baumannii*. Les CMI ont été déterminées par la méthode de dilution sur milieu solide avec des valeurs variant entre 0.25 et 0.06  $\mu$ l /ml.

**Mots clés** : Antibactérienne ; Bactéries multirésistances ; Huile essentielle ; Profil d'antibiorésistance ; *Rosmarinus officinalis*

## Abstract

Nowadays, multidrug-resistant bacteria (MDR) are becoming increasingly common and causing potentially deadly infections both in hospitals and the community.

In order to search for new natural antibacterial agents with therapeutic potential, the essential oil of the medicinal plant *Rosmarinus officinalis* from the Algerian flora was investigated for its in vitro antibacterial activity against isolated and identified MDR pathogenic strains obtained from various pathological samples received from different departments of the Blida Brahim Abdellah Tirichine Public Hospital (EPH).

Out of 598 samples collected, we identified 129 bacterial strains, among which 58 strains were multidrug-resistant, representing a rate of 44.96%. Among these, *E. coli* and *K. pneumoniae* were the most predominant species, with frequencies of 34.48% (n=20) and 27.59% (n=16) respectively, followed by *S. aureus* 12% (n=7), *P. aeruginosa* and *A. baumannii* with 9% (n=5) each.

The analysis of the antibiotic resistance profile has allowed the identification of several Multi-Resistant Bacteria (MRB), including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and enterobacteria producing Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamases (ESBLs). Concerning the examined enterobacteria, it was observed that they exhibited resistance to all tested antibiotics, originating from various antibiotic families. Furthermore, a resistance rate of 100% was observed in strains of *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* towards the majority of the assessed antibiotics.

Analysis of rosemary essential oil by gas chromatography coupled with mass spectrometry allowed us to identify the major compounds, namely: 1,8-Cineole (39.972%), Camphor (12.831%), and alpha-pinene (11.032%). The results of the antibacterial effect of *R.officinalis* essential oil revealed its activity against the majority of tested MDR strains, with inhibition zone diameters (IZD) ranging from 12 to 32 mm, except for certain strains of *P.aeruginosa*. The most sensitive strains were *S. aureus*, followed by *A. baumannii*. The minimum inhibitory concentrations (MICs) were determined by the solid medium dilution method, with values ranging from 0.25 to 0.06  $\mu$ l/ml.

**Keywords:** Antibacterial activity; Antibioresistance profile; essential oil; multidrug-resistant bacteria ; *Rosmarinus officinalis*

## ملخص

في الوقت الحاضر، البكتيريا المتعددة المقاومة للأدوية (BMR) شائعة بشكل متزايد وتسبب عدوى تهدد الحياة في كل من المستشفيات والمجتمع.

من أجل البحث عن عوامل طبيعية جديدة مضادة للجراثيم ذات اهتمامات علاجية، كان الزيت الأساسي للنبات الطبي *Rosmarinus officinalis* من النباتات الجزائرية، موضوعاً لتحديد قدرته المضادة للبكتيريا في المختبر على سلالات مسببة لأمراض معزولة ومحددة من مختلف العينات المرضية الواردة من أقسام مختلفة من ال EPH البلدية، إبراهيم عبد الله تيريشين.

من بين 598 عينة تم أخذها، حددنا 129 سلالة بكتيرية، من بينها 58 سلالة كانت متعددة المقاومة، مما يمثل نسبة 44.96%. ومن بين هذه السلالات، تعتبر *E. coli* و *K. pneumoniae* أكثر الأنواع انتشاراً بنسبة 34.48% (n=20) و 27.59% (n=16) على التوالي، تليها بكتيريا *S.aureus* بنسبة 12% (n=16) و *P.aeruginosa* و *A.baumannii* بنسبة 9% (n=5) لكل منهما.

أظهرت دراسة مقاومة المضادات الحيوية إلى تحديد العديد من البكتيريا متعددة المقاومة BMR بما في ذلك *Staphylococcus aureus* المقاومة للميتيسيلين (SARM) و *Enterobacteriaceae* المنتجة ل-β-lactamase على نطاق واسع (BLSE). بالنسبة للبكتيريا المعوية *Enterobacteriaceae* التي تم فحصها، تم ملاحظة أنها تظهر مقاومة تامة لجميع المضادات الحيوية التي تم اختبارها والتي تنتمي إلى أنواع متعددة من عائلات المضادات الحيوية. علاوة على ذلك، تم رصد معدل مقاومة يبلغ 100% لسلالات *Acinetobacter baumannii* و *Pseudomonas aeruginosa* تجاه معظم المضادات الحيوية التي تم تقييمها.

سمح لنا تحليل الزيت الأساسي لإكليل الجبل بواسطة كروماتوغرافيا الغاز إلى جانب قياس الطيف الكتلي بتحديد غالبية المركبات الرئيسية، وهي: 1,8-Cineole (39.972%)، Camphor (12.831%) و l'alpha-pinène (11.032%).

تظهر نتائج التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري الأساسي *R. officinalis* نشاطه ضد غالبية سلالات BMR التي تم اختبارها، مع أقطار منطقة التثبيط (DZI) تتراوح بين 12 و 32 مم، باستثناء سلالات معينة من *P.aeruginosa* أكثر السلالات حساسية هي *Staphylococcus aureus* تليها سلالات *A.baumannii*. تم تحديد CMI بواسطة طريقة التخفيف على وسط صلب بقيم تتراوح بين 0.25 و 0.06 ميكرو لتر / مل.

### الكلمات المفتاحية :

*Rosmarinus officinalis*؛ زيت أساسي؛ البكتيريا متعددة المقاومة؛ نشاط مضاد للجراثيم؛ ملف مقاومة المضادات الحيوية.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I.</b> La classification botanique du <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	4
<b>Tableau II :</b> Mécanismes de résistances d' <i>Acinetobacter baumannii</i> aux familles d'antibiotiques.....	11
<b>Tableau III.</b> Répartition des bactéries isolées selon le type de prélèvement .....	33
<b>Tableau IV.</b> Composition chimique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	45
<b>Tableau V.</b> Activité antibactérienne de l'HE de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	46
<b>Tableau VI.</b> Résultats de la concentration minimale inhibitrice.....	49
<b>Tableau VII.</b> Matériels non biologiques.....	Annexe I
<b>Tableau VIII.</b> Milieu de culture	
<b>Tableau IX.</b> Résultat de l'examen Macroscopique après culture.....	Annexe II
<b>Tableau X.</b> Liste des antibiotique utilise.....	Annexe III
<b>Tableau XI.</b> Resistance et sensibilite des souches de la famille d'Enterobacteriaceae vis-à-vis des antibiotique teste.....	Annexe III
<b>Tableau XII.</b> Resistance et sensibilite des souches de <i>Acinetobacter baumannii</i> vis-à-vis des antibiotique teste.....	Annexe III
<b>Tableau XIII.</b> Resistance et sensibilite des souches de <i>Acinetobacter baumannii</i> vis-à-vis des antibiotique teste.....	Annexe III
<b>Tableau XIV.</b> Resistance et sensibilite des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis des antibiotique teste.....	Annexe III
<b>Tableau XV.</b> Lecteur de la Galerie miniaturisée API.....	Annexe III

## Liste des figures

<b>Figure 1.</b> Les feuilles et les fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> L.....	3
<b>Figure 2.</b> Différents types de résistance aux antibiotiques.....	9
<b>Figure 3.</b> Feuilles et fleurs de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	15
<b>Figure 4.</b> Schéma général de la démarche de l'analyse bactériologique.....	15
<b>Figure 5.</b> Différentes étapes de l'examen quantitatif cyto bactériologique sur la cellule de Malassez.....	16
<b>Figure 6.</b> Bouchon de champagne chez (a) <i>E.coli</i> et (b) <i>K.pneumoniae</i> .....	22
<b>Figure 7.</b> Test du double disque pour la détection des BLSE.....	23
<b>Figure 8.</b> Appareillage utilisé et les différentes étapes de l'extraction de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> selon le mode opératoire.....	24
<b>Figure 9.</b> Technique de l'aromatogramme.....	26
<b>Figure 10.</b> les étapes de la méthode de dilution sur milieu solide .....	28
<b>Figure 11.</b> Répartition des prélèvements selon leur nature.....	29
<b>Figure 12.</b> Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements.....	30
<b>Figure 13.</b> Aspect macroscopique des flacons d'hémocultures.....	31
<b>Figure 14.</b> Aspect macroscopique des flacons d'urines.....	31
<b>Figure 15.</b> Aspect macroscopique des flacons de pus.....	31
<b>Figure 16.</b> Observation microscopique de la coloration de Gram de bactéries sous microscope optique au grossissement X100.....	32
<b>Figure 17.</b> Répartition des bactéries selon l'espèce identifiée.....	33
<b>Figure 18.</b> La prévalence des BMR dans l'ensemble des prélèvements effectués.....	34
<b>Figure 19.</b> Répartition des BMR isolées selon leur type.....	35
<b>Figure 20.</b> Répartition des BMR selon le type de résistance.....	36
<b>Figure 21.</b> Répartition des bactéries multirésistantes selon l'espèce.....	36
<b>Figure 22.</b> Répartition des BMR isolées par service.....	37
<b>Figure 23.</b> Répartition des BMR isolées selon le sexe.....	38
<b>Figure 24.</b> Répartition des BMR isolées selon l'âge.....	38
<b>Figure 25.</b> Profil d'antibiorésistance d' <i>Escherichia coli</i> .....	39
<b>Figure 26.</b> Profil d'antibiorésistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	40
<b>Figure 27.</b> Profil d'antibiorésistance de <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	42

<b>Figure 28.</b> Profil d'antibiorésistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>43</b>
<b>Figure 29.</b> Profil d'antibiorésistance de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>44</b>
<b>Figure 30.</b> Observation microscopique de la coloration de Bleu de méthylènes de différents éléments cellulaires après la coloration de bleu méthylène (leucocyte et les cellules épithéliale) sous microscope optique au grossissement X100 .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 31.</b> Observation microscopique de la coloration de Bleu de méthylènes des bactéries sous microscope optique au grossissement X100.....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 32.</b> Teste d'oxydase .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 33.</b> Teste de catalase .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 34.</b> Teste de coagulase libre pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 35.</b> Antibiogramme de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 36.</b> Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 37.</b> Antibiogramme d' <i>Escherichia coli</i> (BLSE+).....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 39</b> Antibiogramme de <i>Klebsiella pneumoniae</i> (BLSE+).....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 40.</b> Antibiogramme de <i>Proteus mirabilis</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 41.</b> Antibiogramme de <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 42.</b> Antibiogramme de <i>Citrobacter freundii</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 43.</b> Antibiogramme de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	<b>Annexe II</b>
<b>Figure 44.</b> Résultat de concentration minimali inhibitrice sur milieu solide.....	<b>Annexe II</b>

## Liste des abréviations

**ABM:** *Acinetobacter baumannii* multirésistant

**ADN :** Acide désoxyribonucléique

**AK :** Amikacine

**AMC :** Amoxicilline + acide clavulanique

**AMX (AX) :** Amoxicilline

**API :** Appareils et Procédés d'identification

**ARN :** Acide ribonucléique

**AT :** Aztréonam

**BHIB :** Bouillon cœur cerveau

**BLSE :** Production de bêta-lactamase à spectre élargi

**BMR :** Bactéries multirésistance

**CAZ :** Ceftazidime

**CIP :** Ciprofloxacine

**CLSI:** National Committee for Clinical Laboratory Standards.

**CMI :** Concentration minimale inhibitrice.

**CTX :** Céfotaxime

**DMSO :** Diméthylsulfoxyde.

**DZI :** Diamètres de Zone d'Inhibition

**E :** Erythromycine

**E-BLSE :** Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi

**ECBU :** Examen Cytobactériologique des Urines

**EPH :** Establishment Public Hospitalier.

**F200 :** Fosfomycine

**F300 :** Nitrofuranes

**FA :** Acide fusidique

**FOX** : Céfoxitine

**GC-SM** : La Chromatographie en phase Gazeuse couplée a la Spectrométrie de Masse

**GEL** : Gélatinase

**GN** : Gentamicine

**GSC** : Gélose au Sang Cuit

**GSF** : Gélose au Sang Frais

**H<sub>2</sub>S** : Sulfured'Hydrogène

**HE** : Huile essentielle

**IMP** : Imipénème

**KZ** : Céfazoline

**LDC** : Lysine décarboxylase.

**LPS** : lipopolysaccharides

**MRSA** : methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*

**NA** : Acide nalidixique

**ODC** : Ornithine décarboxylase.

**OFX** : Ofloxacine

**P** : Pénicilline G

**PAR** : *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant

**PBPs** : Penicillin-binding proteins

**PIP** : Pipéracilline

**PRL** : Pipéracilline

**SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline

**SCCmec** : Staphylococcal cassette chromosome mec

**SXT** : Triméthoprime/sulfaméthoxazole

**TCC** : Ticarcilline + acide clavulanique

**TDA** : Tryptophanedésaminase

**TOB** : Tobramycine

**URE** : Urée

**VP** : Voges-proskauer

## Table des matières

Remerciement

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction.....01

### Chapitre I : Synthèse bibliographique

<b>I.</b>	<b>Monographie de la plante <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	<b>03</b>
	I.1. Description botanique.....	<b>03</b>
	I.2. Dénomination.....	<b>03</b>
	I.3. Classification.....	<b>04</b>
	I.4. Propriétés thérapeutiques de la plante.....	<b>04</b>
<b>II.</b>	<b>Huile essentielle du <i>Rosmarinus officinalis</i></b> .....	<b>05</b>
	II.1. Définition.....	<b>05</b>
	II.2. Activités biologique de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	<b>05</b>
	II.2.1. Activités antibactériennes .....	<b>05</b>
	II.2.2. Activités anti-inflammatoire.....	<b>06</b>
	II.2.3. Activités anti-oxydante.....	<b>06</b>
	II.2.4. Autres activités.....	<b>06</b>
<b>III.</b>	<b>Resistance bactérienne aux antibiotiques</b> .....	<b>06</b>
	III.1. Définition.....	<b>07</b>
	III.2. Type de la résistance bactérienne.....	<b>07</b>
	III.2.1. Résistance naturel (ou intrinsèque).....	<b>07</b>
	III.2.2. Résistance acquise.....	<b>07</b>
	III.3. Mécanisme de la résistance bactérienne.....	<b>08</b>
	III.3.1. Modification de la cible des antibiotiques.....	<b>08</b>
	III.3.2. Inactivation des antibiotiques.....	<b>08</b>
	III.3.1. Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques.....	<b>08</b>
<b>IV.</b>	<b>Principales bactéries multirésistance (BMR)</b> .....	<b>09</b>
	VI.1. Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE).....	<b>09</b>

VI.2. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant.....	10
VI.2.1. Résistance <i>Acinetobacter baumannii</i> aux bêta-lactamines.....	11
VI.2.2. Résistance <i>Acinetobacter baumannii</i> aux autres antibiotiques.....	11
VI.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant (PAR) .....	12
VI.4. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline (SARM).....	12

## **Chapitre II : Matériel et méthodes**

<b>I. Matériel.....</b>	<b>14</b>
I.1. Matériel biologique.....	14
I.1.1. Prélèvements.....	14
I.1.2. Matériel végétale : Collection et préparation.....	14
I.1. Matériel non biologique.....	15
<b>II. Méthodes.....</b>	<b>15</b>
II.1. Examen bactériologique des prélèvements.....	15
II.1.1. Examen macroscopique.....	16
II.1.2. Examen microscopique.....	16
II.1.3. Culture et isolement des bactéries.....	17
II.1.4. Identification des souches bactériennes.....	18
1. Principaux tests d'orientation.....	18
2. La galerie Api 20E.....	19
II.1.5. Test de la sensibilité aux antibiotiques.....	20
1. Antibiogramme standard.....	20
2. Tests complémentaire.....	21
II.1.6. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> .....	23
1. Extraction de l'huile essentielle.....	24
2. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle.....	25
3. Analyse chromatographique de l'huile essentielle de romarin.....	25
4. Etude de l'effet antibactérienne de l'HE de romarin.....	26

## **Chapitre III : Résultats et discussion**

1. Répartition des résultats selon le type de prélèvement.....	29
2. Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements.....	29
3. Résultats de l'examen cytobactériologique des différents prélèvements.....	30
3.1. Aspect macroscopique.....	31
3.2. Analyse cytologique.....	31

3.3. Examen microbiologique.....	32
3.3.1. Examen macroscopique de la culture.....	32
3.3.2. Examen microscopique.....	32
3.3.3. Identification biochimique.....	32
4. Bactéries identifiées à partir des prélèvements.....	32
4.1. Répartition des bactéries isolées selon le type de prélèvement.....	33
4.2. Répartition des BMR isolées selon le type de prélèvement.....	34
4.2.2. Répartition des BMR isolées selon leur type.....	35
4.2.3. Répartition des BMR isolées selon la nature des espèces bactériennes.....	36
4.2.4. Répartition des BMR selon le service.....	37
4.2.5. Répartition des BMR selon le sexe.....	37
4.2.6. Répartition des BMR selon l'âge.....	38
4.3. Résultats de l'antibio-résistance des BMR isolées.....	39
4.3.1. Profil d'antibiorésistance des souches d' <i>Escherichia coli</i> .....	39
4.3.2. Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .....	39
4.3.3. Profil d'antibiorésistance de <i>Proteus mirabilis</i> .....	40
4.3.4. Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Proteus vulgaris</i> .....	40
4.3.5. Profil d'antibiorésistance de <i>Serratia marcescens</i> .....	40
4.3.6. Profil d'antibiorésistance de <i>Citrobacter freundii</i> .....	40
4.3.7. Profil d'antibiorésistance d' <i>Acinetobacter baumannii</i> .....	42
4.3.8. Profil d'antibiorésistance des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	43
4.3.9. Profil d'antibiorésistance des SARM.....	44
5. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle de romarin.....	45
5.1. Rendement en huile essentielle.....	45
5.2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de romarin.....	45
5.3. Composition chimique de l'huile essentielle de romarin.....	45
6. Résultats de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de <i>Rosmarinus officinalis</i> sur les BMR isolées.....	46
6.1. Résultats de la méthode de diffusion du disque (aromatogramme).....	46
6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	46
<b>Conclusion.....</b>	<b>51</b>

## Références bibliographie

## Annexes

# **Introduction**

### INTRODUCTION

L'augmentation de la résistance des pathogènes aux antibiotiques à l'échelle mondiale constitue une grave menace pour la santé publique, principalement en raison de l'utilisation généralisée et abusive des antibiotiques commerciaux. Cette utilisation indiscriminée favorise le développement de mécanismes de résistance chez les bactéries, conduisant à l'émergence de bactéries multirésistantes (BMR) (Mulyaningsih *et al.*, 2011 ; Acharjee *et al.*, 2022). Des pathogènes multirésistants tels que *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* et les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) sont devenus un problème majeur dans le monde entier, notamment dans les milieux hospitaliers, sans exclure leur potentiel de transmission dans la communauté (Sakkas *et al.*, 2016 ; Parmanik *et al.*, 2022).

Depuis la découverte de la pénicilline en 1928 et face à la baisse de l'activité des antibiotiques suite à l'apparition de BMR, la recherche de nouveaux agents antibactériens a été déclenchée, parmi eux les plantes médicinales qui produisent une grande variété de métabolites bioactifs, ce qui fait d'eux une riche source à la base de divers types de produits pharmaceutiques (Aouf *et al.*, 2022).

À la lumière des avancées scientifiques, les propriétés médicinales des plantes ont suscité un grand intérêt en raison de leurs activités pharmacologiques et de leur viabilité économique (Aye *et al.*, 2019 ; Manandhar *et al.*, 2019), dans ce contexte, les huiles essentielles issues de plantes médicinales font l'objet de recherches pour leurs propriétés antibactériennes (Billerbeck., 2007 ; Chouhan *et al.*, 2017 ; Aouf *et al.*, 2022).

Dans ce contexte, nous avons orienté notre étude dans le but d'isoler des bactéries multirésistantes à partir de divers prélèvements pathologiques et d'évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) de *Rosmarinus officinalis* sur elles. Pour cela, notre étude est basée sur les points suivants :

- Isolement et identification de bactéries multirésistantes.
- Evaluation de la résistance et la sensibilité des isolats aux antibiotiques.
- Extraction de HE de *Rosmarinus officinalis* et détermination de sa composition chimique par la chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM).

- Mise en évidence de l'activité antibactérienne de l'HE de *Rosmarinus officinalis* sur les BMR isolées.
- Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'extrait de *Rosmarinus officinalis*.

# **Chapitre I :**

# **Synthèse bibliographique**

### I. Monographie de la plante *Rosmarinus officinalis*

#### I.1. Description botanique

Le romarin, nom scientifique *Rosmarinus officinalis* L, appartient à la famille (Lamiaceae) Cette plante ligneuse et parfumée a une odeur caractéristique de menthe très aromatique (Ambrose et al., 2016).

C'est un arbuste dressé qui peut atteindre jusqu'à 2 mètres de hauteur et les feuilles en forme d'aiguilles mesurent de 2 à 3 cm de longueur et de 1,2 à 3,5 mm de largeur a des tiges droites avec de nombreuses branches minces grises ou brun clair. (Ambrose et al., 2016). Les feuilles sont coriaces, opposées, fortement recourbées, à marges frangées et à nervure médiane proéminente d'une taille de 1,0 à 2,5 cm de long et 4 cm de large, la face supérieure de la feuille est de couleur verte et la face inférieure est grise un peu laineuse à cause de nombreux trichomes (Begum et al., 2013). Les fleurs, de structure bilabée, présentent une teinte bleu pâle ou blanchâtre, avec des taches violettes qui les parsèment. (Goetz et Ghédira, 2012). Le fruit a une forme ovoïde, entouré par un calice brun et persistant. (Aafi, 2013).



Figure 1. Les feuilles et les fleurs de *Rosmarinus officinalis* L. (Photo originale, 2023).

#### I.2. Dénomination

Le romarin est une herbe puissante originaire de la région méditerranéenne. Il est dérivé du mot latin ros (rosée) et marinus (mer) qui signifie « rosée de la mer » (Begum et al., 2013

- Nom accepté : *Rosmarinus officinalis* L.
- Synonymes : (R. angustifolius, R. latifolius, R. tenuifolius, etc.)
- Nom commun (certains pays européens) : Romero (espagnol), alecrim (portugais), romarin (anglais), rosmarin (français et allemand), rosmarino (italien) et δένδρολιβάνο (grec), Inde (rusmar), Français (romarin), Anglais (rosemary), Allemand (Rosmarin), Arabe (الكليل) (González-Minero et al., 2020 ; Goetz et Ghedira., 2012)

### **I.3. Classification taxonomique**

La classification botanique du romarin est comme suit : Tableau (1) (Goetz et Ghedira., 2012)

**Tableau I.** La classification botanique du *Rosmarinus officinalis*

<b>Règne</b>	Plantae
<b>Sous-règne</b>	Tracheobionta
<b>Embranchement</b>	Magnoliophyta
<b>Sous-embranchement</b>	Magnoliophytina
<b>Classe</b>	Magnoliopsida
<b>Sous-classe</b>	Asteridae
<b>Ordre</b>	Lamiales
<b>Famille</b>	Lamiaceae
<b>Genre</b>	<i>Rosmarinus</i>
<b>Espèce</b>	<i>Rosmarinus officinalis L.</i>

### **I.4. Propriétés thérapeutiques de la plante**

La plante *Rosmarinus officinalis L.* se compose d'un éventail de molécules bioactives, notamment des photocomposés. Ces derniers sont responsables de la manifestation de multiples activités pharmacologiques, résultant de l'interaction entre les molécules de la plante et les systèmes organiques (De-Oliveira et al., 2019).

Selon une étude réalisée par Anwar et al., (2023) ils conclure que la plante *Rosmarinus officinalis L.* présente des propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antibactériennes, hémolytiques et thrombolytiques. De plus, cette plante a également été étudiée pour sa capacité préventive contre des affections telles que l'asthme bronchique, les troubles spasmodiques, les ulcères peptiques, l'hépatotoxicité, l'athérosclérose, les cardiopathies ischémiques, la cataracte, le cancer, ainsi que la réduction de la mobilité des spermatozoïdes (Al-Sereiti et al., 1999).

Selon Bao et al., (2020) l'extrait de romarin et ses constituants phénoliques, en particulier l'acide carnosique, l'acide rosmarinique et le carnosol, exerçaient un pouvoir antidiabétique salutaire en régulant le métabolisme du glucose.

En médecine traditionnelle, il est utilisé comme antispasmodique, antalgique léger, pour les névralgies intercostales, les maux de tête, les migraines, l'insomnie et les troubles de l'humeur. De plus, ce composé est également utilisé dans le traitement des affections pathologiques du système nerveux telles que l'anxiété, la dépression, la maladie d'Alzheimer,

l'épilepsie, la maladie de Parkinson et le syndrome de sevrage (**Ghasemzadeh et Hosseinzadeh., 2020**).

## **II. Huile essentielle du *Rosmarinus officinalis***

### **II.1. Définition**

Les huiles essentielles sont des composés odorants et volatils présents exclusivement dans 10% du règne végétal. Elles sont produites en tant que métabolites secondaires dans les plantes médicinales (**Assadpour et al., 2023**). Ces substances sont stockées dans des structures spécifiques et fragiles des plantes, telles que les glandes, les poils sécréteurs, les canaux sécréteurs, les cavités sécrétrices ou les canaux à résine (**Sebti, 2020**)

La plupart des huiles essentielles sont incolores ou d'un jaune pâle, et elles se présentent sous forme liquide avec une densité inférieure à celle de l'eau, et en raison de leur structure moléculaire, les huiles essentielles sont facilement oxydables par la lumière, la chaleur et l'air (**Djilani et Dicko., 2012**). Elles peuvent être extraites à partir de différentes parties des plantes par diverses méthodes, telles que la distillation à la vapeur (**Manion et Widder., 2017 ; Perez, 2003**). Le processus d'extraction crée un liquide hautement concentré tout en préservant la structure chimique complexe de la plante (**Perez, 2003**).

### **II.2. Activités biologiques de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis***

L'huile essentielle de romarin, possède de nombreuses propriétés pharmacologiques, notamment :

#### **II.2.1. Activités antimicrobiennes**

Plusieurs études ont souligné la présence de composés actifs spécifiques dans les extraits de romarin, conférant à cette plante des propriétés antibactériennes notables (**Georgantelis et al., 2007**). En effet, l'huile essentielle extraite du romarin s'est avérée particulièrement efficace contre diverses bactéries à la fois Gram positif et Gram négatif, démontrant une activité antibactérienne particulièrement marquée contre *Staphylococcus aureus*, y compris la souche résistante à la méthicilline, *Klebsiella pneumoniae*, et *Escherichia coli*. (**Bernardes et al., 2010 ; Bozin et al., 2007 ; Collins et Charles, 1987 ; Elgayyar et al., 2001 ; Klancnik et al., 2009**).

En ce qui concerne l'activité antivirale, des études in vitro ont démontré que le carnosol présentait une activité antivirale contre le virus de l'herpès simplex de type 2 et le VIH

(Aruoma *et al.*, 1996 ; Wichtl et Anton., 2003). Tandis que l'acide carnosique inhibe l'infection par le virus respiratoire syncytial humain (VRS) (Shin *et al.*, 2013).

### II.2.2. Action anti-inflammatoire

Outre son utilisation en médecine locale et traditionnelle pour traiter les affections inflammatoires, l'huile essentielle (HE) de *Rosmarinus officinalis* présente une activité anti-inflammatoire qui a été documentée à la fois dans des études *in vitro* et *in vivo*. Les données actuelles confirment l'existence d'une activité anti-inflammatoire au sein de l'huile essentielle de Romarin, ce qui renforce sa légitimité en tant qu'agent pharmacologique pour le traitement des pathologies inflammatoires (Borges *et al.*, 2017 ; Borges *et al.*, 2019)

### II.2.3. Activité anti-oxydante

Étant donné que le romarin s'est avéré être un antioxydant particulièrement efficace, plusieurs dérivés antioxydants issus de cette plante sont actuellement disponibles sur le marché. De nombreuses études ont confirmé l'activité antioxydante de l'huile essentielle de romarin, ce qui laisse envisager son utilisation comme antioxydant naturel potentiel par l'industrie alimentaire (Aruoma *et al.*, 1996 ; Bakirela *et al.*, 2008 ; Bozin *et al.*, 2007 ; Wichil *et al.*, 2003 ; Ambrose *et al.*, 2016).

### II.2.4. Autres activités

Huile essentielle de romarin présente des actions bénéfiques sur le foie, notamment en stimulant la sécrétion de bile et en le protégeant contre les dommages (propriétés cholérétiques et anti-hépatotoxiques) (Amin et Hamza., 2005 ; Sotelo-Felix *et al.*, 2002).

Il est utilisé pour les problèmes liés au système nerveux central, au système cardiovasculaire, aux affections génito-urinaires, aux traitements du foie, au système reproducteur et au système respiratoire, pour le traitement de divers maux comme l'arthrite, la goutte, les douleurs musculaires, les névralgies, les plaies et les frottements dans les cheveux pour stimuler les bulbes pileux à une activité renouvelée, pour prévenir la calvitie prématurée (Begum *et al.*, 2013). Et peut avoir un effet hypoglycémiant (antidiabétiques), ce qui peut être utile pour les personnes atteintes de diabète (Bakirela *et al.*, 2008).

## III. Résistance bactérienne aux antibiotiques :

### III.1. Définition :

On peut définir la résistance aux antibiotiques comme une situation où une bactérie devient insensible à l'action d'un antibiotique et continue de se développer en présence de celui-ci, cette résistance représente une cause croissante d'échecs thérapeutiques et à la propagation rapide des maladies qui oblige le prescripteur à l'utilisation d'antibiotiques nouveaux, mais le risque le plus sérieux à moyen et long terme est le manque d'antibiotique actif (**Magiorakos et al., 2012 ; El Khoury et al., 2023**).

### III.2. Types de la résistance bactérienne

On distingue deux grands types de résistance aux antibiotiques, la résistance intrinsèque ou naturelle et la résistance acquise.

#### III.2.1. Résistance naturelle (ou intrinsèque)

Certaines bactéries sont résistantes à des antibiotiques de manière innée, leur patrimoine génétique les rend insensibles à certaines familles d'antibiotiques et elles transmettent ces résistances à leur descendance (**Davies et Davies., 2010 ; Darby et al., 2023**). Cette résistance représente également un marqueur d'identification de la bactérie et constitue donc une caractéristique propre à l'espèce et délimite en fait le spectre d'activité des antibiotiques. (**Morrison et Zembower., 2020**)

#### III.2.2. Résistance acquise :

La résistance bactérienne acquise est un phénomène qui apparaît au niveau des souches d'une espèce donnée, normalement sensible à cet antibiotique. C'est l'acquisition d'un facteur génétique qui se traduit par une réduction de la sensibilité à la molécule qui lui était fatale. Elle peut donc se faire soit par mutation chromosomique soit par acquisition des gènes transférés d'un autre micro-organisme (**Jean-Luc., 2013**).

- Des mutations peuvent survenir au niveau du chromosome de la bactérie, ce sont des événements ponctuels qui lui permettent de contourner l'effet délétère de l'antibiotique. (**Dadgostar., 2019**)
- L'acquisition de gènes de résistance peut résulter du transfert de matériel génétique (plasmide) porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance, venant d'une bactérie résistante, il s'agit du mécanisme de résistance le plus répandu et le plus préoccupant, car il peut simultanément concerner plusieurs antibiotiques, voire plusieurs familles d'antibiotiques (**Smith et al., 2023**).

### III.3. Mécanismes de la résistance bactérienne

Les bactéries peuvent développer une résistance aux antibiotiques par le biais de divers mécanismes (**Darby et al., 2023**). Ces mécanismes de résistance se divisent en trois catégories principales (Figure 02).

#### III.3.1. Modification de la cible des antibiotiques

La modification des cibles des antibiotiques est une stratégie de résistance prévalente chez de nombreux organismes, par laquelle la structure ciblée par l'antibiotique est modifiée de manière enzymatique (**Wu-Wu et al., 2023**). Ce mécanisme peut également être un moyen efficace de résistance aux antibiotiques qui ne nécessite pas de changement mutationnel dans les gènes codant les molécules cibles (**Blair et al., 2015**).

#### III.3.2. Inactivation des antibiotiques

Il existe deux principales voies par lesquelles les bactéries inactivent les médicaments. La première consiste en la dégradation directe du médicament, tandis que la seconde implique le transfert d'un groupe chimique vers le médicament, ce qui altère sa structure et donc sa fonctionnalité (**Wu-Wu et al., 2023**). La dégradation des médicaments est principalement médiée par des enzymes telles que les  $\beta$ -lactamases, responsables de la résistance aux médicaments  $\beta$ -lactamines (**Blair et al., 2014**). Peuvent détruire les antibiotiques ou leur faire perdre leur action antibactérienne, entraînant la destruction ou l'échec du médicament avant qu'il n'agisse sur la cellule bactérienne (**Dever et Dermody, 1991 ; Wu-Wu et al., 2023**).

#### III.3.3. Diminution de la perméabilité bactérienne aux antibiotiques :

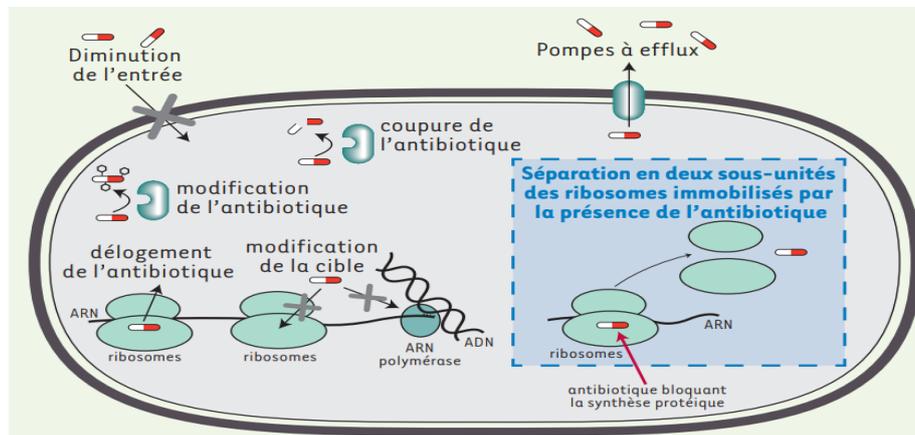
La modulation des concentrations intracellulaires d'antibiotiques est l'un des processus les plus courants conduisant à la résistance. Cette stratégie n'implique pas de modification de la molécule antibiotique en elle-même mais, plutôt une restriction de sa capacité à atteindre sa cible thérapeutique dans des quantités suffisantes (**Darby et al., 2022**). Ce mécanisme peut être obtenue de deux manières :

- **Efflux des antibiotiques :**

Les pompes à efflux sont des protéines capables de pomper un large éventail d'antibiotiques en dehors de la cellule et sont des contributeurs majeurs à la résistance intrinsèque des bactéries, elles peuvent être spécifiques à un antibiotique ou plusieurs antibiotiques, ce qui contribue grandement à la résistance des bactéries à de nombreux antibiotiques (**Kapoor et al., 2017**).

- **La réduction de la perméabilité membranaire :**

Certaines bactéries peuvent résister à l'action des antibiotiques par la réduction de la perméabilité de la membrane externe et la limitation de l'accès des antibiotiques dans la cellule bactérienne. Ce processus peut être réalisé par la régulation à la baisse des porines ou par le remplacement de ces porines par des canaux plus sélectifs (Kapoor et al., 2017).



**Figure 2.** Différents types de résistance aux antibiotiques. (Duval et Cossart, 2019)

#### IV. Principales bactéries multirésistantes (BMR)

L'accumulation de mécanismes de résistance est devenue une caractéristique prévalente au sein du monde bactérien. En conséquence, les bactéries ont développé une résistance croissante, ce qui a conduit à l'émergence de bactéries multirésistantes (BMR). Ces souches bactériennes sont capables de résister à plusieurs familles d'antibiotiques, entraînant ainsi une réduction significative de l'arsenal thérapeutique disponible (Mangin, 2016).

La Société américaine des maladies infectieuses a identifié le *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), l'*Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine, les Enterobacteriaceae productrices de bêta-lactamases à spectre étendu et *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* résistant aux multiples médicaments comme des agents pathogènes bactériens particulièrement difficiles à gérer dans le cadre des maladies infectieuses (Wright et Sutherland, 2007).

##### IV.1. Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (E-BLSE)

Les Enterobacteriaceae sont des bactéries à Gram négatif, anaérobies facultatifs, et bacilles non sporulés. Elles représentent une menace majeure en tant que cause d'infections

nosocomiales et communautaires, affectant divers sites tels que les voies urinaires, respiratoires, sanguines et les plaies (**Mahamat et al., 2019**).

L'utilisation généralisée des antibiotiques de la famille des bêta-lactamines a largement contribué à l'émergence de souches résistantes d'Enterobacteriaceae, en particulier celles produisant des bêta-lactamases à spectre étendu (E-BLSE) (**Mahamat et al., 2019**). Cette prévalence croissante des bactéries à bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) affecte non seulement les environnements hospitaliers, mais touche également des individus auparavant en bonne santé au sein de la communauté (**Adler et al., 2020**).

Les BLSE sont des gènes de bêta-lactamases plasmidiques capables d'hydrolyser la plupart des antibiotiques bêta-lactamines y compris la pénicilline, les céphalosporines de 3<sup>e</sup> et 4<sup>e</sup> génération ainsi que les monobactames (**Yengui et al., 2022 ; Jalal et al., 2023**). Ces mécanismes de résistance se transmettent facilement entre les membres des Enterobacteriaceae, en raison de leur caractère plasmidique (**Mahamat et al., 2019**). Les E-BLSE ne véhiculent pas seulement une résistance aux antibiotiques bêta-lactamines, mais présentent également fréquemment une résistance croisée à d'autres classes d'antimicrobiens (**Alsamawi et al., 2022**), tels que les aminoglycosides, les fluoroquinolones et le triméthoprime/sulfaméthoxazole, ce qui rend leur traitement difficile (**Adler et al., 2020**). Parmi les Enterobacteriaceae, les BLSE ont été principalement identifiées dans les espèces de *Klebsiella* et d'*E. coli*, ainsi que dans d'autres familles d'Enterobacteriaceae telles que *Proteus spp* et *Serratia spp*. (**Mahamat et al., 2019**).

### IV.2. *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABR)

*Acinetobacter baumannii* est un coccobacille gram-négatif, de la famille Moraxellaceae pathogène et opportuniste qui est souvent multirésistant aux antibiotiques (**Rada et al., 2022**), est reconnu comme un agent pathogène cliniquement significatif responsable d'un large éventail d'infections nosocomiales graves (**Novović et al., 2023**), sa signification clinique est largement due à sa capacité remarquable à acquérir ou à réguler divers déterminants de résistance, ce qui en fait l'un des organismes multirésistants les plus réussis menaçant la thérapie antibiotique actuelle (**Moubareck et al., 2020**).

Les souches *Acinetobacter baumannii* multirésistantes (ABR) sont capables de survivre aux antimicrobiens grâce à une variété de mécanismes, chacun étant spécifique à certains types de médicaments (**Vázquez-López et al., 2020**), notamment les  $\beta$ -lactamases, les enzymes de

modification des aminosides, les pompes à efflux, les défauts de perméabilité et les modifications des sites cibles (Lee et al., 2017).

### IV.2.1. Résistance *Acinetobacter baumannii* aux bêta-lactamines :

*Acinetobacter baumannii* est une bactérie qui est capable de produire une grande variété de bêta-lactamases, à la fois chromosomiques et acquises, le mécanisme le plus répandu de résistance est l'hydrolyse enzymatique par les  $\beta$ -lactamases soit par la production de pénicillinases, la surexpression de céphalosporinase chromosomique, soit par un phénomène plus rare les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) qui peuvent conférer une résistance à toutes les bêta-lactamines sauf les carbapénèmes (Decré, 2012 ; Novović et Jovčić, 2023). Il existe d'autres mécanismes de résistance non enzymatique également l'implication de systèmes d'efflux, des modifications ou la perte des porines, et des modifications des protéines liant les pénicillines (PLP) (Rafei, 2021).

### IV.2.2. Résistance *Acinetobacter baumannii* aux autres antibiotiques :

Le mécanisme de résistance d'*Acinetobacter baumannii* aux différentes familles d'antibiotiques est illustré dans le tableau ci-dessous.

**Tableau II** : Mécanismes de résistances d'*Acinetobacter baumannii* aux familles d'antibiotiques

Antibiotique	Mécanisme de résistance	Reference
Aminoglycosides	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Modification enzymatique de la sous-unité ribosomale</li> <li>- la méthylation de l'ARNr 30S</li> <li>- L'altération du site cible par des méthyltransférases de 16S rRNA</li> <li>- Suractivité des pompes d'efflux</li> <li>- Diminution de la perméabilité aux antibiotiques</li> </ul>	(Roy et al., 2022) (Kyriakidis et al., 2021).
Fluoroquinolones	<ul style="list-style-type: none"> <li>-Mutation génétique de l'ADN gyrase et la topoisomérase IV</li> <li>- Pompe à efflux chromosomique</li> </ul>	(Ostrer et al., 2018) (Moubareck et Hammoudi, 2020).
Macrolide	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Méthyltransférase de l'ARNr 23S</li> <li>-Phosphotransférases Mph(A) et Mph(E)</li> <li>- Pompe à efflux MacAB-TolC</li> </ul>	(Adrien, 2022) (Greene et al., 2018)
Colistine Polymyxins	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Modifications de LPS cibles.</li> <li>- Pompe à efflux active</li> </ul>	(Moffatt et al, 2019) (Novović et Jovčić, 2023)
Tetracyclines	-Suractivité de la pompe à efflux	(Costello et al., 2016)
Rifampicin	- l'efflux actif et la modification enzymatique par l'ADP ribosyltransférase	Vázquez-López et al., 2020)

### IV.3. *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (PAR) :

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie Gram-négative, en forme de bâtonnet, asporogène et monoflagellée de la famille des Pseudomonadaceae (Wu et al., 2015), c'est l'un des principaux agents pathogènes à l'origine des infections nosocomiales notamment les infections des voies urinaires, des bactériémies, des voies respiratoires et des infections de plaies (Ugwuanyi et al., 2021).

*Pseudomonas aeruginosa* possède une capacité extraordinaire à conférer une résistance via plusieurs mécanismes de résistance à un rythme alarmant, ce qui entraîne une résistance à presque tous les antibiotiques disponibles (Coyne et al., 2022), y compris les aminosides, les fluoroquinolones et les  $\beta$ -lactamines (céphalosporines de troisième et quatrième génération, carbapénème, monobactame) ce qui suscite de vives inquiétudes sur le plan clinique (Ugwuanyi et al., 2021). Les principaux mécanismes de résistance de *P. aeruginosa* sont souvent classés en intrinsèques et acquis, ainsi qu'adaptatifs figure(3) (Kunz Coyne et al., 2022; Qin et al., 2022)

- a. **Les mécanismes de résistance intrinsèque** : est due à une perméabilité réduite de la membrane externe, à la présence de systèmes de pompage d'antibiotiques et à la production d'enzymes endogènes d'inactivation d'antibiotiques (Qin et al., 2022)
- b. **Les mécanismes de résistance acquis** : Résultent soit d'un transfert horizontal de gènes (acquisition d'enzymes modifiant les aminosides et de  $\beta$ -lactamases) soit d'événements mutationnels qui entraînent une surexpression de pompes de sortie ou de  $\beta$ -lactamases, ou une expression réduite ou modifiée des sites cibles et des porines. (Coyne et al., 2022)
- c. **Les mécanismes de résistance adaptative** : par la formation de cellules persistantes résistantes et multi-résistantes médiée par le biofilm. (Pang et al., 2019)

#### IV.4. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM)

*Staphylococcus aureus* est une bactérie cocci à Gram positif, non mobile et coagulase positive, appartenant au phylum des Firmicutes (Lee et al., 2018). Cependant, *S. aureus* est un pathogène opportuniste et dans les bonnes conditions, il peut causer des infections plus graves. Les brûlures et les infections des plaies chirurgicales sont couramment envahies par *S. aureus* (Stapleton et Taylor, 2002).

*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) est un pathogène responsable d'une variété d'infections potentiellement mortelles. De plus, les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline sont souvent résistantes à d'autres classes d'antibiotiques

par différents mécanismes, ce qui limite les options de traitement du SARM et est associé à de mauvais résultats cliniques (**Lakhundi et Zhang, 2018 ; Liu et al., 2016;Parsons et al., 2023**).

Les souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) expriment une protéine de liaison supplémentaire à la pénicilline (PBP), codée par le gène *mecA*, connue sous le nom de PBP2 (**Craft et al., 2019**). Il s'agit d'une transpeptidase avec une affinité réduite pour les antibiotiques  $\beta$ -lactamines, qui médie la résistance à la méthicilline dans le SARM. Outre *mecA*, d'autres homologues (*mecB*, *mecC*, *mecD*) ont récemment été découverts. Ces éléments génétiques conférant la résistance à la méthicilline sont transportés sur le chromosome cassette staphylococcique *mec* (SCC*mec*), un élément génétique mobile (MGE) (**Lakhundi et Zhang, 2018 ; Liu et al., 2016**). On décrit souvent *mecB* comme étant présent dans un complexe mécanisme de transposon (Tn6045) chez *Micrococcus caseolyticus*. Bien que la présence de *mecC* ait été signalée dans le SARM associé au bétail, le transfert de *mecC* du SARM peut se produire d'une espèce à une autre. Récemment, *mecD* a été observé dans des isolats bovins et canins de *M. caseolyticus* (**Becker et al., 2018**).

# **Chapitre II**

## **Matériel et méthodes**

Notre étude a été réalisée durant la période allant du 02 février au 15 juin 2023, au niveau des laboratoires suivants :

- Le laboratoire d'hôpital Ibrahim Trichine (Faubourg) dans le but d'isoler et d'identifier des bactéries multirésistantes provenant de prélèvements cliniques divers, ainsi que d'analyser l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.
- Le laboratoire PFE de la faculté des Sciences de la Nature et de la Vie à l'université de Blida 1 afin de préparer les milieux de culture et stérile de notre matériel non biologique.
- Au niveau d'établissement BIOEXTRAPAMAL dans la ville d'Oued ElAlleug où nous avons fait l'extraction de notre huile essentielle.
- Le centre de recherche scientifique et technique en analyses physico-chimiques (CRAPC) de Bou Ismail où nous avons fait l'étude de la composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*.

### I. Matériel

#### I.1. Matériel biologique

##### I.1.1. Prélèvements

Les échantillons d'urine, de pus et d'hémocultures constituent les prélèvements les plus fréquemment utilisés pour isoler les bactéries multirésistantes chez les patients hospitalisés ou externes. Pour garantir l'asepsie, il est impératif de respecter des règles strictes lors des prélèvements, qui doivent être réalisés avant toute initiation d'une antibiothérapie.

Chaque prélèvement est accompagné d'une fiche de renseignements contenant des informations sur le patient telles que son nom, prénom, âge, sexe, service d'hospitalisation et traitement antibiotique en cours.

**Tableau :** Types et nombres des prélèvements effectuée

Prélèvements	Nombres de prélèvements
Urines	515
Pus	62
Hémoculture	21

##### II.1.2. Matériel végétal : Collection et préparation

Notre étude a porté sur une espèce de plante de la famille des Lamiaceae qui est *Rosmarinus officinalis* figure 3. La récolte a été effectuée en Février 2023 au niveau de département de biologie université de Saad Dahleb, wilaya de Blida.



Figure 3. Feuilles et fleurs de *Rosmarinus officinalis* (Originale, 2023).

### II.2. Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique, utilisé durant notre stage (verreries, réactifs, milieux de culture...ect), est illustré dans l'annexe 1.

## II. Méthodes

### II.1. Examen bactériologique des prélèvements

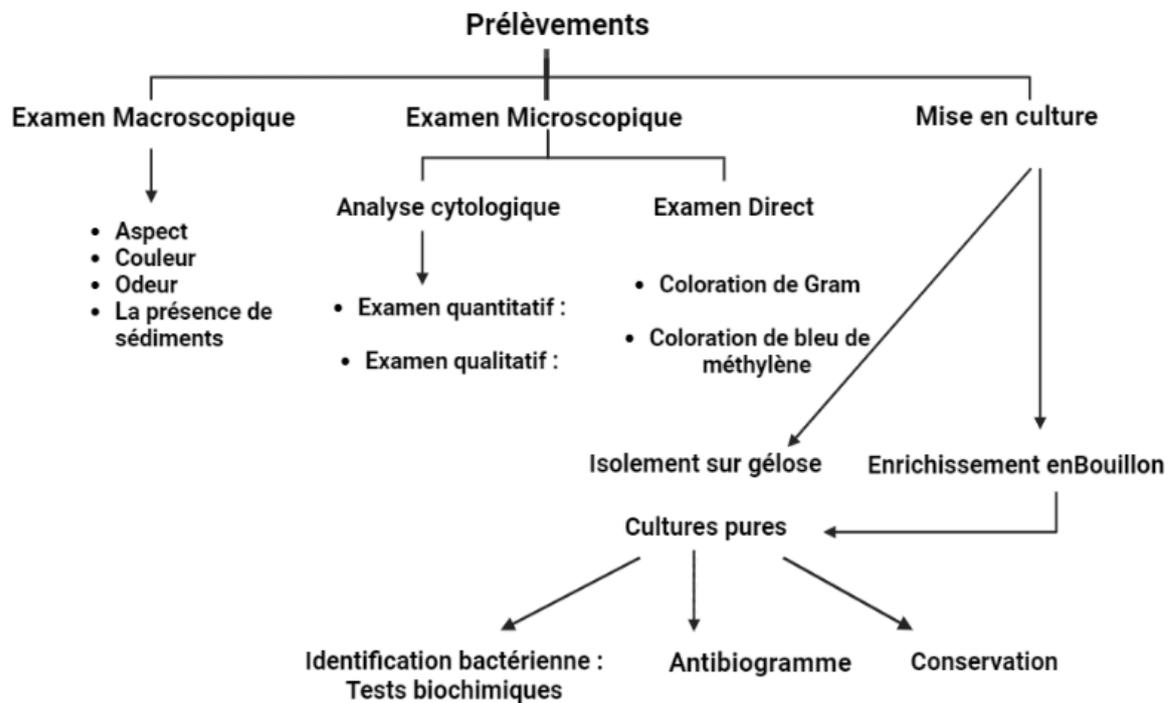


Figure 4. Schéma général de la démarche de l'analyse bactériologique.

### II.1.1. Examen macroscopique

L'examen macroscopique des prélèvements pathologiques se base sur l'observation à l'œil nu des caractéristiques suivantes : l'aspect, la couleur, l'odeur ainsi que la présence ou l'absence de sang. Ces éléments initiaux peuvent fournir les premières informations sur la présence ou l'absence d'une infection.

### II.1.2. Examen microscopique

#### a. Analyse cytologique

Cet examen doit être réalisé dans les deux heures suivant le prélèvement, afin de prévenir toute altération des éléments cellulaires. Il consiste à observer l'échantillon pathologique au microscope à l'objectif ( $\times 40$ ) à l'état frais. L'objectif de cette analyse cytologique peut varier en fonction de la nature de l'échantillon :

- **Une analyse quantitative** : cette analyse permet de déterminer le nombre d'éléments figurés par unité de volume.
- **Une analyse qualitative** : est réalisée lorsque des réactions cellulaires sont détectées. Cette analyse qualitative vise à préciser la nature des éléments figurés observés (les germe, les cristaux, les hématies, les leucocytes, les cellules épithéliales...etc.)

**Mode opératoire** : Les différentes étapes décrivant l'examen quantitatif cyto bactériologique des urines sont représentées dans la figure 3.



**Figure 5.** Différentes étapes de l'examen quantitatif cyto bactériologique sur la cellule de Malassez

#### b. Examen direct après coloration

##### ❖ Coloration différentielle (Coloration de Gram)

La coloration de référence utilisée en bactériologie permet de classer les bactéries en deux catégories distinctes : les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif. Cette

classification repose sur les caractéristiques de la paroi bactérienne et permet ainsi de déterminer avec plus de précision la morphologie des bactéries.

### ❖ Coloration non différentielle (Coloration au bleu de méthylène)

La coloration au bleu de méthylène est réalisée en faisant couler une solution de bleu de méthylène sur un frottis correctement fixé pendant 1 minute, la lame est ensuite rincée à l'eau du robinet et séchée entre deux feuilles de papier examiner au microscope à l'immersion à l'objectif×100

**Lecture :** structures colorables (les bactéries ; les éléments cellulaires ; les levures, ...etc.) apparaissent bleues. Cet examen apporte des informations immédiates au clinicien sur le type de bactéries impliquées ou la présence de levures permettant d'adapter le traitement.

### II.1.3. Culture et isolement des bactéries

La mise en culture constitue une étape cruciale pour la démarche de l'analyse bactériologique. Le but est de rechercher, d'isoler et d'identifier les bactéries présentes dans les prélèvements.

#### ➤ Pour les prélèvements des urines

L'isolement est effectué sur les milieux de cultures suivants : les milieux non chromogènes (GN et Hektoen) et les milieux chromogènes (Chromagar).

#### Mode d'ensemencement adapté

C'est la méthode de l'anse calibrée, on prélève à l'aide d'une anse ou d'une pipette pasteur 10µl d'urine homogénéisé, et on l'ensemence sur le milieu gélosé selon une méthode standardisée du point de dépôt jusqu'au milieu de la boîte par une strie centrale, puis par des stries horizontales et on incube la boîte de pétri pour une durée de 24h à 37°C. Cette méthode simple, sans dilution préalable, pour estimer de manière approchée la quantité des bactéries dans les urines tout en permettant l'obtention des colonies isolées.

**Lecture :** 10 Colonies avec une boucle de 10µl correspondent à  $10^3$  UFC/ml

#### ➤ Pour les autres prélèvements pathologiques (pus, hémoculture)

Les échantillons prélevés à l'aide d'écouvillons sont introduits directement dans un tube contenant le bouillon d'enrichissement BHIB (bouillon cœur cerveau). Quant aux prélèvements d'hémoculture, ils sont incubés pendant 24 heures à 37 °C avant d'être ensemencés.

### **Modes d'ensemencement adaptés :**

Une fois les milieux coulés dans les boîtes de Petri et séchés, si l'échantillon est prélevé à l'aide d'un écouvillon, le premier quadrant de la boîte de Petri est ensemencé directement avec l'écouvillon lui-même. Ensuite, on termine l'ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur. En revanche, si l'échantillon est prélevé à l'aide d'une seringue ou est sous forme liquide, une goutte est déposée à la périphérie de la boîte, puis on procède à l'ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur selon la méthode des quadrants sur les cinq principaux milieux : GN, Hektoen, Chapman, gélose au sang frais et gélose au sang cuit. Parfois, les milieux chromogènes (Uriselect ou Chromagar) sont également ensemencés.

**Incubation :** les géloses nutritives, Chapman et Hektoen sont incubés dans une étuve pendant 24 heures à 37°C. Les géloses au sang cuit et au sang frais sont incubées dans une jarre dépourvue d'oxygène (en atmosphère enrichie en CO<sub>2</sub>), afin de favoriser la croissance des bactéries capnophiles, pendant 24 heures à 37°C.

### **II.1.4. Identification des souches bactériennes**

Selon l'observation de l'aspect morphologique, la taille, forme et consistance des colonies bactériennes, ainsi que leurs caractéristiques de croissance (vitesse, type respiratoire, exigences culturales, etc.), pigmentation, odeur et caractère hémolytique sur gélose au sang ainsi que de la morphologie des bactéries après coloration, permette d'effectuer une première caractérisation, avec une orientation possible des résultats au cours de l'identification vers une famille bactérienne ou un genre bactérien spécifique.

#### **1. Principaux tests d'orientation**

##### **a. Test d'oxydase**

Le test d'oxydase est un test rapide d'identification des bactéries à Gram négatif par la détection de l'enzyme cytochrome oxydase.

**Mode opératoire :** La recherche de l'oxydase s'effectue avec des disques prêts à l'emploi du commerce. Déposer un disque d'oxydase sur une lame et l'imbiber avec une goutte d'eau physiologique stérile. Prélever 1 à 2 colonies pures fraîchement isolées et les déposer sur le disque. La présence d'oxydase se manifeste par une coloration violette dans un délai de 60 seconde (cette méthode n'est pas recommandée si l'on souhaite repiquer les colonies).

**Lecture :** une réaction positive se traduit par virage de la couleur vers bleu foncé à violet dans un délai de 30 secondes

### **b. Test de catalase**

Le test de catalase permet de différencier ou d'identifier les micro-organismes en vérifiant leur capacité à produire des catalases. Cette enzyme est largement produite par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire, ce qui leur permet de dégrader les peroxydes  $H_2O_2$  en  $H_2O$  avec dégagement d' $O_2$  qui protègent les micro-organismes des métabolites d'oxygène toxiques. (L'accumulation de ces peroxydes aurait un effet létal sur les bactéries).

**Mode opératoire :** Sur une lame propre et séchée déposer une goutte d'eau oxygénée  $H_2O_2$  et à l'aide d'une pipette Pasteur en ajouter 1 à 2 colonies pures fraîchement isolées et les déposer sur la lame.

**Lecture :** La présence de catalase est marquée par la formation immédiate des bulles d' $O_2$

### **c. Teste de coagulase libre**

Le test de coagulase libre est une méthode utilisée pour différencier les souches de *Staphylococcus aureus* des autres espèces à coagulase négatif.

**Mode opératoire :** Trois tubes sont préparés, tous contenant du plasma humain frais à TP (100%) : un témoin négatif contenant uniquement du plasma, un témoin positif contenant du plasma et quelques colonies de *Staphylococcus aureus* ATCC, et notre échantillon contenant du plasma et des bactéries à tester (2 à 3 colonies pures fraîchement isolées). Les tubes sont homogénéisés, puis incubés à 37 °C pendant 4 à 5 heures, parfois jusqu'à 24 heures.

**Lecture :** Après l'incubation, on examine la présence ou l'absence de coagulase dans les tubes. Si un caillot se forme, cela indique la présence de coagulase libre (la souche est coagulase positif). Si aucun caillot n'est observé, cela indique que la souche est coagulase négatif.

## **2. La galerie API 20 E**

La galerie API 20E est un système standardisé (BioMérieux) de tests biochimiques utilisé pour l'identification des espèces de bactéries appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* et d'autres genres apparentés en utilisant 20 tests biochimiques miniaturisés évaluer la capacité de la bactérie à métaboliser ou à produire certaines enzymes spécifiques.

**-Préparation de la galerie :** Répartir un peu d'eau stérile dans les alvéoles du fond pour créer une atmosphère humide puis déposer stérilement la galerie dans la boîte d'incubation et inscrire la référence de la souche sur la boîte.

**-Préparation de l'inoculum :** Faire une suspension bactérienne à partir des colonies pures fraîchement isolées dans un tube d'éauphysiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl)ou dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium, de turbidité égale 0,5 Mcfarland.

**-Inoculation de la galerie :** à l'aide d'une pipette pasteur ou une seringue stérile on introduit la suspension bactérienne dans les tubules de la galerie en évitant la formation de bulles.

- Pour les tests encadrés CIT, VP, GEL, on remplit les tubules et les cupules.

- Pour les tests soulignés ADH, LDC, ODC, H<sub>2</sub>S, URE on remplit les cupules avec de l'huile de vaseline pour créer une anaérobiose.

-Pour les autres tests on ne remplit que les tubules.

-On Refermer la boîte d'incubation avec son couvercle et on l'incube à 37°C pendant 18-24 heures.

### **Lecture de la galerie :**

- Après incubation, on ajoute une goutte de chacun des réactifs suivants :
  - Test IND : Kovacs
  - Test VP : VP1 et VP2
  - Test TDA : TDA
- La lecture de la galerie doit se faire en se référant au tableau de lecture (**Annexe**) et l'identification est obtenue à l'aide du Catalogue Analytique, ou bien à l'aide du logiciel d'identification.

### **II.1.5. Test de la sensibilité aux antibiotiques**

#### **1. Antibiogramme standard**

L'antibiogramme standard est un test in vitro de sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques par la technique de diffusion sur milieux gélosés (Muller Hinton) qui est réalisée selon le communiqué du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM. 2010).

#### **Technique**

- Préparation du milieu de culture : La gélose Muller Hinton est étalée dans des boîtes de Petri avec une épaisseur de 4 mm et séchée à 37 °C avant utilisation.
- Préparation de l'inoculum : à partir d'une culture pure de 18 heures sur un milieu d'isolement, quelques colonies bien isolées et identiques sont prélevées à l'aide d'une pipette Pasteur. La pipette est ensuite déchargée dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl), et la suspension bactérienne est soigneusement homogénéisée.
- Standardisation de l'inoculum : La suspension bactérienne est ajustée pour atteindre une équivalence de 0,5 unités de McFarland (ou une densité optique de 0,08 à 0,10 mesurée à 625 nm).
- Ensemencement : L'ensemencement doit être effectué dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum. Il est réalisé en utilisant une technique d'écouvillonnage stérile, où l'écouvillon est plongé dans la suspension, retiré du tube en l'essorant doucement contre les parois, puis utilisé pour étaler uniformément l'inoculum sur toute la surface de la gélose en effectuant trois rotations de 60° après chaque application, assurant ainsi une distribution égale de l'inoculum. Enfin, l'écouvillon est passé tout autour du bord de la surface de la gélose.
- Application des disques d'antibiotiques : À l'aide d'une pince bactériologique stérile, 5 à 6 disques au maximum sont placés dans chaque boîte de Petri. Une fois le disque en contact avec la surface de la gélose, il ne doit plus être déplacé.
- Les boîtes sont laissées à température ambiante pendant 10 à 20 minutes pour permettre la pré-diffusion des antibiotiques.
- Incubation : Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 16 à 18 heures.

**Lecture :** Mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, à l'extérieur de la boîte fermée et en comparaison ces résultats aux valeurs critiques figurant dans l'Annexe N°2. Cela permet de déterminer si la souche bactérienne est sensible, résistante ou intermédiaire à chaque antibiotique testé.

## 2. Tests complémentaires

### 2.1. Recherche de la résistance de *Staphylococcus sp* : (Rahal et al. 2005)

**Technique :** La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl pénicillines (oxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de cefoxitine (30µg) dans les conditions usuelles de l'antibiogramme par diffusion. On dit qu'une souche de *Staphylococcus aureus* est résistante à la méthicilline (SARM) si elle présente une résistance à l'oxacilline.

**Lecture :** La lecture du diamètre d'inhibition doit se faire à l'aide d'un pied à coulisse.

-Si le diamètre de la cefoxitine est  $\leq 19\text{mm}$ , la souche est dite résistante à l'oxacilline SARM.

-Si le diamètre de la cefoxitine est  $\geq 20\text{mm}$ , la souche est dite sensible à l'oxacilline SARM.

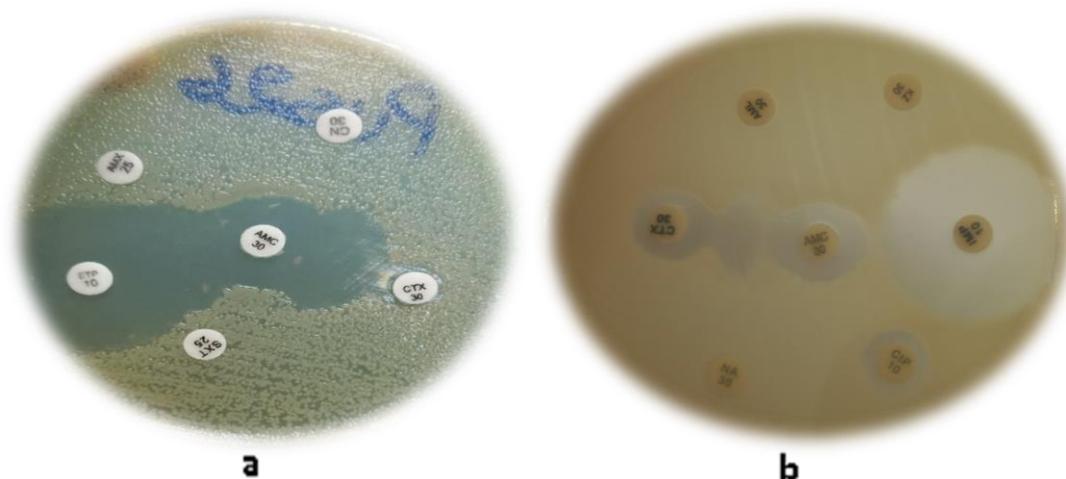
**Recherche de la bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) chez les entérobactéries :**

### 2.2. Teste de synergie (ou DD-test) : (Jarlier et *al.*, 1988)

Ce test est utilisé pour la détection des BLSE dans une souche donnée. Ces enzymes peuvent être mises en évidence par la méthode des disques, qui consiste à observer une interaction synergique entre un disque d'antibiotique contenant un inhibiteur de bêta-lactamase et les disques de céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, ceftriaxone) et l'aztréonam. Cette interaction est souvent décrite comme ressemblant à un "bouchon de champagne".

**Technique :** La recherche de  $\beta$ -lactamase à spectre étendue est fait dans les conditions standard de l'antibiogramme, puis en disposant les disques d'ATB : un disque d'amoxicilline + acide clavulanique (AMC 30 $\mu\text{g}$ ) et à 30mm (centre à centre) d'un C3G (CTX 30 $\mu\text{g}$  ; CRO 30 $\mu\text{g}$  ; CAZ 30  $\mu\text{g}$ ) et incube 18 heures à 35°C.

**Lecteur :** la production d'un BLSE se traduit par l'apparition de bouchon de champagne (Image de synergie) entre C3G et AMC.



**Figure 6.** Bouchon de champagne chez (a) *E.coli* et (b) *K.pneumoniae* (originale, 2023).

### 2.3. Teste de double disque (teste espagnole)

Ce test vise à détecter une augmentation de la zone d'inhibition autour d'un disque de céphalosporine de troisième génération (C3G) lorsque précédé par l'application d'un disque contenant un inhibiteur de la bêta-lactamase à spectre étendu (AMC), en comparaison avec un autre disque portant la même céphalosporine et placé côte à côte sur la gélose de Mueller-Hinton (Rahal et al., 2005).

#### Technique :

Pour la préparation de l'inoculum et l'ensemencement 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 et on laisse diffuser à la température ambiante du laboratoire pendant une heure de temps et on remplace le disque d'AMC par un disque de CTX (C3G). On incube pendant 18 h à  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ .

**Lecture :** le test du double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3eme génération appliqué après diffusion du disque AMC ou TCC est  $\geq$  de 5mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de céphalosporine de 3ème génération (CTX), ce qui indique une production de bêtalactamase à spectre élargi.



**Figure7.** Test du double disque pour la détection des BLSE, (a) Teste du double disque positive (BLSE+), (b) Teste du double disque négative (BLSE-) (Photos originale, 2023)

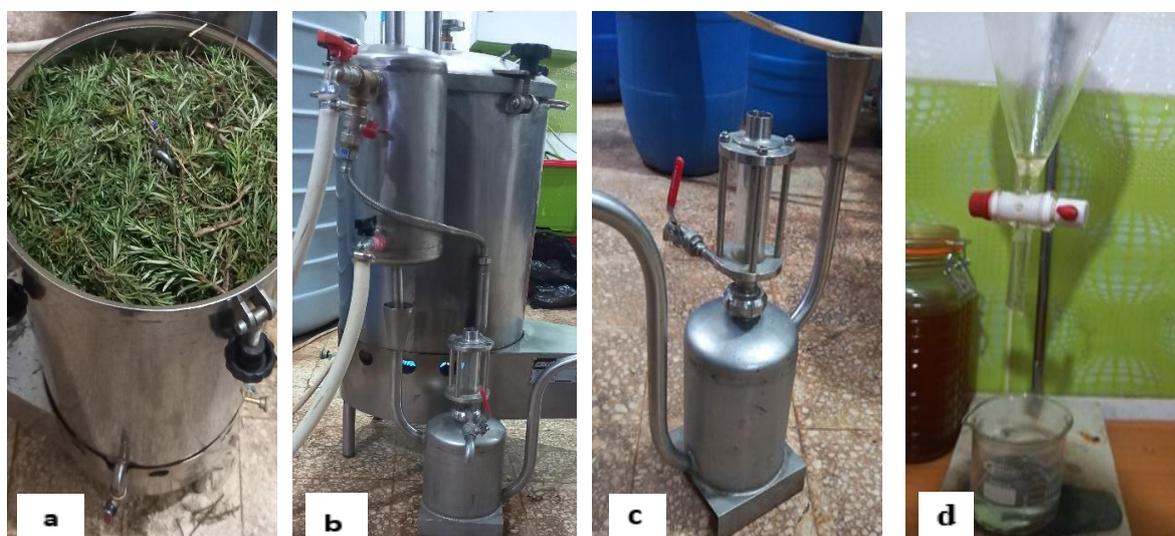
### II.1.6. Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* :

### 1. Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle de romarin a été effectuée par la méthode d'hydrodistillation (Figure 7)

#### Principe

Cette technique implique l'immersion directe de la matière première aromatique dans un alambic rempli d'eau, qui est ensuite portée à ébullition sur une source de chaleur. Pendant le processus, la vapeur d'eau chargée d'huiles essentielles est générée et refroidie dans un condenseur, où elle se condense pour former un mélange d'eau et d'huile essentielle. Ce mélange est ensuite recueilli dans un essencier.



**Figure 8.** Appareillage utilisé et les différentes étapes de l'extraction de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* selon le mode opératoire (Photos originale, 2023)

#### Mode d'opération : Figure 7

**a. Remplissage de la chaudière :** Nous avons collecté une quantité égale de 10,5 kg de *R.officinalis* et ensuite coupé en petits morceaux afin d'augmenter la surface de contact, placer les morceaux de plante dans une chaudière en acier inoxydable et ajouté 20 litres d'eau (un volume équivalent au double de la quantité de plantes utilisée).

**b. Chauffage de l'eau :** par placé la chaudière sur une source de chaleur et utilisé un thermomètre pour surveiller la température. La température de l'eau devait être suffisamment élevée pour produire de la vapeur.

**c. Collecte notre l'huile essentielle :** Lorsque l'eau a commencé à bouillir et à produire de la vapeur, celle-ci a traversé les morceaux de plante, entraînant les huiles essentielles. La vapeur chargée d'huile essentielle s'est élevée dans le tuyau pour ensuite se condenser dans le récipient en verre. Cela a formé une couche d'huile essentielle flottant sur l'eau condensée.

**d. Décantation :** les distillats (huile essentielle et hydrolat) sont recueillis dans un essencier, dans lequel ils décantent (figure 2). L'huile essentielle, moins dense que l'hydrolat, surnage en haut de l'essencier, ce qui permet de la récupérer. Les distillats sont filtrés après décantation pour éliminer tout résidu de matière.

**e. Stockage de l'huile essentielle transféré l'huile essentielle filtrée** dans des flacons en verre foncé, hermétiquement fermés, et les avons stockés dans un endroit frais, sombre et sec afin de préserver leur qualité.

### 2. Rendement de l'extraction de l'huile essentielle

Selon la norme **AFNOR (1986)**, le rendement des huiles essentielles (RHE) est défini comme étant le rapport entre la masse d'huile essentielle ( $M'$ ) obtenue en (g) après l'extraction et la masse de la matière végétale ( $M$ ) utilisée en (g). Le rendement est exprimé en pourcentage, il est exprimé par la formules suivante :  $RHE = M'/M \times 100$

### 3. Analyse chromatographique de l'huile essentielle de romarin

La chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC-MS) est réservée à l'analyse de composés relativement volatils et thermiquement stables, repose sur la séparation des composés chimiques dans un échantillon par chromatographie en phase gazeuse, suivie de leur identification et quantification par spectrométrie de masse (**Bouchonnet et Libong, 2004**).

**Le mode opératoire :** consistait à utiliser un chromatographe en phase gazeuse composé de trois modules : un injecteur, une colonne capillaire placée dans un four et un détecteur. L'huile essentielle a été analysée sur un chromatographe Hewlett Packard Agilent 6890 plus, équipé d'une colonne capillaire HP-5MS de dimensions 30m x 0.25mm et d'une épaisseur de film de 0.25 $\mu$ m, comportant une phase stationnaire composée de 5% de phényle et de 95% de diméthylpolysiloxane. Le four détecteur a été programmé pour maintenir une température de 60°C pendant 8 min, puis augmenter à un taux de 2°C/min jusqu'à 250°C, où il est resté

isotherme pendant 10 min, ce qui a donné un temps total d'analyse de 113 min. Le gaz vecteur utilisé était de l'hélium pur 6.0, délivré à un débit de 0.6 ml/min.

Les conditions du spectromètre de masse (Hewlett Packard Agilent 5973) étaient les suivantes : l'analyseur de masse était de type quadripôle, l'ionisation s'est faite par impact électronique avec une énergie de 70 eV, et la source a été maintenue à une température de 230°C. Le mode d'analyse utilisé était le mode SIM, avec un délai du solvant.

#### 4. Etude de l'effet antibactérien de l'HE de romarin

##### 4.1.Méthode de l'aromatogramme (diffusion en milieu gélosé ou Méthode de disque).

C'est une méthode de mesure *in vitro* dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne des huiles essentielles (Girault et Bourgeon., 1971). Cet examen est équivalence à celle antibiogramme ou en remplace les antibiotiques par des disques vierges imbibés par une concentration bien défini d'huile essentielle (Benjilali et al., 1986 ; Boukhatem et al., 2014).

#### Technique

Nous avons suivi les mêmes étapes que celles de l'antibiogramme pour la préparation du milieu de culture, de l'inoculum et de l'ensemencement. On dépose après un disque vierge stérile de 9 mm de diamètre à la surface du milieu déjà inoculée avec une suspension de la bactérie, imbibé d'une dose de 30 µl d'huile essentielle pure de *Rosmarinus officinalis*. Les boîtes sont fermées et incubées à température ambiante pendant 20 minutes afin que l'huile essentielle puisse diffuser ensuite les boîtes sont incubées dans une étuve à 37 °C pendant 24. Chaque test est réalisé 3 fois.

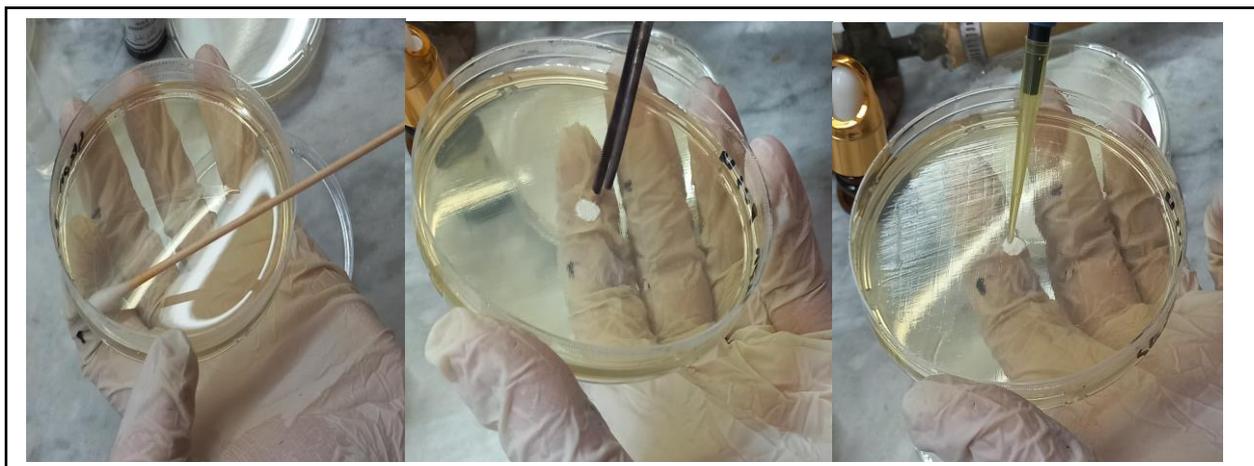


Figure 9. Technique de l'aromatogramme (Originale, 2023).

**Lecture :** Mesurer les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse métallique, en comparaison ces résultats selon échelle d'estimation de l'activité antibactérienne citée par **Sadou et al., 2015** :

- Action inhibitrice très efficaces :  $ZI \geq 25$  mm (+++)
- Action inhibitrice important :  $16 \leq ZI < 25$  mm (++)
- Action inhibitrice intermédiaire :  $10 \leq ZI < 16$  mm (+)
- Sans action inhibitrice :  $ZI < 10$  mm (-)

### 4.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'un agent antimicrobien nécessaire pour inhiber visiblement la croissance d'un microorganisme spécifique qui utilise pour évaluer la sensibilité d'une souche bactérienne à une substance antibactérienne (**Andrews, 2001**).

Pour déterminer les CMI des huiles essentielles vis-à-vis des souches sensibles, nous avons utilisé la méthode de dilution sur milieu solide.

- **Méthode de dilution sur milieu solide**

Cette technique est recommandée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI, 2007**) afin d'évaluer la sensibilité des bactéries aux agents antibactériens. Cette méthode repose sur l'incorporation d'un agent antimicrobien (huile essentielle) dans un milieu gélosé à des concentrations variables par des dilutions en série et suivie de l'ensemencement d'un inoculum souche bactérienne étudiée à la surface des boîtes contenue du milieu gélosé.

#### **Technique :**

**-Préparation de l'inoculum :** Faire une suspension bactérienne à partir des colonies pures fraîchement isolées dans un tube d'eau physiologique stérile à 0.9% de sel (NaCl) ou dans une ampoule de NaCl 0,85% Medium, de turbidité égale 0,5 Mcfarland.

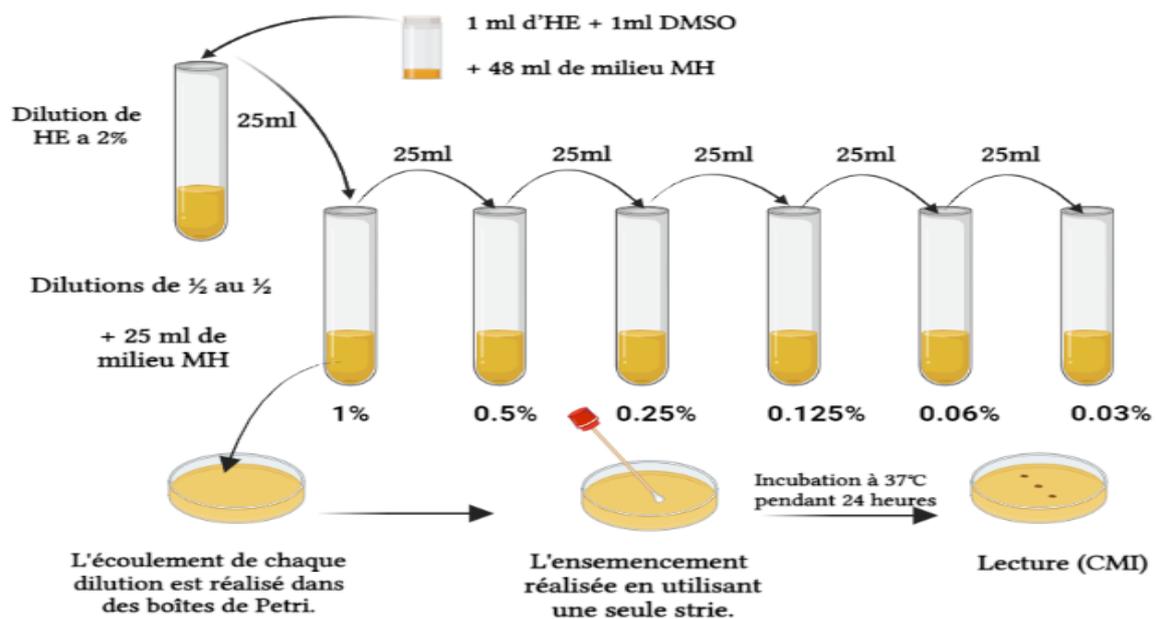
**-Préparation des dilutions d'HE de 2% à 0.03% :** Une dilution d'huile essentielle (HE) à 2% a été préparée en diluant 1ml d'HE pure (100%) ajoutée de 1 ml DMSO stérile (1 ml) dans 48 ml de milieu MH liquide dans le premier flacon puis en agite légèrement le mélange (Milieu MH avec HE) pour assurer une bonne homogénéisation. Par la suite des dilutions de  $\frac{1}{2}$  au  $\frac{1}{2}$  sont réalisés à partir de premier flacon 2%et compléter avec 25 ml de milieu MH stérile ce qui donne la dilution 1%procède de la même manière jusqu'à obtenir la dernière dilution à 0,03%.

Les dilutions sont ensuite versées dans des boîtes de Pétri numérotées avec le nombre de dilution correspondant.

-**Ensemencement** : est effectué en touchant la surface du milieu gélosé avec un écouvillon stérile

-**Incubation** : à 37 °C pendant 24 heures.

- Chaque test est réalisé 3 fois.



**Figure 10.** les étapes de la méthode de dilution sur milieu solide (originale)

### Lecture :

Les résultats sont lus visuellement en observant la présence éventuelle de colonies microbiennes, ce qui correspond à la concentration la plus faible de l'huile essentielle (HE) pour laquelle aucune croissance microbienne n'est perceptible à l'œil nu.

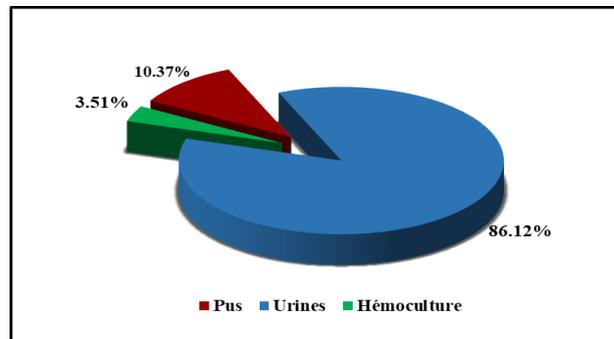
-Pour garantir la fiabilité de notre étude sur l'activité antimicrobienne, chaque test a été minutieusement réalisé à trois reprises, afin d'analyser ces données de manière approfondie, nous avons effectué une étude statistique en utilisant Microsoft Excel.

# **Chapitre III**

## **Résultats et discussion**

### 1. Répartition des résultats selon le type de prélèvement

Durant la période d'étude, nous avons reçu **598** prélèvements à visée diagnostic. La répartition des prélèvements selon leur type est présentée dans la figure (1) :



**Figure 11.** Répartition des prélèvements selon leur nature

Parmi les 598 prélèvements effectués, une prédominance des prélèvements urinaires est observée, avec 515 échantillons d'urine, ce qui représente un taux de 86,12%. Les prélèvements de pus viennent ensuite avec 62 échantillons, constituant ainsi 10,37% de l'ensemble. Enfin, les prélèvements d'hémoculture représentent la plus petite proportion parmi les prélèvements diagnostiques étudiés, avec seulement 3,51% du total. Ces données sont similaires à celles obtenues par **Moussa et al., (2021)** et **Bakhat et al., (2023)**, avec une prédominance des prélèvements d'urine représentant 70,42 % et, suivis par des prélèvements de pus avec 7,31 %, et des hémocultures avec seulement 0,91 %.

### 2. Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements

Sur les 598 prélèvements reçus, 126 ont présenté une culture bactérienne positive, soit un taux de positivité de 21.07%.

- **Urine**

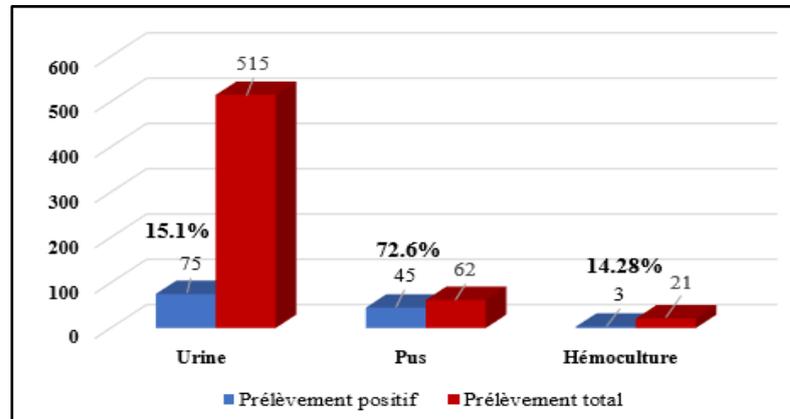
Parmi les 515 échantillons d'urine analysés, 78 cas d'ECBU étaient positifs traduisant une infection urinaire avec un taux de 15.1 %. Alors que 394 ECBU étaient négatifs (76.5%) et 43 ECBU étaient contaminés (8.4%).

- **Pus**

Parmi les 62 prélèvements de pus obtenus, 45 se sont avérées positifs, soit un taux de positivité de 72.6% alors que 17 prélèvements se sont révélés négatifs, soit un pourcentage de 27.4%.

- **Hémoculture**

Parmi les 21 hémocultures réalisées pendant la période de l'étude, 3 se sont avérées positives soit un taux de positivité de 14.28% ; et 18 (85.72%) étaient négatives (Figure1).



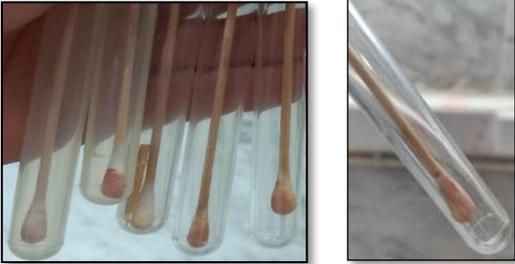
**Figure 12.** Taux de positivité des cultures bactériennes des différents prélèvements

La prévalence des infections urinaires dans notre étude est légèrement plus élevée à celui trouvé par **Silva et al., (2022)** notant un taux de (14,6%). En revanche, nos résultats sont inférieurs à ceux rapportés par des études menées par **Kabugo et al., (2016)**, **Sally et al., (2021)** et **Kiiru et al., (2023)** où les taux de positivité étaient respectivement de (39,1 %), (66,1 %) et (54,1 %). En ce qui concerne les prélèvements de pus, notre étude révèle un taux de prévalence similaire à celui rapporté par **Khan et al., (2018)** avec un taux de (65,2%), mais inférieur à celui rapporté par **Wadekar et al., (2020)** et **Kanakadurgamba et al., (2021)** avec des taux de positivité respectifs de (85.5%) et (92.4%). Cependant, nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par **Swagata et Debadatta., (2017)** et **Khanamet al., (2018)** avec des taux de positivité de (50.73%) et (61.8%) respectivement. En ce qui concerne les prélèvements d'hémoculture, notre étude présente un taux de prévalence comparable à celui rapporté par **Banik et al., (2018)** et **Schönebeck et al., (2021)** avec des taux de prévalence respectifs de (14,24%) et (13.2 %). En revanche, nos résultats sont significativement inférieurs à ceux obtenus par **Golli et al., (2022)** avec un taux de positivité de (46,07%). Ces variations peuvent être attribuées à divers facteurs tels que la taille de la population étudiée, les caractéristiques de l'échantillon, la sélection des participants, ainsi que les contextes géographiques et démographiques des populations étudiées.

### 3. Résultats de l'examen cyto bactériologique des différents prélèvements

### 3.1. Aspect macroscopique

Tous les échantillons ont été examinés visuellement pour leur consistance, leur couleur, leur turbidité et la présence ou l'absence de sang en fonction du type et de l'emplacement de la plaie.

 <p><b>Figure 13.</b> Aspect macroscopique des flacons d'hémocultures ( Photos original)</p>	<p><b>Culture stérile</b> se manifeste par la présence d'un sédiment d'érythrocytes recouvert d'un liquide clair de teinte jaune pâle.</p> <p><b>Une croissance</b> est confirmée par plusieurs signes : la présence d'une hémolyse, une coagulation, un trouble la formation d'une pellicule à la surface, la présence de colonies blanches et la production de gaz carbonique. (Ombelet et al., 2019)</p>
 <p><b>Figure 14.</b> Différents aspects macroscopiques de l'urine (Photo originale).</p>	<p>Tous les échantillons qui ne présentaient pas un aspect jaune plus ou moins foncé et translucide, sans particule, ont été considérés comme anormaux. Nous avons identifié trois caractéristiques macroscopiques : <b>urine claire</b> (urine d'apparence normale et translucide), <b>urine trouble</b> (urine d'apparence anormale, non translucide, contenant des caillots ou des éléments en suspension) et <b>urine hématurique</b> (urine anormale, non translucide et de couleur rouge). (Callens et Bartges, 2015)</p>
 <p><b>Figure 15.</b> Différents aspects macroscopiques de pus (Photos originale).</p>	<p>Les paramètres de l'examen macroscopique du prélèvement de pus sont :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>-<b>L'odeur</b> fétide est souvent associée aux infections anaérobies ou aux infections mixtes aéro-anaérobies</li> <li>- <b>La couleur</b> peut varier du jaune-vert au rouge-brun, la présenter une teinte verdâtre ou bleutée peut indiquer la présence de Pseudomonas.</li> <li>-<b>La consistance</b> peut aller d'un liquide trouble visqueux à une matière très épaisse, un pus crémeux peut orienter à pneumocoque ou staphylocoque.</li> </ul>

### 3.2. Analyse cytologique

- a. Analyse quantitative** : vise à évaluer la densité des éléments figurés par unité de volume. La simple détection des leucocytes et des germes à l'aide d'un microscope ne suffit pas à confirmer la présence d'une infection. Il est primordial que le nombre de ces éléments dépasse un seuil critique défini. Ces données sont présentées de manière détaillée dans le tableau 1 en annexe
- b. Analyse qualitative** : permet de préciser la nature des éléments figurés observés tels que les germes, les cristaux, les hématies, les leucocytes, les cellules épithéliales, etc.

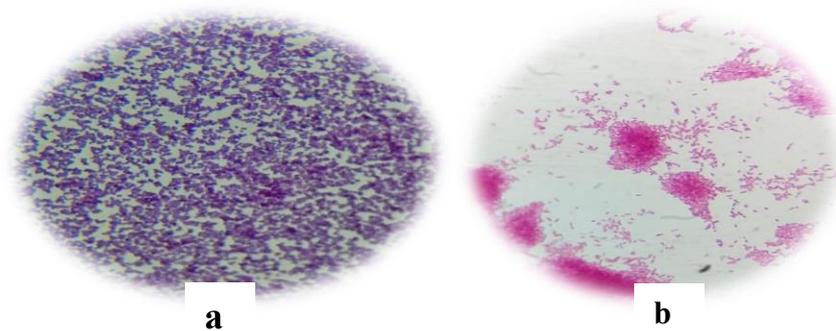
### 3.3. Examen microbiologique

#### 3.3.1. Examen macroscopique de la culture

Après une période d'incubation de 24 heures à une température de 37°C, l'observation de la couleur des colonies ainsi que la détection de diverses activités enzymatiques ont été réalisées (Annexe).

#### 3.3.2 Examen microscopique

L'examen microscopique des souches testées après la coloration de Gram nous a permis d'identifier deux groupes de germes : les bacilles (ou coccobacille) à Gram négatif et les Cocci Gram positif (figure).



**Figure 16.** Observation microscopique de la coloration de Gram de bactéries sous microscope optique

a : Cocci à Gram positif (BGP), b : Bacille à Gram négatif (BGN)

#### 3.3.3. Identification biochimique

##### a. Tests d'orientation

Les résultats des tests supplémentaires d'orientation (test de catalase, oxydase et de coagulase) sont illustrés dans l'annexe.

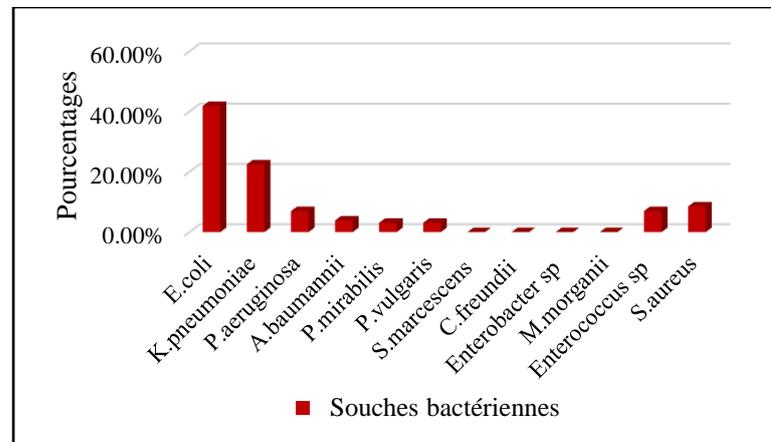
##### b. Galerie Api 20 E

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

## 4. Bactéries identifiées à partir des prélèvements

Dans l'ensemble des cultures positives obtenues lors de notre étude, nous avons isolé 129 souches bactériennes. Nos résultats montrent une prédominance nette des bactéries Gram négatif, représentant 84,49 % des isolats. Parmi celles-ci, *E.coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée, représentant 41,86% (n=54) des cas, suivie de *K.pneumoniae* avec 22,48 % (n=29), *P.aeruginosa* avec 6,98 % (n=9), *A.baumannii* avec 3,87 % (n=5), *Proteus mirabilis* et *Proteus vulgaris* avec 3.10 % (n=4) puis *S.marcescens*, *C.freundii*, *Enterobacter sp* et

*M.morganii*, chacune avec 0,77% (n=1). Les bactéries Gram positive représentent quant à elles 15,50 % des isolats, principalement *S.aureus* avec 8,52 % (n=11) et *Enterococcus sp* avec 6,98 % (n=9).



Figures 17. Répartition des bactéries selon l'espèce identifiée

Ces résultats sont cohérents avec ceux rapportés par **Ibrahim, (2018)**, qui ont observé une prédominance des bactéries à Gram négatif, représentant 81% des isolats, tandis que 15,9% étaient des bactéries à Gram positif. De plus, la composition bactérienne observée dans cette étude est similaire aux résultats de l'étude menée par **Bakhat et al., (2023)**, où une prédominance des bactéries à Gram négatif a été observée. Les principaux pathogènes isolés étaient *E.coli*, représentant 49% des isolats, suivi de *K.pneumoniae* avec 16%. Ils ont également noté une fréquence de 9% pour *P. aeruginosa* et 7% pour *A. baumannii* et 8% pour *Staphylococcus aureus*.

#### 4.1. Répartition des bactéries isolées selon le type de prélèvement

La répartition des souches bactériennes isolées en fonction de type de prélèvement est illustrée dans le tableau I.

Tableau III. Répartition des bactéries isolées selon le type de prélèvement

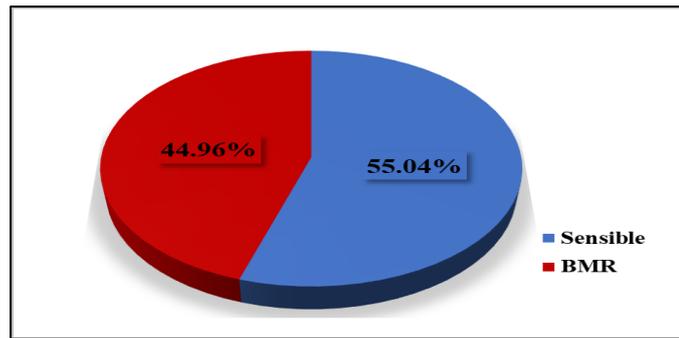
Prélèvement	Famille	Espaces	Nombre
Urines	Enterobacteriaceae	<i>Escherichia coli</i>	47
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	16
		<i>Serratia marcescens</i>	1
		<i>Enterobacter sp</i>	1
		<i>Proteus mirapilis</i>	2
	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2
	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	1

	Enterococcaceae	<i>Enterococcus sp</i>	5
<b>Totale= 75 (58.14%)</b>			
<b>Pus</b>	<i>Enterobacteriaceae</i>	<i>Escherichia coli</i>	7
		<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13
		<i>Citrobacterfreundii</i> ,	1
		<i>Proteus vulgaris</i>	4
		<i>Proteus mirapilis</i>	2
	Morganellaceae	<i>Morganellamorganii</i>	1
	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6
	Moraxellaceae	<i>Acinetobacter baumannii</i>	5
	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	9
Enterococcaceae	<i>Enterococcus sp</i>	4	
<b>Totale= 52 (40.31%)</b>			
<b>Hémoculture</b>	Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1
	Staphylococcaceae	<i>Staphylococcus aureus</i>	1
<b>Totale= 02 (1.55%)</b>			

Les bactéries dominantes variaient en fonction du type d'échantillon. Dans l'ensemble, les résultats indiquent que *E. coli* et *K. pneumoniae* étaient les principaux pathogènes isolés dans les échantillons d'urine, ce qui concorde avec les observations de **Fahim et al., (2021)**. Pour ce qui est des échantillons de pus, les pathogènes prédominants comprenaient *K. pneumoniae*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, ainsi qu'un nombre significativement élevé d'isolats de *S. aureus* provenant de plaies. Il est bien connu que *S. aureus* est l'une des causes les plus courantes d'infections de la peau et des tissus mous (**Bakhat et al., 2023**). Ces conclusions sont en accord avec les études de **Fahim et al., (2021)** et **Aouf et al., (2022)**

#### 4.2. Prévalence des bactéries multi-résistantes dans les prélèvements

Au cours de notre étude, nous avons isolé 129 souches sur l'ensemble de 126 prélèvements positifs. D'où nous avons identifié 58 souches multirésistantes (BMR) avec un taux de 44,96% de l'ensemble des souches isolées, tandis que 55,04 % restent sensibles.

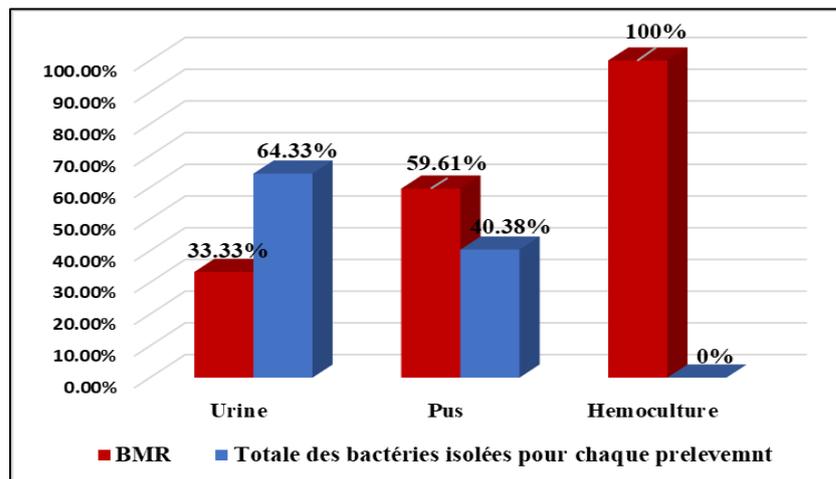


**Figure 18.** La prévalence des BMR dans l'ensemble des prélèvements effectués

Nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **Wang et al., (2019)** avec une fréquence de 42,5% des BMR. L'émergence des BMR pose un problème inquiétant qui expose les patients à des échecs à des échecs de traitement par manque d'antibiotiques efficaces avec mise en jeu du pronostic vital. L'émergence et la propagation de la multirésistante sont favorisées par deux éléments : la pression de sélection exercée par les antibiotiques et une fois la résistance acquise, la dissémination de ces bactéries résistantes par transmission croisée (**Basseray et al., 2000**).

#### 4.2.1. Répartition des BMR isolées selon le type de prélèvement

Les BMR ont été fréquemment isolées à partir d'hémoculture suivies de pus et d'urine, avec des taux respectifs de : 100%, 59.61% et 33.33%.

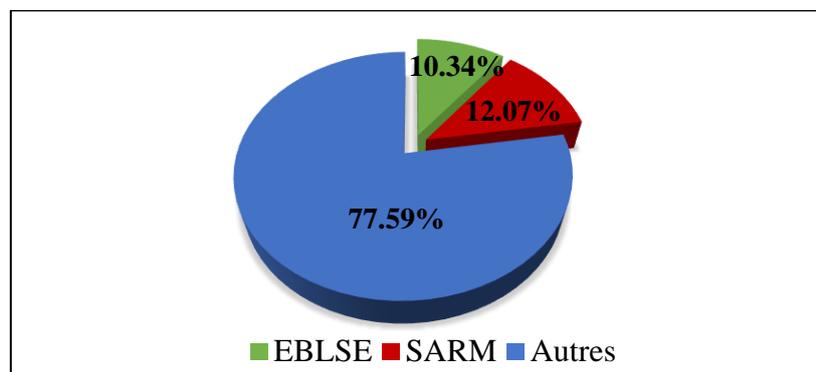


**Figure 19.** Répartition des BMR selon le type du prélèvement

Nos résultats révèlent une prévalence élevée de souches BMR dans les échantillons de pus, avec un taux de 59,61%. Ces données sont en accord avec l'étude menée par **Aouf et al., (2022)** dans la région de Constantine, où ils ont constaté que parmi les isolats provenant de prélèvements de pus, 58,03% présentaient une multirésistance.

### 4.2.2. Répartition des BMR isolées selon leur type

La répartition intégrale des bactéries multirésistantes (BMR) isolées selon leur type est représentée dans la figure (10). Parmi les 58 souches de BMR isolées, nous avons identifié 6 souches de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), représentant ainsi un taux de 10,34% (3 souches d'*E.coli* et 3 souches de *K.pneumoniae*). Par ailleurs, nous avons constaté la présence de 7 souches de *S.aureus* résistantes à la méthicilline (SARM), correspondant à 12,07% des cas. Les 77,59% restants comprennent principalement des souches d'*A.baumannii* multirésistantes (ABM), de *P.aeruginosa* multirésistantes (PAM), ainsi que des entérobactéries multirésistantes, à l'exception des souches BLSE.

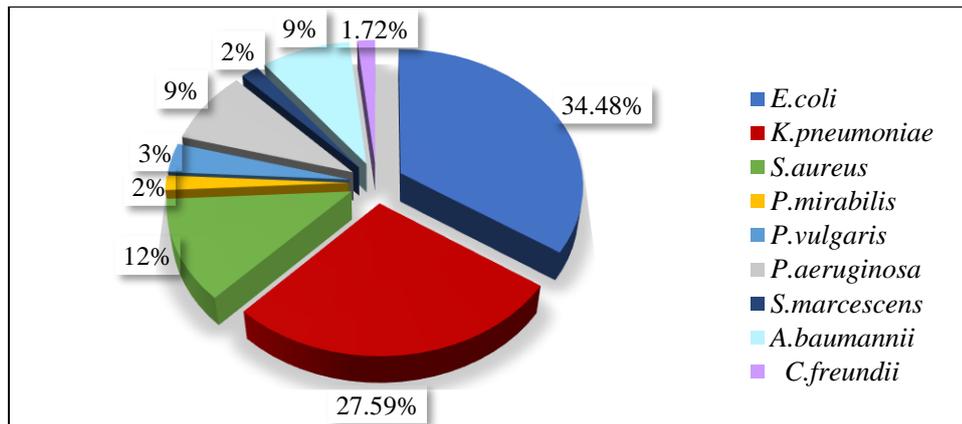


**Figure 20.** Répartition des BMR selon le type de résistance

Nos résultats sont généralement concordants avec ceux rapportés par **Fahim et al., (2021)**, où parmi les souches multirésistantes étudiées, ils ont identifié que 15,42% étaient des EBLSE, tandis que 6,66% étaient des SARM. Les 77,9% restants comprenaient principalement des souches d'ABM, de PAM, ainsi que des entérobactéries multirésistantes, à l'exception des souches BLSE et d'autres bactéries gram positives multirésistantes. De plus, il a également été rapporté que les EBLSE était prédominante chez les mêmes bactéries (*E. coli* et *K. pneumoniae*) par **Jara et al., (2021)**.

### 4.2.3. Répartition des BMR isolées selon la nature des espèces bactériennes

Les résultats de la répartition des BMR isolées par espèce sont résumés dans la figure



**Figure 21.** Répartition des bactéries multirésistantes selon l'espèce

Selon nos résultats, nous avons observé que parmi les souches de bactéries multirésistantes (BMR) isolées, *E. coli* et *K. pneumoniae* sont les plus prépondérantes suivi par *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Šámal et al., (2022) et Jara et al., (2021). En revanche, nos résultats diffèrent de ceux trouvés par Hailemariam et al., (2021), qui ont identifié *S. aureus* suivies de *K. pneumoniae* comme les bactéries les plus dominantes parmi les souches de BMR isolées.

Cette variation nette dans la répartition des bactéries multirésistantes entre les différentes études peut être attribuée à des différences dans la conception de l'étude utilisée par les groupes de recherche, aux pratiques préventives appliquées dans les hôpitaux, aux variations des politiques de contrôle des infections et aux différences dans les agents pathogènes nosocomiaux courants (Kim et al., 2021).

#### 4.2.4. Répartition des BMR selon le service

Les différents prélèvements reçus au niveau du laboratoire de microbiologie, provenaient des différents services de l'EPH de Faubourg, ainsi que d'autres provenant de patients non hospitalisés. La fréquence la plus élevée des BMR a été enregistrée pour les patients consultés à titre externe avec un taux de 48.3% (28/58), suivi par le service de médecine interne avec un pourcentage de 46.5% (27/58). Les 5.3 % restant se répartissent sur les services de pédiatrie et de pneumologie.

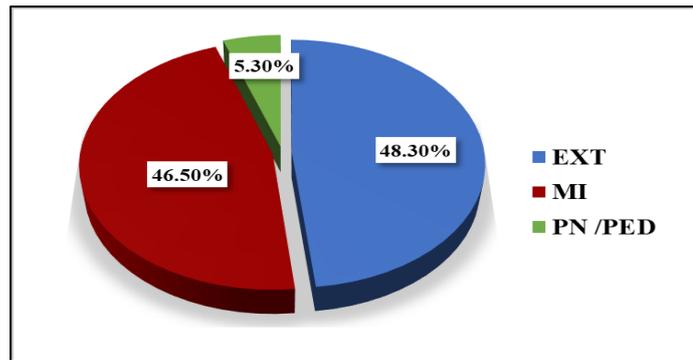


Figure 22. Répartition des BMR isolées par service

Ces résultats diffèrent de ceux obtenus par **Agyepong et al. (2018)**, où ils ont observé une proportion plus élevée d'isolats récupérés chez les patients hospitalisés (80,5 %) par rapport aux patients externes (19,5 %). Ils ont également constaté que l'unité de médecine interne présentait le pourcentage le plus élevé (39,0 %), suivi de la pédiatrie avec 19,5 %. La majorité des patients du service de médecine interne sont des diabétiques présentant des infections des plaies au niveau des pieds qui sont traitées par une antibiothérapie pendant leur séjour à l'hôpital, et associée par plusieurs facteurs de risque notamment l'émergence de mécanismes de résistance aux antibiotiques (**Shi et al., 2023**).

#### 4.2.5. Répartition des BMR selon le sexe

Les infections bactériennes à BMR identifiées au cours de notre étude sont principalement observées chez la population féminine, représentant un taux de 55,2 %.

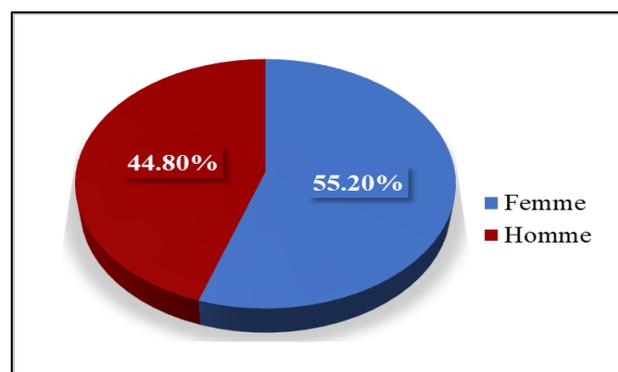


Figure 23. Répartition des BMR isolées selon le sexe

Les résultats obtenus sont comparables à ceux de l'étude menée par **Zahid et al., (2014)** avec une fréquence plus élevée des isolats de BMR, observée chez les femmes, atteignant 53%. En revanche, **Wang et al., (2019)** ont constaté une prévalence plus élevée d'infections

multirésistantes chez les hommes, atteignant 64,4%. Ces différences pourraient s'expliquer par la taille de l'échantillon de la population étudiée (Benmoumou et al., 2023).

### 4.2.6. Répartition des BMR selon l'âge

L'analyse de la répartition des BMR selon l'âge révèle une fréquence plus élevée d'isolement de ces germes chez les adultes (98,2%) par rapport aux enfants 1,8% ce qui est cohérent avec les résultats obtenus par Moussa et al. (2021). Il est crucial de souligner l'importance de prendre en compte le facteur d'âge avancé au sein des populations, car il représente un risque majeur en ce qui concerne l'infection par des bactéries multirésistantes. Ce groupe spécifique présente un risque accru d'infections en raison de l'affaiblissement de leur fonction immunitaire (Neut., 2021)

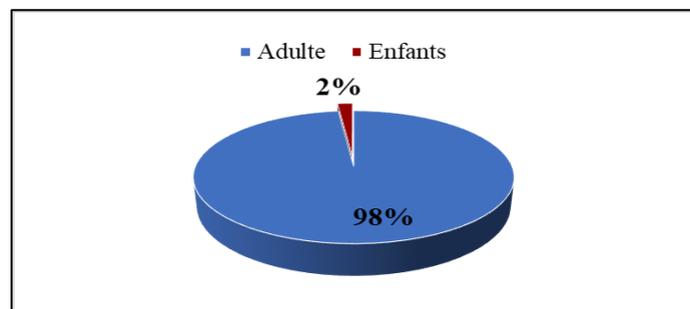


Figure 24. Répartition des BMR isolées selon l'âge

## 4.3. Résultats de l'antibio-résistance des BMR isolées

### 4.3.1. Profil d'antibiorésistance des souches d'*Escherichia coli*

Pour les 20 souches d'*E. coli* isolées, dont 3 souches sont des BLSE positifs, l'antibiogramme a montré une résistance élevée à l'Amoxicilline avec un taux de 95% suivie de la Céfazoline avec un taux de 90%. De même, une résistance de 85% a été observée pour l'association Amoxicilline + Acide clavulanique, la Céfotaxime et la Ciprofloxacine. Environ 80% des souches isolées ont présenté une résistance au Triméthoprime + sulfaméthoxazole, à la Fosfomycine et à la Nitrofurantoïne.

Pour les trois souches de *E. coli* BLSE positifs, l'antibiogramme a montré une résistance totale à l'Amoxicilline, Fosfomycine, Céfotaxime, Triméthoprime-Sulfaméthoxazole, Céfazoline et Nitrofurantoïne. Par contre, ces souches sont totalement sensibles à Imipénem.

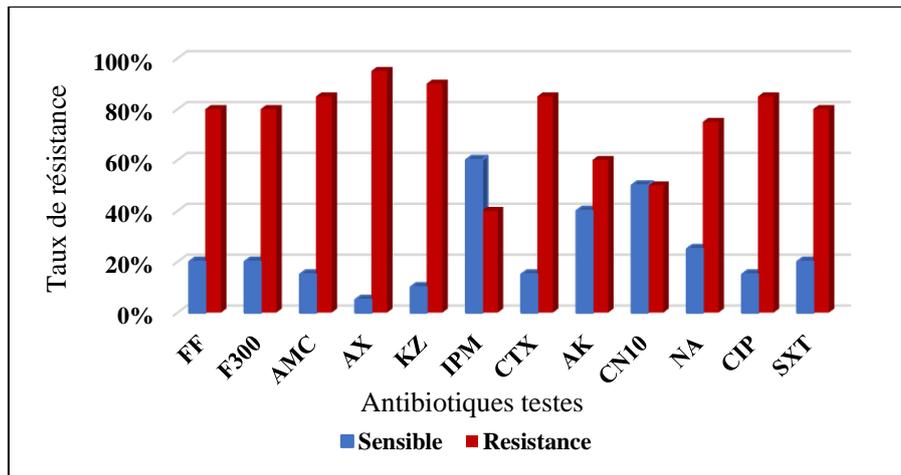


Figure 25. Profil d'antibiorésistance d'*Escherichia coli*

#### 4.3.2. Profil d'antibiorésistance des souches de *Klebsiella pneumoniae*

L'évaluation de l'antibiogramme des 16 souches de *Klebsiella pneumoniae*, dont 3 présentent de BLSE positive, a mis en évidence des résultats significatifs quant à leur profil de résistance. Les quinolones ont montré une résistance le plus élevée, avec des taux de 93,75% pour la ciprofloxacine (CIP) et l'acide nalidixique, suivis de près par la céfazoline avec un taux de résistance de 93 %. L'amoxicilline a également révélé un taux de résistance élevé de 87,50%, et environ 80% des souches isolées ont présenté une résistance à la fosfomycine et à l'amoxicilline et à l'acide clavulanique. Cependant, une sensibilité significative a été observée vis-à-vis de la nitrofurantoïne, de la gentamicine et du triméthoprime-sulfaméthoxazole, avec des taux de résistance similaires de 68,75%.

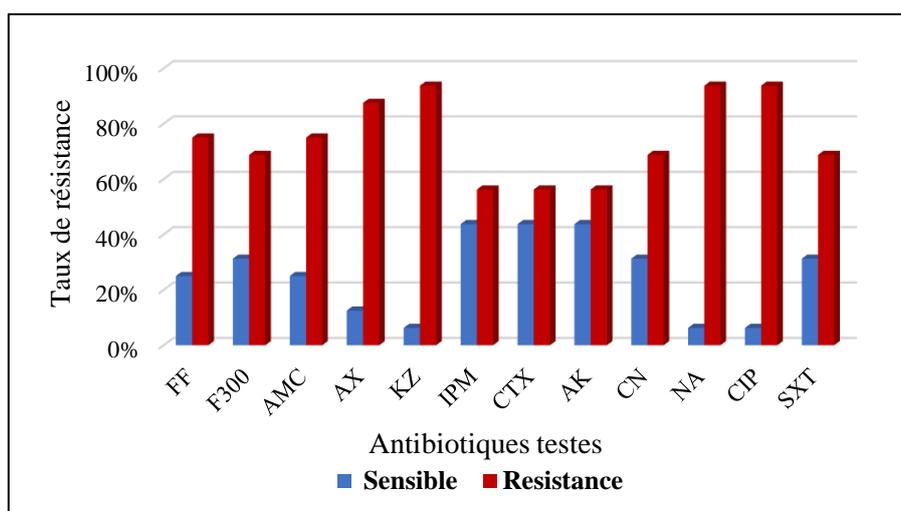


Figure 26. Profil d'antibiorésistance de *Klebsiella pneumoniae*

#### 4.3.3. Profil d'antibiorésistance de *Proteus mirabilis*

La seule souche BMR de *Proteus mirabilis* isolée montre une résistance étendue à de nombreuses familles d'antibiotiques. Elle présente une résistance totale vis-à-vis Fosfomycine, Nitrofurantoïne, Triméthoprim-sulfaméthoxazole, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Amoxicilline, Céfazoline, Imipénème, Colistine et Gentamicine. En revanche, elle est sensible à l'amoxicilline + l'acide clavulanique, à la Céfotaxime et à l'Amikacine.

#### 4.3.4. Profil d'antibiorésistance des souches de *Proteus vulgaris*

Pour les deux souches de *Proteus vulgaris*, l'antibiogramme a montré une résistance totale vis-à-vis Fosfomycine, Nitrofurantoïne, Triméthoprim-sulfaméthoxazole, Acide nalidixique, Ciprofloxacine, Amoxicilline, Céfazoline, Imipénème et Colistine. En revanche, elle est sensible à l'amoxicilline + l'acide clavulanique, Gentamicine, Céfotaxime et à l'Amikacine.

#### 4.3.5. Profil d'antibiorésistance de *Serratia marcescens*

La souche unique BMR de *Serratia marcescens* présente une résistance à plusieurs antibiotiques, notamment la cefoxitine, l'amoxicilline, l'acide fusidique, l'imipénème et l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique. En revanche, elle se révèle sensible à la céfotaxime, à l'amikacine, à la ceftriaxone et au ciprofloxacine.

#### 4.3.6. Profil d'antibiorésistance de *Citrobacter freundii*

La seule souche BMR de *Citrobacter freundii* montre une résistance vis-à-vis Fosfomycine, Nitrofurantoïne, Acide nalidixique, Céfazoline, Amoxicilline + l'acide clavulanique et Céfotaxime. En revanche, elle est sensible à Triméthoprim-sulfaméthoxazole, Ciprofloxacine, Amikacine et Gentamicine.

De manière générale, les entérobactéries étudiées présentent une résistance à l'ensemble des antibiotiques testés, provenant de différentes familles. La résistance la plus élevée est observée pour les bêta-lactamines. Plus précisément, on constate une résistance à l'amoxicilline, à l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique et à la céfotaxime chez respectivement 92,5 %, 75 % et 65,85 % des souches étudiées. Ces résultats concordent avec ceux rapportés par **Debabza., (2015)** à Annaba pour l'amoxicilline (99 %) et l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique (81,91 %). En revanche, **Bouras., (2019)** des taux de résistance totale plus élevés ont été observés pour l'amoxicilline et l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique, ainsi qu'un taux de résistance de 38 % pour la céfotaxime.

En ce qui concerne les carbapénèmes (l'imipénème), on observe une augmentation notable du taux de résistance, atteignant 52,5 %, par rapport à d'autres études menées en Algérie par **Benmoumou et al., (2023)**, qui ont constaté que l'imipénème était efficace contre toutes les souches testées. Une autre étude réalisée dans la région d'Annaba par **Bouras., (2019)** a révélé des taux de résistance à l'imipénème inférieurs à nos résultats, avec 38 %. L'absence de résistance à cet antibiotique a également été signalée précédemment par **Yandai et al., (2019)** et **Kotb et al., (2019)**. Selon **Uz et al., (2014)**, les mécanismes de résistance des entérobactéries vis-à-vis des carbapénèmes ne se limitent pas à la seule production de carbapénémases, mais peuvent également impliquer d'autres mécanismes, tels que des altérations structurales de la membrane externe et/ou une hyperproduction d'AmpC en plus des bêta-lactamases à spectre élargi.

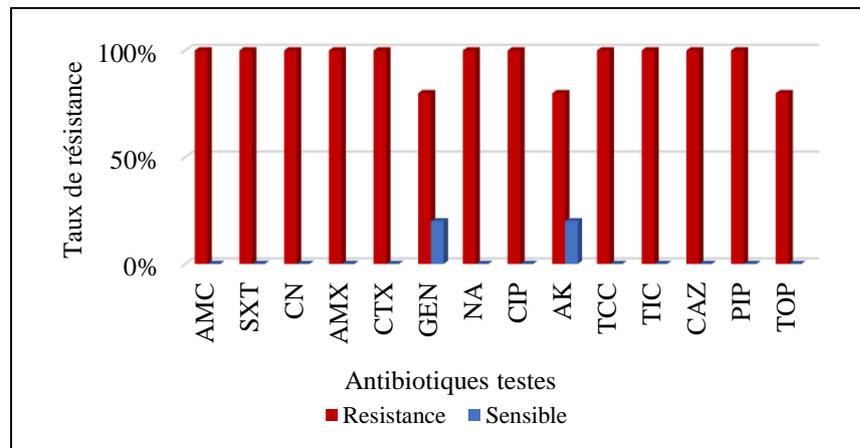
La plupart des isolats d'Enterobacteriaceae présentent une résistance aux quinolones, avec un taux de résistance de 85 % pour l'acide nalidixique et la ciprofloxacine. Ce taux de résistance reste très significatif par rapport aux taux observés en Algérie par **Bouras., (2019)** et **Benmoumou et al., (2023)**. En ce qui concerne le triméthoprim/sulfaméthoxazole, le taux de résistance est de 75 %. Ces résultats diffèrent également de ceux trouvés par **Benmoumou et al. (2023)**, qui ont rapporté un taux de souches résistantes de 33,62 %. Cette fréquence de résistance pourrait être expliquée par un recours excessif à cet antibiotique dans le traitement des infections digestives et respiratoires (**Bentrouki et al., 2012**). En ce qui concerne la fosfomycine, 80 % des souches sont résistantes à cet antibiotique. **Bouras., (2019)** ont également signalé une résistance totale à la fosfomycine pour cette molécule.

Dans notre étude, nous avons également constaté que les aminosides (gentamicine et amikacine) sont considérés comme des traitements très efficaces contre les Enterobacteriaceae. Cela peut s'expliquer par une utilisation moins fréquente des aminosides par rapport aux céphalosporines à large spectre ou aux fluoroquinolones, comme l'ont rapporté **Benmoumou et al., (2023)**.

#### 4.3.7. Profil d'antibiorésistance d'*Acinetobacter baumannii*

Le profil de sensibilité des cinq souches BMR d'*Acinetobacter baumannii* présentent une résistance étendue à plusieurs familles d'antibiotiques. Une résistance totale à 100% est observée pour les antibiotiques suivants : Amoxicilline + acide clavulanique, Triméthoprim/sulfaméthoxazole, Amoxicilline, Céfotaxime, Céfalexine, acide nalidixique,

ciprofloxacine, Ticarcilline + acide clavulanique, Ticarcilline, Ceftazidime et Pipéracilline. De plus, un taux de résistance élevé de 80% est observé pour les aminoglycosides la tobramycine.



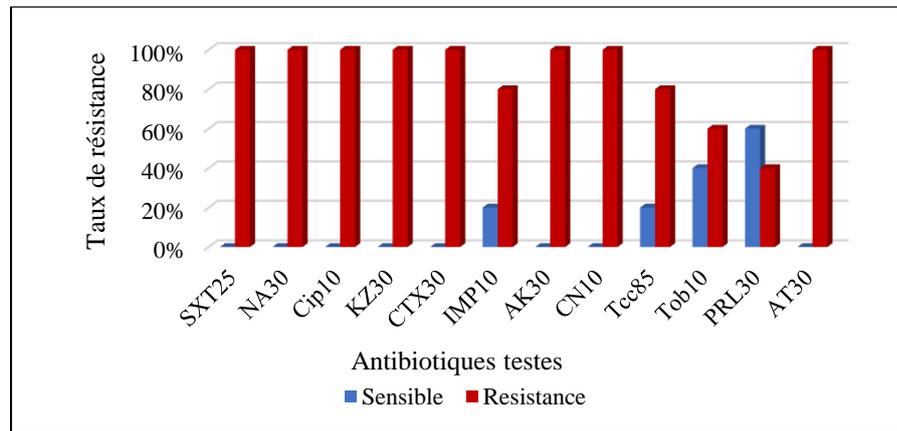
**Figure 27.** Profil d'antibiorésistance de *Acinetobacter baumannii*

Nos résultats de profil d'antibiorésistance d'*Acinetobacter baumannii* sont cohérents avec ceux trouvés par **Ibrahim., (2018)** qui est également observé des taux de résistance élevés allant de 93,4 % à 97,5 % pour tous les agents antimicrobiens testés, de plus une étude réalisée dans plusieurs hôpitaux d'Algérie ont été observés des taux élevés de résistance pour presque tous les antibiotiques testés (>70%) par **Benamrouche et al., (2020)**.

La résistance élevée observée chez cette souche découle de sa capacité intrinsèque à acquérir aisément une résistance à divers groupes d'agents antimicrobiens, ce qui lui permet de survivre dans l'environnement hospitalier. Cette aptitude favorise sa persistance et sa propagation au sein des établissements de santé **Peleget al., (2008) ; Benamrouche et al., (2020)**.

#### 4.3.8. Profil d'antibiorésistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa*

L'étude du profil d'antibiorésistance de cinq souches BMR de *Pseudomonas aeruginosa* révèle un taux de résistance de 100% envers plusieurs familles d'antibiotiques, notamment les sulfamides (Triméthoprime/sulfaméthoxazole), les quinolones (l'Acide nalidixique et la Ciprofloxacine), les céphalosporines (Céfazoline et Céfotaxime) et les monobactames (Aztréonam). Cependant, des variations de résistance ont été observées pour d'autres classes d'antibiotiques. Les carboxypénicillines (Ticarcilline + acide clavulanique) et les carbapénèmes (Imipénème) ont présenté un taux de résistance de 80% ainsi qu'un taux de résistance de 60% pour les aminosides (Tobramycine). Par ailleurs, il est remarqué que ces souches deviennent plus sensibles aux pénicillines (Pipéracilline) avec un taux de résistance de 40 %



**Figure 28.** Profil d’antibiorésistance de *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa*, une bactérie pathogène opportuniste, exhibe une remarquable capacité à développer une résistance par le biais de mécanismes divers, souvent simultanément, ce qui engendre une résistance contre pratiquement la totalité des antibiotiques disponibles (Kunz et al., 2022). Les recherches menées par Kim et al., (2021) ont également abouti à des résultats similaires aux nôtres, où les souches bactériennes de *P. aeruginosa* isolées ont manifesté une résistance envers divers antibiotiques tels que les monobactames, les quinolones et les céphalosporines.

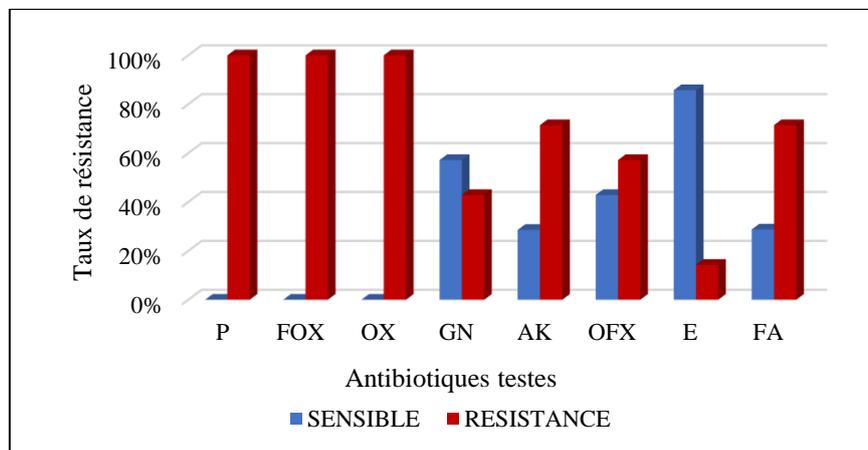
Dans le cadre de la recherche en Algérie, des taux de résistance considérablement plus faibles ont été observés dans la région de Batna pour certains antibiotiques, la ciprofloxacine (0,44%), la ticarcilline + l'acide clavulanique (37,45), pipéracilline (29,96%), l'aztréoname et la ciprofloxacine (0,44%) (Merradi, 2022). Une autre étude réalisée dans les régions d'Oran a également révélé des taux de résistance inférieurs aux nôtres pour l'imipénème (32,9%), la ticarcilline + l'acide clavulanique (60,8%), l'aztréonam (17,7%), la tobramycine (30,4%) et la ciprofloxacine (41,8%) (Sefraoui, 2015).

#### 4.3.9. Profil d’antibiorésistance des SARM

L'étude du profil d'antibiogramme de 7 souches de SARM a révélé des résultats significatifs quant à leur résistance à plusieurs familles d'antibiotiques. Les bêta-lactamines ont montré un taux de résistance de 100%, en particulier à la pénicilline, à la céfoxitine et à l'oxacilline, ces résultats étant similaires à ceux obtenus par Touaitia., (2016) ; Adoui., (2019). Le mécanisme de résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les *S. aureus* repose sur deux types principaux de mécanismes : un mécanisme de résistance extrinsèque par production d'enzymes inactivant l'antibiotique, et un mécanisme de résistance intrinsèque par modification des

protéines de liaison à la pénicilline (PLP) ou par acquisition de nouvelles PLP2 dont l'affinité pour les bêta-lactamines est très faible, entraînant une résistance croisée à toutes les molécules de cette famille (**Quincampoix et Mainardi., 2001**).

En ce qui concerne d'autres antibiotiques testés, le taux de résistance à l'acide fusidique a été évalué à 71,43%, tandis que le taux de résistance à l'ofloxacine était de 57,14%. Ces résultats sont également similaires à ceux de **Touaitia., (2016)**, qui a détecté un taux de résistance de 68,6% pour l'ofloxacine et de 65,6% pour l'acide fusidique parmi les souches SARM isolées. En revanche, les souches ont montré une sensibilité accrue aux érythromycines, avec un taux de résistance de seulement 14,29%, ce taux est inférieur à celui trouvé par **Adoui., (2019)** à Constantine avec 47,05% et **Touaitia., (2016)** à Annaba avec 52,2% et par **Rebiahi., (2012)** dans la région de Tlemcen avec un taux de 55,75%



**Figure 29.** Profil d'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*

## 5. Résultats de l'extraction de l'huile essentielle de romarin

### 5.1. Rendement en huile essentielle

Le rendement en huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* obtenu par distillation à la vapeur dans notre étude est de 0,5 %. Cette valeur est inférieure à celle rapportée par **Hezil et al., (2022)**, qui ont constaté un rendement de 1,6 % pour l'huile essentielle des parties aériennes du romarin dans la région de Blida. Une autre étude menée par **Mehalaine et al., (2017)** dans les régions d'Algérie a trouvé un rendement de 0,88 %. Cette différence peut être attribuée à divers facteurs environnementaux tels que le climat, l'altitude, la température, la texture et le type de sol, ainsi que la teneur en matière organique du sol. De plus, les conditions

d'échantillonnage et le moment de la récolte peuvent également influencer les résultats (Pirbalouti et *al.*, 2013).

### 5.2. Propriétés organoleptiques de l'huile essentielle de romarin

L'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* est extraite par la technique entrainement à la vapeur d'eau direct, elle est incolore à jaune pâle, moyennement à fortement intense, avec une texture légère et fluide et non visqueuse et une odeur camphrée puissante et fraîche.

### 5.3.Composition chimique de l'huile essentielle de romarin

L'analyse de HE par CG/SM nous a permis d'identifier 12 composés volatiles qui représentent environ 91.45% de la composition chimique totale ; dont les principales composées majoritaires comprennent : 1,8-Cineole (39.972%), Camphor (12.831%), l'alpha-pinène (11.032%), Beta-Caryophyllene (6.152%), Bornéol (4.848%), Alpha-Terpinene (4.415%), le camphène (4.302%), Beta-pinène (2.630%), respectivement (tableau I).

**Tableau IV.** Composition chimique de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*

N° du composant	Temp de rétention (min)	Nom de composant	Area %
1	5.005	Alpha-Pinene	11.032%
2	5.411	Camphene	4.302%
3	6.411	Beta-Pinene	2.630%
4	9.886	1,8-Cineole	39.972%
5	16.762	Camphor	12.831%
6	18.842	Borneol	4.848%
7	20.471	Alpha-Terpinene	4.415%
8	34.262	Beta-Caryophyllene	6.152%

Nos résultats de l'analyse CG/SM sont proches de ceux rapportés par SELMI et *al.*, (2020) , dont les principaux constituants de l'huile étaient 1,8 cineol (39.97%) l'Alpha-pinène (10.01%), Beta-pinène (4.53%) et le camphène (3.21%). Dans une étude menée par Hendel et *al.*, (2019) sur les huiles essentielles de 15 échantillons différents de *R. officinalis L.* collectés dans plusieurs régions d'Algérie appartenant à différentes zones bioclimatiques, il a été constaté que toutes les huiles se caractérisent par la prédominance de certains composants, notamment l' $\alpha$ -pinène, le camphène et le limonène, ainsi que le camphre, le 1,8-cinéole, le caryophyllène et le bornéol, ce qui est en accord avec nos propres résultats. D'autre études confirment nos résultats et rapportent que le 1,8-cinéole, le camphre et l' $\alpha$ -pinène étaient les composants les plus abondants HE de romarin (Al-Maharik et *al.*, 2022 ; Cutillas et *al.*, 2018 ; Jardak et *al.*, 2017)

Selon **Rathore et al., (2022)**, la teneur en huile essentielle de romarin peut varier en fonction de la saison, avec une concentration maximale observée pendant la saison automnale. De plus, des concentrations significativement plus élevées de 1,8-cinéole,  $\beta$ -pinène,  $\beta$ -caryophyllène et terpinène-4-ol ont été observées pendant la saison des pluies, tandis que le camphre présentait une concentration plus élevée en automne par rapport à l'été et à la saison des pluies. Ces variations dans le profil chimique au sein de la même espèce sont associées à de nombreux facteurs tels que des facteurs abiotiques et biotiques, le traitement post-récolte, les méthodes d'extraction et les conditions de conservation (**Baptiste et al.,2020**)

### 6. Résultats de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* sur les BMR isolées

#### 6.1. Résultats de la méthode de diffusion du disque (aromatogramme)

L'activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* a été évaluée par la méthode de l'aromatogramme sur un total de 42 souches BMR. Les résultats obtenus sont regroupés dans le Tableau II ( annexe) .

Les résultats de l'effet antibactérien de l'HE essentielle de *R. officinalis* révèle son activité contre la majorité des souches BMR testées, avec des diamètres de zone d'inhibition (DZI) variant entre 12 et 32 mm.

D'après les résultats obtenus, nous avons observé que les DZI les plus élevés ont été enregistrés pour les souches de *S.aureus*, avec des DZI compris entre 16,33 et 32,33 mm, ainsi que pour *A.baumannii*, avec des DZI allant de 20,33 à 26 mm. Ces résultats sont en accord avec ceux trouvés par **Ounaissia et al., 2022**, où ils montrent que *S.aureus* était l'espèce la plus sensible, suivie d'*Acinetobacter*. De plus, les isolats de *Staphylococcus aureus* enregistrés dans notre étude présentent des similitudes avec ceux identifiés par **Mourabit et al., (2020)** dans leurs travaux, où ils ont relevé des DZI compris entre 25 et 30 mm. Cette constatation a été confirmée par des études antérieures ayant démontré que l'HE de *R. officinalis*, avec une forte teneur en 1,8-cinéole, exerce un effet bactériostatique contre les souches de *S. aureus* (**Ait-Ouazzou et al., 2011 ; Bowbe et al., 2023**).

L'HE de *R.officinalis* est également montre une activité inhibitrice importante sur les souches d'*E.coli*, *K.pneumoniae* et *P. vulgaris* avec des DZI variant entre 17 et 23 mm. De manière similaire, une activité inhibitrice significative a été démontrée sur les souches de

*S.marcescens* et de *P.mirabilis*, avec des DZI de 17 mm. En revanche, pour *C. freundii*, une action inhibitrice intermédiaire a été observée avec un DZI de 14 mm.

Il convient toutefois de noter la présence d'une variation des diamètres de zone d'inhibition (DZI) pour certaines souches de la même espèce, suggérant ainsi une possible résistance partielle à l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*. Cette observation a été faite, par exemple, pour les cinq souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées, parmi lesquelles deux souches ont manifesté une résistance à l'huile essentielle, tandis que les autres ont montré une action inhibitrice intermédiaire, avec des DZI variant entre 12 et 17 mm.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **DikenGür et al., 2017**, où il a été constaté que l'huile essentielle de romarin était efficace contre seulement 2 souches de *P. aeruginosa*, avec des DZI comprises entre 11 et 13 mm. Des travaux similaires sur les BMR ont également prouvé que les bactéries *P. aeruginosa* étaient les plus résistantes à l'HE de *R. officinalis* par rapport aux autres souches (**Aouf et al., 2022 ; Ez-Zriouli et al., 2022**).

Selon **Jordán et al., (2013)** l'activité antibactérienne d'une huile peut être liée à la configuration chimique de ses composants, aux proportions dans lesquelles ils sont présents et aux interactions entre eux. D'autre part, **Saviuc et al. (2016)** ont démontré, dans une étude, que l'huile essentielle de romarin ainsi que son principal composant, le 1,8-cinéole, présentent une activité antimicrobienne très efficace contre des souches multirésistantes d'*A.baumannii* et de *P.aeruginosa*. Et certains autres composés majeurs identifiés ont déjà été signalés comme ayant une activité antimicrobienne, notamment le 1,8-cinéole,  $\alpha$ -pinène, le camphre, le myrcène et le  $\beta$ -caryophyllène (**Santoyo et al., 2005 ; Ounaissia et al.,2022**), d'autres chercheurs ont également signalé les fortes activités antimicrobiennes du bornéol et du camphre (**Chen et al., 2013**). De plus, des effets synergiques et antagonistes peuvent se produire entre les composants des huiles en fonction des microorganismes testés (**Ez-Zriouli et al., 2022**).

Les résultats obtenus ont montré que l'HE *R. officinalis* présente une activité antibactérienne plus importante vis à vis les bactéries Gram positive par rapport les bactéries Gram négative. Selon **Ouibrahim et al., (2013)** et **Stojiljkovic et al., (2018)** ceci pourra être expliqué par le fait que la paroi cellulaire des bactéries Gram-négatives est plus résistante à l'activité des HE et de leurs composants. En effet, il semble que la membrane externe des bactéries Gram-négatives, riche en lipopolysaccharides, soit plus complexe et représente un obstacle pour les molécules aromatiques afin d'atteindre le cytoplasme de cette bactérie. Cependant, ces composés actifs peuvent plus facilement s'intégrer dans le cytoplasme des

bactéries Gram-positives étant donné l'absence de système extra membranaire complexe, ce qui entraîne une activité antibactérienne plus élevée (Fadel et al.,2021).

### 6.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

#### ➤ Détermination de la CMI par dilution en milieu solide

La CMI a été déterminée lors de cette étude en évaluant l'activité inhibitrice des HE contre quelques souches bactériennes sélectionnées.

**Tableau VI.** Résultats de la concentration minimale inhibitrice

Les souches teste	CMI %
<i>Escherichia coli</i> S10	0.25
<i>Escherichia coli</i> 3159	0.125
<i>Escherichia coli</i> S3	0.125
<i>Escherichia coli</i> S2	0.125
<i>Escherichia coli</i> S5	0.125
<i>Escherichia coli</i> S6	0.25
<i>Escherichia coli</i> S1	0.125
<i>Escherichia coli</i> S13	0.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S2	0.25
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S8	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S5	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S6	0.125
<i>Klebsiella pneumoniae</i> S1	0.25
<i>Acinetobacter baumannii</i> S1	0.25
<i>Acinetobacter baumannii</i> S2	0.25
<i>Acinetobacter baumannii</i> S3	0.06
<i>Acinetobacter baumannii</i> S4	0.06
<i>Acinetobacter baumannii</i> S5	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> p12	0.06
<i>Staphylococcus aureus</i> p01	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> p4	0.25
<i>Staphylococcus aureus</i> p37	0.06
<i>Staphylococcus aureus</i> p03	0.06
<i>Staphylococcus aureus</i> p137	0.06
<i>Proteus mirabilis</i>	0.125
<i>Proteus vulgaris</i>	0.125
<i>Serratia marcescens</i>	0.06
<i>Citrobacter freundii</i>	0.06

Les résultats de CMI présentés dans le tableau ci-dessus mettent en évidence l'effet bactérien de l'huile essentielle de romarin à la fois sur les bactéries gram-positives et gram-négatives. On observe des valeurs de CMI variant entre 0.125 et 0.5 ( $\mu\text{l} / \text{ml}$ ) pour les souches

d'*E.coli* et de *K.pneumoniae*. En revanche, pour *S.aureus* et *A.baumannii*, on constate une variation de la valeur de la CMI allant de 0.25 à 0.06 ( $\mu\text{l} / \text{ml}$ ) Pour les souches de *P.vulgaris* et *P.mirabilis* la CMI est établie à 0.125  $\mu\text{l} / \text{ml}$  et pour *S.marcescens* et *C.freundii*, la CMI égale à 0.06  $\mu\text{l} / \text{ml}$ , tandis que pour *P.aeruginosa* la CMI est supérieur 1  $\mu\text{l} / \text{ml}$ .

Effectivement, il est difficile d'établir des comparaisons entre les valeurs de Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) provenant de différentes publications. La plupart des études se sont concentrées sur l'effet des huiles sur des souches de référence ATCC, ce qui limite leur applicabilité aux bactéries multirésistantes. De plus les auteurs utilisent souvent différentes unités pour présenter les résultats de leurs études, ce qui complique la comparaison des données. Les concentrations peuvent être exprimées en mg/ml, en  $\mu\text{l} / \text{ml}$  ou en pourcentage (V/V). Cette diversité d'unités rend difficile la mise en relation des résultats et peut entraîner des confusions lors de l'interprétation des données.

# Conclusion

### Conclusion

L'élaboration de nouveaux agents antibactériens représente l'une des stratégies préconisées afin de contrer la problématique croissante de la résistance aux médicaments. Les huiles essentielles se profilent comme des alternatives prometteuses dans la lutte contre les pathogènes bactériens multirésistants (BMR).

Cette étude visait, d'une part, à déterminer le profil d'antibiorésistance des bactéries multirésistances (BMR) isolées au sein de l'Établissement Public Hospitalier de Blida, Brahim Abdellah Tirichine, et d'autre part, à évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles extraites de la plante médicinale *Rosmarinus officinalis* sur ces souches.

Les résultats de cette étude ont démontré l'objectif de recherche, à savoir une prévalence significative des bactéries multirésistantes (BMR) dans l'ensemble des prélèvements positifs étudiés. Cette prévalence s'est établie à 42%, avec une fréquence plus élevée chez les patients consultés à titre externe, atteignant 48,3%. De plus, une prédominance du sexe féminin (55,2%) et des sujets adultes (98,2%) a été observée.

La répartition intégrale des bactéries multirésistantes (BMR) isolées selon leur type, est représentée par 77,59 % des souches d'*A. baumannii* (ABM) de *P. aeruginosa* (PAM) et des entérobactéries multirésistantes. Suivie par 12,07 % des souches de *S. aureus* résistants à la méthicilline (SARM) et 10,34 % d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases (EBLSE).

L'étude du profil d'antibiorésistance a révélé que les entérobactéries étudiées présentent une résistance à l'ensemble des antibiotiques testés, provenant de différentes familles. La résistance la plus élevée est observée vis-à-vis des bêta-lactamines, tandis que les antibiotiques de la famille des aminosides tels que la gentamicine et l'amikacine sont considérés comme des traitements très efficaces contre ce groupe de bactéries. De plus, des taux de résistance de 100% ont été enregistrés pour les souches d'*A. baumannii* et de *P. aeruginosa* vis-à-vis de la majorité des antibiotiques testés. Par ailleurs, le profil d'antibiogramme des souches de *S. aureus* résistants à la méthicilline a révélé des résultats significatifs quant à leur résistance à plusieurs familles d'antibiotiques, ainsi qu'une sensibilité accrue aux érythromycines.

L'analyse par chromatographie (CG/SM) a permis d'identifier 12 composés volatils, représentant environ 91,45 % de la composition chimique totale. Les composants les plus abondants sont le 1,8-cinéole, le camphre et l' $\alpha$ -pinène.

Les résultats de l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis*, obtenus par la méthode de l'aromatogramme, révèlent son activité contre la majorité des souches de bactéries multirésistantes (BMR) testées, à l'exception de certaines souches de *Paeruginosa*. Les souches les plus sensibles sont *S. aureus*, suivies d'*A. baumannii*. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées par la méthode de dilution sur milieu solide, avec des valeurs variantes entre 0,25 et 0,06 µl/ml.

Nous concluons que les résultats de cette étude suggèrent la possibilité d'utiliser soit l'huile essentielle, soit certains de ses composants, comme base pour développer des agents antibactériens naturels afin de trouver des alternatives possibles aux antibiotiques et lutter contre la résistance aux antibiotiques. Cependant, des études supplémentaires sont nécessaires pour valider ces résultats.

Comme perspective, il serait intéressant de :

- Déterminer la concentration minimale bactéricide afin de mieux comprendre le mécanisme d'action d'huile essentielle de romarin.
- Évaluer l'efficacité des huiles essentielles contre d'autres types de micro-organismes : tels que les champignons et les virus.
- Étudier la possibilité d'une synergie entre l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* et d'autres substances antimicrobiennes connues pourrait potentiellement renforcer son activité et réduire les concentrations nécessaires pour obtenir un effet antibactérien.
- Étudier la toxicité orale chronique de cette huile essentielle et réaliser des études in vivo pour évaluer l'efficacité et la sécurité de l'huile essentielle de romarin dans des modèles animaux, afin de mieux comprendre son potentiel d'application dans les produits pharmaceutiques
- Évaluer et tester l'huile essentielle de *Rosmarinus officinalis* pour d'autres propriétés biologiques in vivo, telles que propriétés anti-inflammatoires et antidiabétique
- Évaluer la stabilité de l'huile essentielle dans différentes conditions de stockage

# **Références bibliographiques**

### A

- Aafi, A., (2013). Monographie des plantes aromatique et médicinales au Maroc (*Rosmarinus officinalis* L), PAM Projet « Intégration de la Biodiversité dans les chaînes de valeur des plantes Aromatique et Médicinales au Maroc ».
- Acharjee, M., Zerín, N., Ishma, T., Mahmud, M. R. (2022). In-vitro anti-bacterial activity of medicinal plants against Urinary Tract Infection (UTI) causing bacteria along with their synergistic effects with commercially available antibiotics. *New microbes and new infections*, 51, 101076.
- Adler, A., Katz, D. L., Marchaim, D. (2020). The Continuing Plague of Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase Producing Enterbacterales Infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 34(4), 677–708.
- Adoui, M., 2019. Caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM) et évaluation de leur sensibilité à la propolis. Thèse de doctorat. Université de constantine
- Agyepong, N., Govinden, U., Owusu-Ofori, A. et al. Multidrug-resistant gram-negative bacterial infections in a teaching hospital in Ghana. *Antimicrob Resist Infect Control* 7, 37 (2018).
- Al-Maharik, N., Jaradat, N., Hawash, M., Al-Lahham, S., Qadi, M., Shoman, I., Jaber, S., Rahem, R.A., Hussein, F., Issa, L. (2022) Chemical Composition, Antioxidant, Antimicrobial and Anti-Proliferative Activities of Essential Oils of *Rosmarinus officinalis* from five Different Sites in Palestine.
- Al-Megrin, W. A., AlSadhan, N. A., Metwally, D. M., Al-Talhi, R. A., El-Khadragy, M. F., & Abdel-Hafez, L. J. M. (2020). Potential antiviral agents of *Rosmarinus officinalis* extract against herpes viruses 1 and 2. *Bioscience Reports*, 40(6).
- Alsamawi, M., Joudeh, A.I., Eldeeb, Y., Al-Dahshan, A., Khan, F., Ghadban W, Almaslamani M and Alkhal A (2022) Epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in Qatar: A 3-year hospital-based study. *Front. Antibiot.* 1:980686.
- Al-Sereiti, M. R., Abu-Amer, K. M., & Sen, P. (1999). Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *PubMed*, 37(2), 124–130.
- Ambrose, D. C. P., Manickavasagan, A., & Naik, R. (2016). *Leafy Medicinal Herbs: Botany, Chemistry, Postharvest Technology and Uses*. CABI.
- Amin, A., Hamza, A. A. (2005). Hepatoprotective effects of *Hibiscus*, *Rosmarinus* and *Salvia* on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life sciences*, 77(3), 266–278.
- Anwar, A., Arshad, S., Arif, A., Naeem, A., & Tanveer, R. (2023) Phytochemical Characterisation and Biological activities of *Rosmarinus Officinalis* Leaves Ayesha Anwar<sup>1</sup>, Shafia Arshad<sup>2</sup>, Amina Arif<sup>1</sup>, Asma Naeem<sup>3</sup>, Rida Tanveer<sup>2</sup>, Uzma Bashir<sup>2</sup>, Zeemal Seemab Amin<sup>4</sup> and Saba Abbas<sup>5</sup>.
- Aouf, A.; Bouaouina, S.; Abdelgawad, M.A.; Abourehab, M.A.S.; Farouk, A. In Silico Study for Algerian Essential Oils as Antimicrobial Agents against Multidrug-Resistant thesBacteria Isolated from Pus Samples. *Antibiotics* 2022, 11, 1317.
- Assadpour, E., Can Karaça, A., Fasamanesh, M., Mahdavi, S. A., Shariat-Alavi, M., Feng, J., Kharazmi, M. S., Rehman, A., Jafari, S. M. (2023). Application of essential oils as natural biopesticides; recent advances. *Critical reviews in food science and nutrition*, 1–21. Advance online publication.
- Aye, M. M., Aung, H. H., Sein, M. M., & Armijos, C. (2019). A Review on the Phytochemistry, Medicinal Properties and Pharmacological Activities of 15 Selected Myanmar Medicinal Plants. *Molecules*, 24(2), 293.

Moubareck, A.C, Hammoudi Halat D. (2020). Insights into *Acinetobacter baumannii*: A Review of Microbiological, Virulence, and Resistance Traits in a Threatening Nosocomial Pathogen. *Antibiotics* (Basel). 12;9(3):119.

### B

- Bakhat, S., Nadeem, S., Taj, Y., Hussain, B., Hussain, A., & Shakeel, D. (2023). BACTERIAL PROFILE AND ANTIBIOGRAM OF MICROORGANISMS ISOLATED FROM DIFFERENT BODY SITE INFECTIONS AMONG PATIENTS OF A PRIVATE HOSPITAL, KARACHI. *Pakistan Journal of Pathology*, 34(1), 11–16.
- Bakirel, T., Bakirel, U., Keleş, O. U., Ulgen, S. G., & Yardibi, H. (2008). In vivo assessment of antidiabetic and antioxidant activities of rosemary (*Rosmarinus officinalis*) in alloxan-diabetic rabbits. *Journal of ethnopharmacology*, 116(1), 64–73.
- 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(3), 332–337.
- Bao, T., Li, Y., Qu, C., Zheng, Z., Yang, H. G., & Li, P. (2020). Antidiabetic Effects and Mechanisms of Rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its Phenolic Components. *The American Journal of Chinese Medicine*, 48(06), 1353–1368.
- Baptiste Houndou Fokou, J., Michel Jazet Dongmo, P., & Fekam Boyom, F. (2020). Essential Oil's Chemical Composition and Pharmacological Properties. *IntechOpen*. doi: 10.5772/intechopen.86573
- Basseray A et Micoud M., (2000). Infections nosocomiales., *Maladies infectieuses Encycl. Med.* 8-001-F-10
- Becker, K., Van Alen, S., Idelevich, E. A., Schleimer, N., Seggewiß, J., Mellmann, A., Kaspar, U., & Peters, G. (2018). Plasmid-Encoded Transferable *mecB*-Mediated Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Emerging Infectious Diseases*, 24(2), 242–248.
- Begum A., Sandhya S., Syed Shaff ath A., Vinod K.R., Swapna R., Banji D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta Sci.Pol. Technol. Aliment.* 12 (1), 61-74
- Benmoumou, S., Hamaidi-Chergui, F., Bouznada, K., Bouras, N., Bakli, M., & Meklat, A. (2023). Antibiotic Resistance Pattern of Enterobacteriaceae Strains Isolated from Community Urinary Tract Infections in Algiers, Algeria. *Advanced Research in Life Sciences*, 7(1), 46–53.
- Bernardes, W. A., Lucarini, R., Tozatti, M. G., Souza, M. G., Silva, M. L., Filho, A. A., Martins, C. H., Crotti, A. E., Pauletti, P. M., Groppo, M., Cunha, W. R. (2010). Antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* against oral pathogens: relevance of carnosic acid and carnosol. *Chemistry & biodiversity*, 7(7), 1835–1840. \_.
- Blair, J. M., Webber, M. A., Baylay, A. J., Ogbolu, D. O., & Piddock, L. J. (2015). Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews. Microbiology*, 13(1), 42–51.
- Blair, J.M.; E Richmond, G.E.; Piddock, L.J. Multidrug Efflux Pumps in Gram-Negative Bacteria and Their Role in Antibiotic Resistance. *Future Microbiol.* 2014, 9, 1165–1177
- Bouchonnet, S., & Libong, D. (2004). Le couplage chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse. *Recherche Et Développement*, 275, 7–14.
- Boukhatem M.N., Saidi A., Fehrat M.A., Kameli A., Tchoketch Kebir H. 2014. Lemon grass (*Cymbopogon citratus*) essential oil as a potent anti-inflammatory and antifungal drugs. *Libyan Journal of Medicine*.P :5-9.

- Bouras M (2019). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Thèse de Doctorat. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR-ANNABA
- Borges, R. S., Ortíz, B. L. S., Pereira, A. C. M., Keita, H., & Carvalho, J. C. T. (2019). Rosmarinus officinalis essential oil: A review of its phytochemistry, anti-inflammatory activity, and mechanisms of action involved. *Journal of Ethnopharmacology*, 229, 29–45
- Borges, R. S., Lima, E. S., Keita, H., Ferreira, I. M., Fernandes, C. P., Cruz, R. A., Duarte, J. L., Velázquez-Moyado, J. A., Ortíz, B. L. S., Castro, A. N., Ferreira, J. V., Da Silva Hage-Melim, L. I., & Carvalho, J. C. T. (2017). Anti-inflammatory and antialgic actions of a nanoemulsion of Rosmarinus officinalis L. essential oil and a molecular docking study of its major chemical constituents. *Inflammopharmacology*, 26(1), 183–195.
- Bowbe KH, Salah KBH, Moumni S, Ashkan MF, Merghni A. (2023) Anti-Staphylococcal Activities of Rosmarinus officinalis and Myrtus communis Essential Oils through ROS-Mediated Oxidative Stress. *Antibiotics*. 12(2):266.
- Bozin, B., Mimica-Dukic, N., Samojlik, I., & Jovin, E. (2007). Antimicrobial and antioxidant properties of rosemary and sage (Rosmarinus officinalis L. and Salvia officinalis L., Lamiaceae) essential oils. *Journal of agricultural and food chemistry*, 55(19), 7879–7885.
- Bruneton J (2009) Pharmacognosie — Phytochimie — Plantes médicinales. 4<sup>e</sup> éd. Ed. Tec & Doc/Lavoisier, Paris

### C

- Carias, L.L., Rudin, S.D., Donskey, C.J., Rice, L.B., (1998). Genetic linkage and co-transfer of a novel, VanB-containing transposon (Tn5382) and a low-affinity penicillin-binding protein 5 gene in a clinical vancomycin-resistant Enterococcus faecium. *J. Bacteriol.* 180 (17), 4426–4434.
- Callens, A., & Bartges, J. W. (2015). Urinalysis. *Veterinary Clinics of North America-small Animal Practice*, 45(4), 621–637.
- CA-SFM. 2010. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Communiqué 2010. Société Française de Microbiologie, Paris, France:
- Chen W., Vermaak I., Viljoen A. 2013. Camphor— A Fumigant during the Black Death and a Coveted Fragrant Wood in Ancient Egypt and Babylon - A Review. *Molecules*, 18(5), 5434–5454
- Chouhan, S., Sharma, K., & Guleria, S. (2017). Antimicrobial Activity of Some Essential Oils-Present Status and Future Perspectives. *Medicines (Basel, Switzerland)*, 4(3), 58.
- Collins, MA., Charles, HP. (1987) Antimicrobial activity of Carnosol and Ursolic acid: two anti-oxidant constituents of Rosmarinus officinalis L. *Food Microbiology* 4(4): 311–315
- Craft, K. M., Nguyen, J. M., Berg, L. D., & Townsend, S. D. (2019c). Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): antibiotic-resistance and the biofilm phenotype. *MedChemComm*, 10(8), 1231–1241.
- Cutillas, A-B., Carrasco, A., Martinez-Gutierrez, R., Tomas, V., Tudela, J., (2020) Rosmarinus officinalis L. essential oils from Spain: composition, antioxidant capacity, lipoxygenase and acetylcholinesterase inhibitory capacities, and antimicrobial activities.

### D

- Dadgostar, P., (2019). Antimicrobial Resistance: Implications and Costs. *Infection and drug resistance*, 12, 3903–3910.
- Darby, E. M., Trampari, E., Siasat, P., Gaya, M. S., Alav, I., Webber, M. A., & Blair, J. M. A. (2022). Molecular mechanisms of antibiotic resistance revisited. *Nature Reviews Microbiology*, 21(5), 280–295.
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews: MMBR*, 74(3), 417–433.
- Debabza, M., (2015) Thèse de Doctorat : Emergence en milieu hospitalier des bacilles Gram négatifs multirésistants aux antibiotiques : étude bactériologique et moléculaire. Université Badji Mokhtar, Annaba, Algéri
- Decré, D. (2012). *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : Un modèle d'adaptation. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 2012(441), 43–52.
- De-Oliveira, J. R., Camargo, S. E. A., & De Oliveira, L. D. (2019). *Rosmarinus officinalis* L. (rosemary) as therapeutic and prophylactic agent. *Journal of Biomedical Science*, 26(1).
- Dever, L., & Dermody, T. S. (1991). Mechanisms of Bacterial Resistance to Antibiotics. *Archives of Internal Medicine*, 151(5), 886.
- Djilani, A., & Dicko, A. (2012). The Therapeutic Benefits of Essential Oils. In *InTech eBooks*.
- Duval, M., & Cossart, P. (2019). Un nouveau mécanisme de résistance aux antibiotiques - Le recyclage des ribosomes [A new mechanism of antibiotic resistance: ribosome recycling]. *Medecine sciences : M/S*, 35(8-9), 613–615.

### E

- El Khoury, JY., Zamarreño Beas J, Huguenot, A., Py B, Barras, F. (2023) Bioenergetic State of *Escherichia coli* Controls Aminoglycoside Susceptibility. *mBio*. 28;14(1)
- Elgayyar M, Draughon FA, Golden DA, Mount JR (2001) Antimicrobial activity of essential oils from plants against selected pathogenic and saprophytic microorganisms. *J Food Prot* 64: 1019–1024
- Elward AM, McAndrews JM, Young VL.(2009) Methicillin-sensitive and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: preventing surgical site infections following plastic surgery. *Aesthet Surg J*.
- Ez-Zriouli, R., El Yacoubi, H., Imtara, H., El-Hessni, A., Mesfioui, A., Tarayrah, M., Mothana, R., Noman, O., Mouhsine, F. & Rochdi, A. (2022). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oils from *Mentha pulegium* and *Rosmarinus officinalis* against multidrug-resistant microbes and their acute toxicity study. *Open Chemistry*, 20(1), 694-702.

### F

- Fadel, H.; Benayache, F.; Chalchat, J.C.; Figueredo, G.; Chalard, P.; Hazmoune, H.; Benayache, S. (2021) Essential oil constituents of *Juniperus oxycedrus* L. and *Cupressus sempervirens* L. (Cupressaceae) growing in Aures region of Algeria. 35, 2616–2620.
- Fahim N. A. E. (2021). Prevalence and antimicrobial susceptibility profile of multidrug-resistant bacteria among intensive care units patients at Ain Shams University Hospitals in Egypt-a retrospective study. *The Journal of the Egyptian Public Health Association*, 96(1), 7.

### G

- Garnier, M. (2020). Bactéries multirésistantes : impact sur le pronostic en réanimation. *Anesthésie & Réanimation*.

- Gholizadeh, Y., Courvalin, P., (2000). Acquired and intrinsic glycopeptide resistance in enterococci. *Int. J. Antimicrob. Agents* 16 (1), 11–17.
- Goetz, P., & Ghedira, K. (2012). Phytothérapie anti-infectieuse. In *Phytothérapie pratique*. Georgantelis, D., Ambrosiadis, I., Katikou, P., Blekas, G., Georgakis, S A. (2007) Effect of rosemary extract, chitosan and  $\alpha$ -tocopherol on microbiological parameters and lipid oxidation of fresh pork sausages stored at 4 °C. *Meat Science*. 76: 172-181.
- Golli AL, Cristea OM, Zlatian O, Glodeanu AD, Balasoiu AT, Ionescu M, Popa S. Prevalence of Multidrug-Resistant Pathogens Causing Bloodstream Infections in an Intensive Care Unit. *Infect Drug Resist*. 2022 Oct 17(15): 5981-5992.
- González-Minero, F. J., Bravo-Díaz, L., & Ayala-Gómez, A. (2020). *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): An Ancient Plant with Uses in Personal Healthcare and Cosmetics. *Cosmetics*, 7(4), 77.
- Graber, M.F., Pérez-Correa, J.R., Verdugo, G., Valle, J.M. Del, Agosin, E., 2010. Spinning cone column isolation of rosemary essential oil. *Food Control* 21, 615–619.
- Gür, S. D., Ozyurek, S. B., & Bilkay, I. S. (2017). Antimicrobial Activity of Thyme and Rosemary Oils against *Pseudomonas aeruginosa* Strains. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 3(45), 435–442.

### H

- H. SELMI\*, A. DHIFALLAH1, A. BAHRI2 , S. JEDIDI1 , C. ABBES1 , H. ROUISSI.2020, Composition chimique, activités antioxydantes et antibactériennes des huiles essentielles de *Pistacia lentiscus* et *Rosmarinus officinalis*, *Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology*, 69(1), 4247-4258
- Hailemariam, M., Alemayehu, T., Tadesse, B., Nigussie, N. A., Agegnehu, A., Habtemariam, T., Ali, M., Mitiku, E., & Azerefege, E. (2021). Major bacterial isolate and antibiotic resistance from routine clinical samples in Southern Ethiopia. *Scientific Reports*, 11(1).
- Hendel, N., Napoli, E., Sarri, M., Saija, A., Cristani, M., Nostro, A., Ginestra, G., & Ruberto, G. (2019). Essential Oil from Aerial Parts of Wild Algerian Rosemary: Screening of Chemical Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activities. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 22(1), 1–17.
- Ibrahim M. E. (2018). High antimicrobial resistant rates among Gram-negative pathogens in intensive care units. A retrospective study at a tertiary care hospital in Southwest Saudi Arabia. *Saudi medical journal*, 39(10), 1035–1043. <https://doi.org/10.15537/smj.2018.10.22944>
- ISO, 2018. International Organization for Standardization: Essential oil of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) [WWW Document]. URL <https://www.iso.org/standard/56521.html> (accessed 4.14.18).

### J

- Jacoby GA. (2009) AmpC beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 22(1):161–82, Table of Contents.
- Jalal NA, Al-Ghamdi AM, Momenah AM et al (2023) Prevalence and antibiogram Pattern of *Klebsiella pneumoniae* in a Tertiary Care Hospital in Makkah, Saudi Arabia: An 11-Year Experience. *Antibiotics* 12(1):164.
- Jara, M. C., Frediani, A. V., Zehetmeyer, F. K., Bruhn, F. R. P., Müller, M. R., Miller, R. G., & Nascente, P. D. S. (2021). Multidrug-Resistant Hospital Bacteria: Epidemiological Factors and Susceptibility Profile. *Microbial drug resistance (Larchmont, N.Y.)*, 27(3), 433–440.

- Jardak, M., Elloumi-Mseddi, J., Aifa, S. (2017). Chemical composition, anti-biofilm activity and potential cytotoxic effect on cancer cells of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil from Tunisia. *Lipids Health Dis* 16, 190
- Jarlier, V., Nicolas, M. H., Fournier, G., & Philippon, A. (1988). Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Reviews of infectious diseases*, 10(4), 867–878.
- Jean-Luc Aboya Moroh. 2013. Thèse de doctorat. Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morinda morindoides*. Sciences agricoles. Université de Bretagne occidentale
- Jordán, M. J., Lax, V., Rota, M. C., Lorán, S., & Sotomayor, J. A. (2013). Effect of bioclimatic area on the essential oil composition and antibacterial activity of *Rosmarinus officinalis* L. *Food Control*, 30(2), 463–468.
- Kabugo, D., Kizito, S., Ashok, D. D., Graham, K. A., Nabimba, R., Namunana, S., Kabaka, M. R., Achan, B., & Najjuka, F. C. (2016). Factors associated with community-acquired urinary tract infections among adults attending assessment centre, Mulago Hospital Uganda. *African health sciences*, 16(4), 1131–1142.
- Kanakadurgamba, T., Koripella, R.L., Gowtham, B. (2021). Study of aerobic bacterial etiology and their antibiogram from pus samples in a tertiary care hospital. *International Journal of Research*, 8(2021), 358-362.
- Kapoor, G., Saigal, S., & Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*, 33(3), 300.
- Karima Ounaissia<sup>1</sup>, Tara nizia Boudjadi<sup>1</sup>, Meymouna Bouguergour<sup>1</sup>, Asma Ferraz<sup>2</sup>, Abdelghani Djahoudi<sup>3</sup> 2022. ANTI-BACTERIAL ACTIVITY OF ESSENTIAL OIL OF THE FLOWERING TOPS OF *Rosmarinus officinalis* L., FROM TEBESSA
- Karimi, F., Samarghandi, M.R., Shokoohi, R., Godini, K., 2016. Prevalence and removal efficiency of Enterococcal species and vancomycin-resistant Enterococci of a hospital wastewater treatment plant. *Avicenna J. Environ. Health Eng.* 3 (2), e8623.
- Kfoury, M., Auezova, L., Greige-Gerges, H., Fourmentin, S., 2015. Promising applications of cyclodextrins in food: Improvement of essential oils retention, controlled release and antiradical activity. *Carbohydr. Polym.* 131, 264–272.
- Khan, R. A., Jawaid, M., Khaleel, M. 2018. Bacteriological profile and antibiogram of isolates from pus samples in a tertiary care centre. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 7(1), 387-394.
- Khanam, R.A., Islam, R., Sharif, A., Parveen, R., Sharmin, I., Yusuf, A. 2018. Bacteriological Profiles of Pus with Antimicrobial Sensitivity Pattern at a Teaching Hospital in Dhaka City. *Bangladesh Journal of Infectious Diseases*, 5(1), 2411-4820.
- Kiiru, S., Maina, J., Katana, J., Mwaniki, J., Asiimwe, B. B., Mshana, S. E., Keenan, K., Gillespie, S. H., Stelling, J., Holden, M. T. G., HATUA Consortium, & Kiiru, J. (2023). Bacterial etiology of urinary tract infections in patients treated at Kenyan health facilities and their resistance towards commonly used antibiotics. *PloS one*, 18(5), e0277279.
- Kim, H. Y., Na, S. J., Alodaini, H. A., Al-Dosary, M. A., Nandhakumari, P., & Dyona, L. (2021). Prevalence of multidrug-resistant bacteria associated with polymicrobial infections. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1864–1869.
- Klancnik A, Guzej B, Kolar MH et al. (2009) In vitro antimicrobial and antioxidant activity of commercial rosemary extract formulations. *J Food Prot* 72(8): 1744–1752

- Kotb, D., Mahmoud, M., Mahdi, W., & Khairy, R. (2019). Prevalence and Antimicrobial Resistance of Urinary tract Infections in Upper Egypt. *Minia Journal of Medical Research*, 30(4), 78–85
- Kunz Coyne, A. J., El Ghali, A., Holger, D., Rebold, N., & Rybak, M. J. (2022). Therapeutic Strategies for Emerging Multidrug-Resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Infectious diseases and therapy*, 11(2), 661–682.
- Kyriakidis I, Vasileiou E, Pana ZD, Tragiannidis A. *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms. *Pathogens*. 2021 Mar 19;10(3):373.

### L

- Lakhundi, S., & Zhang, K. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical microbiology reviews*, 31(4), e00020-18.
- Lee, A. S., De Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. J. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nature Reviews Disease Primers*, 4(1).
- Lee, C. R., Lee, J. H., Park, M., Park, K. S., Bae, I. K., Kim, Y. B., ... & Lee, S. H. (2017). Biology of *Acinetobacter baumannii*: pathogenesis, antibiotic resistance mechanisms, and prospective treatment options. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, 55.
- Liu, J., Chen, D., Peters, B. M., Li, L., Li, B., Xu, Z., & Shirliff, M. E. (2016). Staphylococcal chromosomal cassettes *mec* (SCC*mec*): A mobile genetic element in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Microbial pathogenesis*, 101, 56–67.
- Lucie Mangin. Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. *Sciences pharmaceutiques*. 2016. (hal-01734015)

### M

- Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M. E., Giske, C. G., Harbarth, S. J., Hindler, J. F., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D. L., Rice, L. C. J., Stelling, J., Struelens, M., Vatopoulos, A., Weber, J., & Monnet, D. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281.
- Mahamat, O. O., Lounnas, M., Hide, M., Dumont, Y., Tidjani, A., Kamougam, K., Abderrahmane, M., Benavides, J., Solassol, J., Bañuls, A., Jean-Pierre, H., Carrière, C., & Godreuil, S. (2019). High prevalence and characterization of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing Enterobacteriaceae in Chadian hospitals. *BMC Infectious Diseases*, 19(1).
- Manion, C. R., & Widder, R. M. (2017). Essentials of essential oils. *American journal of health-system pharmacy : AJHP : official journal of the American Society of Health-System Pharmacists*, 74(9), e153–e162.
- Mckinney, C.W., Pruden, A., 2012. Ultraviolet disinfection of antibiotic resistant bacteria (ARBs) and their antibiotic resistance genes (ARGs) in water and wastewater. *Environ. Sci. Technol.* 46 (24), 13393–13400.
- Merga Duffa Y, Terfa Kitila K, Mamuye Gebretsadik D, Bitew A. Prevalence and antimicrobial susceptibility of bacterial uropathogens isolated from pediatric patients at Yekatit 12 Hospital Medical College. Addis Ababa Ethiopia *Int J Microbiol*. 2018;2018:8492309. <https://doi.org/10.1155/2018/8492309>
- Merradi M. 2022. *Pseudomonas aeruginosa* au CHU de Batna : Epidémiologie, résistance et Options thérapeutiques. Université Mustapha Ben Boulaid-Batna 2

- Morrison, L., & Zembower, T. R. (2020). Antimicrobial Resistance. *Gastrointestinal Endoscopy Clinics of North America*, 30(4), 619–635.
- Mouahid, A., Dufour, C., Badens, E., 2017. Supercritical CO<sub>2</sub> extraction from endemic Corsican plants; Comparison of oil composition and extraction yield with hydrodistillation method. *J. CO<sub>2</sub> Util.* 20, 263–273.
- Mourabit, N., Arakrak, A., Bakkali, M., Bakrim, H., Hilal, B., & Laglaoui, A. (2020). Antibacterial activity of the Essential oils against multiresistant bacterial strains isolated from hospital. *JOURNAL OF ANALYTICAL SCIENCES AND APPLIED BIOTECHNOLOGY*, 2(2).
- Moussa, A. A., Abdulahi Abdi, A., Awale, M. A., & Garba, B. (2021). Occurrence and Phenotypic Characterization of Multidrug-Resistant Bacterial Pathogens Isolated from Patients in a Public Hospital in Mogadishu, Somalia. *Infection and drug resistance*, 14, 825–832.
- Mulyaningsih, S., Sporer, F., Reichling, J., & Wink, M. (2011). Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology*, 49(9), 893–899.
- Munita JM, Arias CA. Mechanisms of antibiotic resistance. *Microbiol Spectr.* 2016;4(2).

### N

- Napoli, E.M., Curcuruto, G., Ruberto, G., 2010. Screening of the essential oil composition of wild Sicilian rosemary. *Biochem. Syst. Ecol.* 38, 659–670.
- Neut, C. (2021). Carriage of Multidrug-Resistant Bacteria in Healthy People: Recognition of Several Risk Groups. *Antibiotics*, 10(10), 1163.
- Novović, K., & Jovcic, B. (2023). Colistin Resistance in *Acinetobacter baumannii*: Molecular Mechanisms and Epidemiology. *Antibiotics*, 12(3), 516.

### O

- O'Driscoll, T., Crank, C.W., 2015. Vancomycin-resistant enterococcal infections: epidemiology, clinical manifestations, and optimal management. *Infect. Drug Resist.* 8, 217–230.
- Oladipo, I.C., Sanni, A., State, O., 2013. Phenotypic and genomic characterization of Enterococcus species from some Nigerian fermented foods. *Food Biotechnol.* 27, 39–53.
- Olaitan AO, Morand S, Rolain JM. Mechanisms of polymyxin resistance: acquired and intrinsic resistance in bacteria. *Front Microbiol.* 2014;5:643. doi:10.3389/fmicb.2014.00643
- Ombelet, S., Barbé, B., Affolabi, D., Ronat, J., Lompo, P., Lunguya, O., Jacobs, J., & Hardy, L. (2019). Best practices of blood cultures in Low- and Middle-Income Countries. *Frontiers in Medicine*, 6.
- Ostrer L, Khodursky RF, Johnson JR, Hiasa H, Khodursky A. Analysis of Mutational Patterns in Quinolone Resistance-Determining Regions of GyrA and ParC of Clinical Isolates. *Int J Antimicrob Agents.* 2018; S0924-8579(18):30366-2.
- Ouibrahim, A., Tlili-Ait-Kaki, Y., Bennadja, S., Amrouni, S., Djahoudi, A., & Djebar, M. R. (2013). Evaluation of antibacterial activity of *Laurus nobilis* L., *Rosmarinus officinalis* L. and *Ocimum basilicum* L. from Northeast of Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 7(42), 4968–4973.

### P

- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnology Advances*, 37(1), 177–192.

- Parsons, J. B., Westgeest, A. C., Conlon, B. P., & Fowler, V. G. (2023). Persistent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Bacteremia: Host, Pathogen, and Treatment. *Antibiotics*, 12(3), 455.
- Peleg AY, Seifert H, Paterson DL (2008) *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. *Clin Microbiol Rev* 21: 538-582
- Perez C. (2003). Clinical aromatherapy. Part I: An introduction into nursing practice. *Clinical journal of oncology nursing*, 7(5), 595–596.

### Q

- Qin, S., Xiao, W., Zhou, C. et al. (2022) *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenesis, virulence factors, antibiotic resistance, interaction with host, technology advances and emerging therapeutics. *Sig Transduct Target Ther* 7, 199
- Quincampoix, J., & Mainardi, J. (2001). Mécanismes de résistance des cocci à Gram positif/Mechanisms underlying resistance of Gram-positive bacteria. *Réanimation*, 10(3), 267–275.

### R

- R. Rada, R. Nakhli, S. Khayati, L. Ait Said, K. Zahlane (2022). Epidemiological Aspect and Antibiotic Resistance Profile of *Acinetobacter baumannii* in the Resuscitation Department of Ibn Tofail Hospital CHU Med V. Haya Saudi J Life Sci, 7(3): 74-77.
- Rahal, K., Belouni, R., and Benslimani, A. 2005. Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. *Rec de L'OMS*. 4ème édition. Algérie. 46-52.
- Rahbardar, M. G., & Hosseinzadeh, H. (2020). Therapeutic effects of rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.) and its active constituents on nervous system disorders. *PubMed*, 23(9),1100-1112
- Rebiahi S S. 2012. CARACTERISATION DE SOUCHES DE *Staphylococcus aureus* ET ETUDE DE LEUR ANTIBIORESISTANCE AU NIVEAU DU CENTRE HOSPITALO-UNIVERSITAIRE DE TLEMCE. Thèse de doctorat. UNIVERSITE DE TLEMCE
- Rosenberg Goldstein, R.E., Micallef, S.A., Gibbs, S.G., George, A., Claye, E., Sapkota, A., Joseph, S.W., Sapkota, A.R., 2014. Detection of vancomycin-resistant enterococci (VRE) at four U.S. wastewater treatment plants that provide effluent for reuse. *Sci. Total Environ*. 466-467, 404–411.
- Roy S, Chowdhury G, Mukhopadhyay AK, Dutta S, Basu S.(2022) Convergence of Biofilm Formation and Antibiotic Resistance in *Acinetobacter baumannii* Infection. *Front Med (Lausanne)*. .

### S

- Sakkas, H., Gousia, P., Economou, V., Sakkas, V. A., Petsios, S. K. D., & Papadopoulou, C. (2016). In vitro antimicrobial activity of five essential oils on multi-drug resistant Gram-negative clinical isolates. *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5(3), 212.
- Sally Mohammed Saber and others, Frequency and Antibiotic Resistance Profile of Uropathogens Associated With Community Acquired Urinary Tract Infections, *QJM: An International Journal of Medicine*, Volume 114, Issue Supplement\_1, October 2021, hcab091.002, <https://doi.org/10.1093/qjmed/hcab091.002>
- Šámal, V., Paldus, V., Fáčková, D., Mečl, J., & Srám, J. (2022). The prevalence of antibiotic-resistant and multidrug-resistant bacteria in urine cultures from inpatients with spinal cord injuries and disorders: an 8-year, single-center study. *BMC Infectious Diseases*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07235-3>

- Sancheti G, Goyal P.K (2006) Effect of rosmarinus officinalis in modulating 7,12-dimethylbenz (a)anthracene induced skin tumorigenesis in mice. *Phytotherapy Research* 20(11): 981–986
- Santoyo S, Cavero S, Jaime L, Ibañez E, Señoráns FJ, Reglero G. (2005) Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J Food Prot* 68(4):790–795
- Santoyo S., Cavero S., Jaime L., Ibañez E., Señoráns F.J., Reglero G. 2005. Chemical composition and antimicrobial activity of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil obtained via supercritical fluid extraction. *J Food Prot*, 68(4), 790–795.
- Saviuc C, Gheorghe I, Coban S, et al. *Rosmarinus officinalis* essential oil and eucalyptol act as efflux pumps inhibitors and increase ciprofloxacin efficiency against *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter Baumannii* MDR strains. *Rom Biotechnol Lett.* 2016;21(4):11782-11790.
- Schöneweck, F., Schmitz, R. P. H., Reißner, F., Scherag, A., Löffler, B., Pletz, M. W., Weis, S., Brunkhorst, F. M., & Hagel, S. (2021). The epidemiology of bloodstream infections and antimicrobial susceptibility patterns in Thuringia, Germany: a five-year prospective, state-wide surveillance study (AlertsNet). *Antimicrobial resistance and infection control*, 10(1), 132.
- SEFRAOUI, Imane Ep KHELIL.2015. Etude de la résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* au niveau de différents hôpitaux de l'ouest algérien. Theses de doctorat . Université abu bakr belkaid
- SEBTI, Mohamed.2020. Etude des Effets Toxiques de Plantes Aromatiques Spontanées de la Région de Jijel, en vue d'une meilleure valorisation Pharmaceutique et phytopharmaceutique. Theses de doctorat. Université Mohamed Seddik Benyahia - Jijel
- Shahkarami F, Rashki A, Rashki Ghalehnoo Z. Microbial Susceptibility and Plasmid Profiles of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* and Methicillin-Susceptible *S. aureus*. *Jundishapur J Microbiol.* 20147(7):e16984. [PMC free article] [PubMed]
- Shi, M. L., Quan, X. R., Tan, L. M., Zhang, H. L., & Yang, A. Q. (2022). Identification and antibiotic susceptibility of microorganisms isolated from diabetic foot ulcers: A pathological aspect. *Experimental and therapeutic medicine*, 25(1), 53.
- Shin, H., Choi, M., Ryu, B., Lee, N. M., Kim, H. S., Choi, H., Chang, J., Lee, K., Jang, D. S., & Inn, K. (2013). Antiviral activity of carnosic acid against respiratory syncytial virus. *Virology Journal*, 10(1).
- Silva, A., Costa, E., Freitas, A., & Almeida, A. (2022). Revisiting the Frequency and Antimicrobial Resistance Patterns of Bacteria Implicated in Community Urinary Tract Infections. *Antibiotics* (Basel, Switzerland), 11(6), 768. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060768>
- Smith, W. P., Wucher, B. R., Nadell, C. D., & Foster, K. R. (2023). Bacterial defences: mechanisms, evolution and antimicrobial resistance. *Nature Reviews Microbiology*.
- Sotelo-Félix, J. I., Martínez-Fong, D., Muriel, P., Santillán, R. L., Castillo, D., & Yahuaca, P. (2002). Evaluation of the effectiveness of *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) in the alleviation of carbon tetrachloride-induced acute hepatotoxicity in the rat. *Journal of ethnopharmacology*, 81(2), 145–154.
- Stapleton, P. D., & Taylor, P. W. (2002). Methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*: mechanisms and modulation. *Science progress*, 85(Pt 1), 57–72.
- Swagata R, Debadatta D., 2017. Isolation, Characterization and Antibiotic Sensitivity Pattern of Different Bacteria in Pus Sample, *JOURNAL OF PURE AND APPLIED MICROBIOLOGY*, June 2017. Vol. 11(2), p. 885-889

- Takaki I, Bersani-Amado LE, Vendruscolo A et al. (2008) Anti-inflammatory and antinociceptive effects of *Rosmarinus officinalis* L. essential oil in experimental animal models. *J Med Food* 11(4): 741–746
- Tawfeeq, A., Culham, A., Davis, F., Reeves, M., 2016. Does fertilizer type and method of application cause significant differences in essential oil yield and composition in rosemary (*Rosmarinus officinalis* L.)? *Ind. Crops Prod.* 88, 17–22.
- Tawfik, A., Read, P., Cuppett, S., 1998. *Rosmarinus officinalis* L. (Rosemary): In Vitro Culture, Regeneration of Plants, and the Level of Essential Oil and Monoterpenoid Constituents. *Biotechnol. Agric. For.* 41, 349–365.
- TOUAITIA H.2016. *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : Emergence et mécanismes de résistance. . Thèse de doctorat. UNIVERSITE BADJI MOKHTAR – ANNABA

### U

- Ugwuanyi, F. C., Ajayi, A., Ojo, D., Adeleye, A. S., & Smith, S. I. (2021). Evaluation of efflux pump activity and biofilm formation in multidrug resistant clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from a Federal Medical Center in Nigeria. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, 20(1).
- Uz Zaman, T., Aldrees, M., Al Johani, S.M., Alrodayyan, M., Aldughashem, F.A., Balkhy, H.H. (2014) Multi-drug carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* infection carrying the OXA-48 gene and showing variations in outer membrane protein 36 causing an outbreak in a tertiary care hospital in Riyadh, Saudi Arabia. *Int. J. Infect. Dis.*, 28,186–92.

### V

- Vázquez-López R, Solano-Gálvez SG, Juárez Vignon-Whaley JJ, Abello Vaamonde JA, Padró Alonzo LA, Rivera Reséndiz A, Muleiro Álvarez M, Vega López EN, Franyuti-Kelly G, Álvarez-Hernández DA, Moncaleano Guzmán V, Juárez Bañuelos JE, Marcos Felix J, González Barrios JA, Barrientos Fortes T. *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Apr 23;9(4):205.
- Veysiére, Anaïs. 2019. 'Antibiotic resistance of bacteria the most commonly encountered in community infections state of play in 2019', Université de Bordeaux (UB).

### W

- Wadekar M D, Sathish J V, Jayashree, Pooja C., 2020. Bacteriological profile of pus samples and their antibiotic susceptibility pattern, *Indian Journal of Microbiology Research* 2020;7(1):43–47
- Wang, M., Wei, H., Zhao, Y., Shang, L., Di, L., Lyu, C., & Liu, J. (2019). Analysis of multidrug-resistant bacteria in 3223 patients with hospital-acquired infections (HAI) from a tertiary general hospital in China. *Bosnian journal of basic medical sciences*, 19(1), 86–93.
- Wichtl M, Anton R (2003) *Plantes thérapeutiques, tradition, pratique officinale, science et thérapeutique*. 2e éd. EMInter/Tec & Doc, Paris, p. 523–528
- Wright GD. Bacterial resistance to antibiotics: enzymatic degradation and modification. *Adv Drug Deliv Rev.* 2005;57(10):1451–1470.
- Wright, G. D., & Sutherland, A. D. (2007). New strategies for combating multidrug-resistant bacteria. *Trends in molecular medicine*, 13(6), 260–267.
- Wu, W., Jin, Y., Bai, F., & Jin, S. (2015). *Pseudomonas aeruginosa*. In Elsevier eBooks (pp. 753–767).
- Wu-Wu, J. W. F., Guadamuz-Mayorga, C., Oviedo-Cerdas, D., & Zamora, W. J. (2023). Antibiotic Resistance and Food Safety: Perspectives on New Technologies and

Molecules for Microbial Control in the Food Industry. Antibiotics (Basel, Switzerland), 12(3), 550.

### Y

- Yandai, F. H., Ndoutamia, G., Nadlaou, B., & Barro, N. (2019). Prevalence and resistance profile of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from urinary tract infections in N'Djamena, Tchad. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*,
- Yengui, M., Trabelsi, R., Khannous, L., Mathlouthi, N. E., Adnan, M., Siddiqui, A. J., Noumi, E., Snoussi, M., & Gdoura, R. (2022). Rapid Detection of Beta-Lactamases Genes among Enterobacterales in Urine Samples by Using Real-Time PCR. *BioMed research international*, 2022, 8612933.
- Yosr, Z., Hnia, C., Rim, T., Mohamed, B., 2013. Changes in essential oil composition and phenolic fraction in *Rosmarinus officinalis* L. var. *typicus* Batt. organs during growth and incidence on the antioxidant activity. *Ind. Crops Prod.* 43, 412–419.

### Z

- Zaheer, R., Cook, S.R., Barbieri, R., Goji, N., Cameron, A., Petkau, A., Polo, R.O., Tymensen, L., Stamm, C., Song, J., Hannon, S., Jones, T., Church, D., Booker, C.W., Amoako, K., Van Domselaar, G., Read, R.R., McAllister, T.A., 2020. Surveillance of *Enterococcus* spp. reveals distinct species and antimicrobial resistance diversity across a one-health continuum. *Sci. Rep.* 10(1),3937.
- Zahid, M., Akbar, A., Sthanadar, A. A., Ali, A., Shah, M., Sthanadar, I. A., Kaleem, M., Aslam, M., Nbsp, K., Nbsp, N., Khan, M. S., & Hassan, S. S. (2014). Isolation and Identification of Multi-Drug Resistant Strains of Non-Lactose Fermenting Bacteria from Clinical Refuses in Major Hospitals of Khyber Pakhtunkhwa, Pakistan. *Open Journal of Medical Microbiology*, 04(02), 124–131.

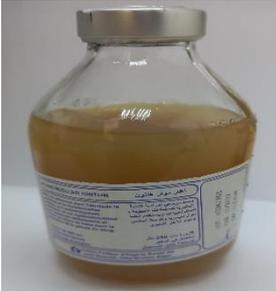
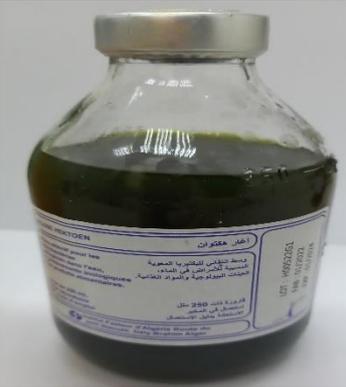
# **Annexes**

## Annexe I. Matériels non biologiques

**Tableau VII.** Matériels non biologiques

Outils de laboratoire	Appareillage	Milieu de culture	Autres produits
- Pipette pasteur	- Microscope	-Gélose Nutritif	- Eau physiologique stérile
- Tubes à essais	optique	- Gélose Chapman	-Huile de vaseline
- Pince stérile	- Autoclave	- Gélose Hektoen	-Huile d'immersion
- Pied à coulisse	- Étuve (37°C)	- Gélose au sang	-Huile essentielle de
-Bec Benzen	-Congélateur	frais	<i>Rosmarinus officinalis</i>
- Anse de platine	-Réfrigérateur	- Gélose au sang cuit	-Plasma humain
-Lame et lamelles	- Agitateur	- Gélose Muller	-L'eau oxygénée
-Ecouvillons	thermique	Hinton	-Disque d'oxydase
-Seringues stériles	-Bain marie	- Gélose chromagr	-Réactif de kovacs
-Jarre d'anaérobiose	-Balance	-Bouillon cœur-	-Réactif de voges
-Portoire	-Densitomètre	cervelle	(VP1,VP2)
-Lame et lamelles			-Réactif de TDA
- Flacons stériles			-Diméthylsulfoxyde
- Gants stériles			(DMSO)
- Cellule de Malassez			-Disque des antibiotique
- Micro pipette			

Tableau VIII. Milieu de culture

Milieux de culture	Composition chimique (Pour 1 litre)	Intérêt d'utilisation
<b>Gélose Nutritive (GN)</b> 	-Peptone ..... 5 g -Extrait de viande .....1g -Extrait de levure.....2 g -Chlorure de sodium.....5g - Agar agar..... 15g -PH .....7.4	Milieu d'isolement non - sélectif (ordinaire) permet de d'isolement de toutes les bactéries non exigeant
<b>Gélose Muller Hinton</b> 	-Infusion de viande de bœuf.....300ml -Peptone de caséine..... 7,5g -Amidon de maïs.....1,5g -Agar.....10g -pH.....7,4	Utilise pour la réalisation des tests de sensibilité aux antibiotiques
<b>Milieu Hektoen</b> 	-Extrait de levure..... 3g -Protéase de peptone..... 12g -Lactose..... 12g -Saccharose..... 12g -Salicine..... .2g -Citrate ferrique .....1,5g -Fuschsine acide ..... 0,1g -Bleu de promothymol .....0,065g -Chlorure de sodium .....5g -Thiosulfate de sodium.....5g -Sels biliaires .....9g -Agar .....14g -Ph .....7.5	Milieu de culture sélectif utilisé pour l'isolement et la différenciation des bactéries entériques
<b>Milieu Chapman</b> 	-Peptone.....10g -Extrait de viande de bœuf.....1g -Chlorure de sodium.....75g -Mannitol.....10g -Rouge de phénol.....0.025g -Agar.....15g Ph.....7.5	Milieu sélectif permettant la croissance des germes halophiles. Utilisé en microbiologie pour l'isolement des staphylocoques, en particulier Staphylococcus aureus

<p><b>Gélose au sang frais et au sang cuit</b>          Constituée d'une base nutritive non sélective à laquelle a été ajoutée 5% de sang frais.          La gélose au sang cuit est préparée en chauffant le mélange dans un bain-marie, ce qui permet la lyse des globules rouges, apportant ainsi des facteurs de croissance au milieu.          Composition de la gélose de base :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Extrait de foie.....2,5 g</li> <li>- Extrait de levure.....5 g</li> <li>- Protéase peptone.....15 g</li> <li>- Chlorure de sodium.....5 g</li> <li>- Agar.....12 g</li> <li>- pH .....7,4 ± 0,2</li> </ul>	<p>Isolements des espèces qui ont des exigences de croissance plus complexes</p>
<p><b>Gélose chromagar</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Peptone.....8.0g</li> <li>-Chlorure de sodium.....5.0g</li> <li>-Désoxycholate de sodium.....1.0g</li> <li>-Mélange chromogénique.....1.5g</li> <li>-Polypropylène glycol.....10.5g</li> <li>-Agar.....15.0g</li> <li>-PH.....7,4 ± 0,2</li> </ul>	<p>Milieu d'orientation, non sélectif utilisée pour l'isolement et la différenciation          Des souche bactérienne</p>
<p><b>Gélose Baird-Parker</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Digestion pancréatique de caséine.....10.0g</li> <li>-Extrait de viande.....5.0g</li> <li>-Extrait de levure.....1.0g</li> <li>-Pyruvate de sodium.....10.0g</li> <li>-L-glycine.....12.0g</li> <li>-Chlorure de lithium.....5.0g</li> <li>-Agar.....20.0g</li> <li>-PH.....7.2 ± 0.2</li> </ul>	<p>Milieu sélectif pour le dénombrement de <i>Staphylococcus aureus</i></p>
<p><b>Bouillon cœur-cervelle (BHIB)</b></p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Extrait cœur-cervelle ..... 17,5 g</li> <li>- Peptone pancréatique de gélati..... 10,0 g</li> <li>- Chlorure de sodium..... 5,0 g</li> <li>- Phosphate disodique..... 2,5 g</li> <li>- Glucose ..... 2,0 g</li> </ul>	<p>Milieu d'enrichissement utilisée pour la culture d'un grand nombre de microorganismes,</p>

Tableau IX. Liste des antibiotique utilise

Famille	Abreviation	Antibiotique
Béta lactamines	AMC	Amoxicilline + acide clavulanique
	AMX (AX)	Amoxicilline
	KZ	Céfazoline
	IMP	Imipénème
	CTX	Céfotaxime
	TCC	Ticarcilline + acide clavulanique
	PRL	Pipéracilline
	AT	Aztréonam
	PIP	Pipéracilline
	CAZ	Ceftazidime
	P	Pénicilline G
Aminoside	FOX	Céfoxitine
	AK	Amikacine
	CN10 (GN)	Gentamicine
Quinolones	TOB	Tobramycine
	NA	Acide nalidixique
	CIP	Ciprofloxacine
Sulfamides	OFX	Ofloxacine
	SXT	Triméthopriime/sulfaméthoxazole
Macrolides	E	Erythromycine
Fosfomycine	F200	Fosfomycine
Nitrofuranes	F300	Nitrofuranes
Autre	FA	Acide fusidique

Tableau X. Lecteur de la Galerie miniaturisée API

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture	Résultat (-)	Résultat (+)
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	$\beta$ -galactosidase	Lecture directe	Incolore	Jaune
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe	Jaune	Rouge- orange
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe	Vert pale- jaune	Bleu
H2S	Thiosulfate de sodium	Production d'H2S	Lecture directe	Incolore	Dépôt noir
URE	Urée	Uréase	Lecture directe	Incolore Jaune	Rouge - orangé
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer	Incolore Jaune	Marron- rougeâtre
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs	Incolore	Rose
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' $\alpha$ -naphthol	Incolore	Rose
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe	Non diffusion	Diffusion du pigment noir
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe	Bleu - bleu- vert	Jaune