

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Saad Dahleb de Blida 1

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département de Biologie et Physiologie Cellulaire



Mémoire de fin d'études

En vue de l'Obtention du Diplôme de Master en Biologie

Option : Microbiologie

Thème

Etude du profil de résistance des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques et leur sensibilité vis à vis les huiles essentielles de *Nigella sativa* et de *Syzygium aromaticum*

Soutenu le 09-07-2020 par :

M^{lle} AIAD Nesrine

M^{lle} IMESSAOUDENE Ilhem

Devant le Jury composé de :

M^{me} BOKRETA S.

MAA/USDB1

Présidente

M^{me} MEKLAT A.

Pr./USDB1

Examinatrice

M^{me} BOUDJEMA N.

MCA/USDB1

Promotrice

2019/2020

Remerciements

Nous remercions Dieu tout puissant de nous avoir donné le courage et la patience pour réaliser ce modeste travail.

Nous tenons tout particulièrement à adresser nos plus vifs remerciements, à notre promotrice, Mme BOUJEMA N., d'avoir accepté de nous encadrer et de nous avoir laissé la liberté nécessaire à l'accomplissement de notre travail, tout en y gardant un œil critique et avisé. Merci pour sa rigueur scientifique, ses conseils ainsi que sa sympathie. Nous le remercions également de nous avoir responsabilisées tout au long de notre travail.

Je tiens à remercier chaleureusement Mme MEKLAT A., de nous avoir fait l'honneur d'examiner notre travail. Veuillez accepter l'expression de notre profond respect.

Je tiens à exprimer mes vifs remerciements à Mme BOKRETA S., pour avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons aussi à exprimer nos sincères remerciements et notre profonde gratitude à tous ceux qui ont contribué de loin ou de près pour la réalisation de ce travail, en particulier Mr TEFFAHI, pour leur gentillesse et leurs précieux conseils.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédie ce modeste travail à mes chers parents FERHAT et LOUIZA qui m'avez dirigé et suivi pendant toute mes années d'étude et surtout pour leurs sacrifices de tous les instants, leurs patience sans limite et l'éducation qu'ils mon donnée, je leurs dit merci mille fois.

Je ne pourrai jamais oublier d'exprimer ma profonde gratitude à:

A ma sœur TINHINENE et mon frère RAFIK

A mes grands-parents ; je les remercie pour leurs prières et leur tendresse.

Puisse Dieu leurs prête beaucoup de santé.

A ma tantes HANIFA et sa fille FAIZA .

A tout la famille IMESSAOUDENE.

A ma promotrice

A tous mes amis et camarades

A ma binôme ma chère NESRINE qui sans elle ce travail n'aurait pas fini, on a passé des moments agréables et des autres aussi incroyables mais dieu merci, notre amitié et notre amour était et sera au dessus de tout les obstacles, je t'aime NESRINE.

Et sans oublier tout les membres de Club Bibliophile.

ILHEM

Dédicaces

En ce moment particulier dans ma vie,

Je tiens à dédier ce modeste travail à :

Mon cher papa RACHID

Ecole de mon enfance, qui a été mon ombre durant toutes les années des études et à mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, et qui a veillé tout au long de ma vie à m'encourager, à me donner l'aide et à me protéger

Ma chère maman ZINEB

Qui m'a donné la vie, le symbole de tendresse, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, quoique je fasse, je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Soyez fière de moi aujourd'hui et voyez à travers ce travail mon amour sincère et ma Gratitude profonde que dieu vous garde et protège pour moi inshallah.

A mon cher frère :

« AMINE »

A mes chères sœurs :

« HANANE et MALEK »

A ma cousine :

« IHCEN »

A tout ma famille

A ma promotrice

A tous mes amis et camarades

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

Et à tous les membres du club bibliophiles

Nesrine

Résumé

La présente étude est réalisée sur 41 prélèvements provenant des patients hospitalisés des hôpitaux de Blida (l'hôpital Ibrahim Tirichine, CHU Frantz fanon, CHU Hassiba Benbouali) et non hospitalisés du laboratoire d'hygiène de Blida. Sur la totalité des prélèvements analysés, 65,85 % sont majoritaires des infections de pus.

Sur les 41 souches isolées et identifiées, nous avons enregistré une prédominance des bactéries à Gram négatifs avec une prévalence de 53,65% où *Escherichia coli* et *Klebsiella sp* occupent la première place avec un taux de 17,07%, contrairement aux bactéries à Gram positifs avec un taux de 46,43%. Les résultats bactériologiques ont montré que le service de diabétologie occupe la première place avec un taux de 58,54%.

10 souches ont été isolées et identifiées autant des BMR où *Staphylococcus aureus* résistant à la méticiline (SARM) est l'espèce la plus isolée avec un taux de 17,07% et 7,32% de type BLSE. L'étude de la sensibilité des souches aux huiles essentielles de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum* est plus active sur les bactéries à Gram positifs surtout *Staphylococcus aureus* que sur les bactéries à Gram négatifs.

Mots clé : *Nigella sativa*, *Syzygium aromaticum*, bactéries multirésistante, huile essentielle, SARM,BLSE.

Liste des figures

Figure 1 : Des pieds diabétiques infectés	4
Figure 2 : Mécanisme de résistance aux antibiotiques	9
Figure 3 : Résistance de <i>Staphylococcus aureus</i> aux β -lactamine	12
Figure 4 : Fleure de graine de <i>Nigella sativa</i>	16
Figure 5 : Giroflier en fleur(A), Les clou de girofle (B)	18
Figure 6 : Mécanisme d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne.....	21
Figure 7 : Ecouvillonnage d'une plaie.....	23
Figure 8 : Principale étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacille à Gram négatif	29
Figure 9 : Test de la céfoxitine Cx<22mm	32
Figure 10 : Test de synergie "bouchon de champagne"	33
Figure 11 : Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle	34
Figure 12 : Répartition des patients en fonction du sexe.....	36
Figure 13 : Répartition des patients selon les tranches d'âge	37
Figure 14 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge.....	38
Figure 15 : Répartition des patients selon le type d'infection	38
Figure 16 : Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation	39
Figure 17 : Répartition des patients selon le service d'hospitalisation	39
Figure 18 : Répartition des prélèvements positifs et négatifs	40
Figure 19 : Répartition des résultats selon espèce identifiées	41
Figure 20 : Différentes bactéries identifiées (A) : <i>Acinetobacter baumannii</i> , (B) <i>Proteus Mirabilis</i> (C) : <i>Klebsiella sp</i> , (D) <i>Staphylococcus aureus</i>	42
Figure 21 : Prévalence des SARM et BLSE dans les prélèvements du pus et des urines ..	43
Figure 22 : Test de céfoxitine positif sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méthicilline	44
Figure 23 : Test de synergie « bouchon de champagne » chez <i>Serratia odorifera</i>	44

Liste des tableaux

Tableau I : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques	14
Tableau II : Infection nosocomiale à BMR et principaux site de portage	15
Tableau III : Délai de transport et de conservation des prélèvements	24
Tableau IV : Echantillonnage des différentes infections étudiées	24
Tableau V : Bactéries suspectées selon l'aspect de pus	25
Tableau VI : Tests d'identification biochimiques des souches	28
Tableau VII : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de <i>syzygium aromaticum</i>	45
Tableau VIII : Evaluation de l'activité antibactérienne de <i>Nigella sativa</i> sur les bactéries à Gram positif et négatif	46

AAF : Aérobic Anaérobic Facultatif

ABMR : *Acinitobacter baumannii* multirésistant

ADH : Arginine Dihydrolase

AMC : Amoxicilline+Acide Clavulanique

AS : Aérobic Stricte

ATM : Aztréonam

BGN : Bacilles à Gram négatif

BGT : Bouillon glucosé tamponné

CAZ : Ceftazidime

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CIT : Citrate

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

CTX : Cefotaxime

CX: Céfoxitine

EBLSE : Entérobactéries de bêta-lactamases à Spectre Etendu

HE : Huile Essentielle

HTA : Hypertension artérielle

IDP : Infection du Pied Diabétique

IGB : Infections Génitales Basses

IGH : Infection Génitales Hautes

McF : McFarland

PAMR : *Pseudomonas aeruginosa* Multirésistant

PLP : Protéines Liant les Pénicillines

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

TCC : Ticarcilline+Acide Clavulanique

TDA : Tryptophane Désaminase

VP : Voges-Proskauer

Résumé

Introduction	1
---------------------------	----------

Chapitre I : Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les infections	3
I.1. Différents types d'infections	3
I.1.1. Infection urinaire	3
I.1.2. Infection du pied diabétique	3
I.1.3. Infection génitale de la femme	4
II. Généralité sur les antibiotiques et l'antibiorésistance	5
II.1. Antibiotiques	5
II.1.1. Mode d'action des antibiotiques	5
II.2. Antibiorésistance	5
1. Type de résistance	6
1.1. Résistance naturelle	6
1.2. Résistance acquise	6
a) Résistance par mutation chromosomique	6
b) Résistance extra chromosomique	7
2. Mécanisme de résistance	7
2.1. Réduction d'accumulation d'antibiotique	7
a) Réduction de la perméabilité cellulaire	7
b) Pompes à efflux	7
2.2. Destruction ou l'inactivation par des enzymes	7
2.3. Défaut de cible de l'antibiotique	8
a) Protection de la cible de l'antibiotique	8
b) Modification de la cible de l'antibiotique	8
c) Altération de la cible de l'antibiotique	8
III. Généralité sur les bactéries multi-résistantes	9
III.1. Types des bactéries multi-résistantes	10
III.1.1. Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	10
a) Mécanismes de résistance aux antibiotiques	10
b) Bêta-lactamines et son mécanisme d'action	10
c) Bêta-lactamases à spectre étendu	11
III.1.2. <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la Méricilline (SARM)	11

III.1.3. <i>Acinetobacter baumannii</i> multirésistant (ABMR)	11
III.1.4. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> multirésistant (PAMR).....	13
IV. Facteurs contribuant à la résistance	13
V. Infection nosocomiale à BMR et principaux site de portage	14
VI. Généralité sur les huiles essentielles	15
VI.1. Graine de nigelle (<i>Nigella sativa</i>)	16
VI.1.1. Systématique	17
VI.1.2. Utilisation.....	17
a) Usage thérapeutique	17
b) Usage culinaire.....	17
c) Usage cosmétique.....	18
VI.2. Clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>)	18
VI.2.1. Systématique	19
VI.2.2 .Utilisation.....	19
a)Usage thérapeutique	19
b) Usage culinaire	20
c)Usage en agriculture	20
VI.3. Mode d'action des huiles essentielle.....	20

Chapitre II : Matériel et Méthodes

I. Objectifs de l'étude	22
II. Matériel	22
1.1. Matériel biologique	22
1.2. Matériel non biologiques.....	22
III. Méthodes	23
1. Recueilles des prélèvements	23
1.1.Prélèvement urinaire	23
1.2. Prélèvement du pus	23
1.3. Transport et conservation	24
1.4. Echantillonnage	24
2. Examen cytobactériologique	24
2.1.Etude cytologique	24
2.2.Etude bactériologique	25
2.2.1. Examen macroscopique	25

2.2.2. Examen microscopique	25
a) Etat frais	26
b) Etat fixé.....	26
3. Isolement des bactéries.....	26
4. Identification des bactéries.....	27
4.1. Coloration de Gram	27
4.2. Tests biochimiques	28
4.2.1. Tests d'orientation	28
4.2.2. Galerie Api20 ^E	29
5. Antibiogramme	31
5.1. Préparation de l'inoculum	31
5.2. Ensemencement.....	31
5.3. Disposition des disques d'antibiotiques	31
6. Recherche des BMR.....	32
6.1. Test de la céfoxitine	32
6.2. Test de synergie.....	32
6.3. Test de synergie chez <i>Acinetobacter baumannii</i>	33
7. Conservation des souches.....	33
8. Extraction des huiles essentielles	34
8.1. Extraction par hydrodistillation.....	34
9. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles (Aromatogramme)	35
9.1. Technique de diffusion en milieu solide (la méthode de Vincent)	35

Chapitre III : Résultat et discussion

I. Répartition des résultants selon les facteurs étudiés	36
I.1. Selon le sexe	36
I.2. Selon les tranches d'âge.....	37
I.3. Selon l'âge et le sexe.....	37
I.4. Selon le type d'infection	38
I.5. Selon les patients hospitalisés/non hospitalisés	39
I.6. Selon le service d'hospitalisation.....	39
II. Résultat d'analyse bactériologique	40
II.1. Cas positifs et cas négatifs des prélèvements	40

II.2. Les bactéries identifiées à partir des prélèvements	41
II.3. Répartition des résultats selon le type de BMR.....	42
II.4. Résultats d'antibiorésistance	44
III. Etude de l'effet antibactérien de <i>Nigella sativa</i> et <i>Syzygium aromaticum</i>	45
Conclusion	48

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

La découverte des antibiotiques a longtemps fait croire que la bataille contre les infections d'origine bactérienne était gagnée. Malheureusement, le génie adaptatif des bactéries leur a permis de développer des résistances, favorisées par le mésusage des antibiotiques et les bactéries ont progressivement accumulé dans leur matériel génétique les gènes conduisant à la multi résistance (**Arsalane et al., 2010; Birgand et Lucet, 2013**). Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances (**Mazari, 2010**).

Parmi toutes les bactéries multi-résistantes (BMR), les *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) sont les plus préoccupants compte tenu de leur pouvoir pathogène, de leur diffusion au sein des hôpitaux et de leur potentiel de diffusion dans la communauté (**Arnaud et al., 2012**).

Le réseau algérien sur la résistance aux antimicrobiens rapporte pour l'année 2016 des taux de BMR par espèce ont montré que pratiquement une entérobactérie sur trois, soit 30,39% est productrice d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE), plus d'un *Staphylococcus aureus* sur trois soit 36,10 % est résistant à la méticilline (SARM), un *Acinetobacter spp* sur deux, est résistant à l'imipénème et 16.64 % des *Pseudomonas aeruginosa* sont résistants à l'imipénème (**Amhis, 2018**).

Des études récentes ont montré que les huiles essentielles et leurs constituants présentent un important potentiel en tant qu'agents antimicrobiens et dans plusieurs domaines industriels et médicaux. La diversité moléculaire des métabolites qu'elles contiennent, leur confère des rôles et des propriétés biologiques très variés, ainsi qu'une utilisation moins dommageable (**Amarti et al., 2008; Mazari et al., 2010 ; Goetz et Ghedira, 2012**). Pour la même raison, aucune résistance particulière vis-à-vis des huiles essentielles n'a été décrite et il est important de souligner que certaines d'entre elles constituent des alternatives efficaces ou des compléments aux antibiotiques sans montrer le même effet secondaire (**Amarti et al., 2010; Rosato et al., 2010**).

L'objectif assigné à notre travail consiste à isoler et identifier des bactéries multi-résistantes à partir des prélèvements de divers types d'infections provenant du laboratoire d'hygiène de Blida, et d'autres hôpitaux (CHU Frantz Fanon , CHU Hassiba BenBouali, hôpital Ibrahim Tirichine) et de déterminer leur profil d'antibiorésistance. A fin de lutter

contre les BMR nous avons évalué le pouvoir antibactérien de l'huile essentielle de la graine de nigelle *Nigella sativa* et l'huile essentielle des clous de girofle *Syzygium aromaticum* sur toute les souches des BMR identifiées.

Pour cela, nous avons divisé notre travail en suivant ces étapes:

- ✓ Prélèvement, isolement et identification de bactéries multi-résistantes de type SARM et BLSE.
- ✓ Etude d'antibiogramme des souches isolées.
- ✓ Extraction des huiles de graine de nigelle et des clous de girofle
- ✓ Mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles de graine de nigelle *Nigella sativa* et des clous de girofle *Syzygium aromaticum* sur les bactéries multi-résistantes de type SARM et BLSE.

Chapitre I :
Synthèse bibliographique

I. Généralité sur les infections

Les maladies infectieuses sont les maladies les plus fréquentes, plus de tiers des malades hospitalisés reçoivent au moins un antibiotique. On distingue les maladies bactériennes dues aux bactéries et les maladies virales dues aux virus. Les infections peuvent être également d'origine fongique ou parasitaire (**Gervais et Willoquet, 2017**).

I.1. Différents types d'infections

I.1.1. Infection urinaire

On parle d'une infection urinaire dans le cas de présence d'un germe pathogène dans l'urine en présence d'une symptomatologie compatible (**François et al., 2013**).

Cette infection recouvre des réalités cliniques diverses :

- La cystite aiguë non compliquée, urétrite, prostatite, épидидymite dont la localisation est au niveau des voies urinaires basses.
- Des situations à risque comme la pyélonéphrite ou pyélite dont la localisation est au niveau des voies urinaires hautes (**Gonthier, 2000**).

Ce sont les infections bactériennes les plus communes chez la femme: 50% des femmes souffraient d'au moins un épisode symptomatique au cours de leur vie et surviennent dans 20% des cas chez l'homme. (**François et al., 2013**). La pathologie infectieuse urinaire est fréquente aussi bien en milieu communautaire qu'hospitalier représente 150 millions de cas d'infections urinaires dans le monde.

Les germes les plus souvent responsables des infections urinaires sont :

- *Escherichia coli* est la bactérie prédominante dans l'infection urinaire (75-85% selon les études et les pays).
- D'autres entérobactéries *Klebsiella spp.* et *Proteus spp.* qui comptent pour environ 4% chacune (**Lahlou et al., 2009**).

I.1.2. Infection du pied diabétique

Le pied diabétique est défini par l'ensemble des anomalies cliniques du pied chez une personne diabétique qui sont la conséquence du développement de complications chroniques du diabète constituées de la triade neuropathie, artériopathie et infection (figure 1) (**Martini et Senneville, 2018**).

L'infection du pied diabétique (IPD) se définit par l'invasion et la multiplication de micro-organismes entraînant une réponse inflammatoire allant jusqu'à la destruction des tissus atteints (Nicodème et al., 2015). L'infection du pied diabétique atteint la peau et le tissu sous-cutané et structures plus profondes (Martini et Senneville, 2018).

Selon les études de Zanella et al. (2016), les micro-organismes responsables des IPD sont quasi-exclusivement des bactéries.

- Les infections communautaires légères sont surtout causées par des *Staphylococcus aureus* et par des streptocoques β -hémolytiques (souvent du groupe B).
- Les infections modérées à sévères et les infections de plaies traumatiques sont souvent causées par *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 1: Pieds diabétiques infectés

I.1.3. Infection génitale de la femme

Les infections génitales féminines sont nombreuses et variées. Elles sont causées par des micro-organismes exogènes sexuellement transmissibles mais aussi par des germes issus de la flore vaginale commensale qui prolifèrent anormalement (Acker, 2008).

On distingue :

- Les infections génitales basses (IGB) qui affectent le vagin, l'exocol et la vulve ;
- Les infections génitales hautes (IGH) qui concernent l'endocol utérin, l'endomètre et les trompes utérines (Acker, 2008).

Selon **Elmoghazli (2018)**, les bactéries responsables d'infections génitales sont :

- Transmises sexuellement : exp *Neisseria gonorrhoeae*.
- Issus de la flore vaginale commensale : Entérobactéries, Streptocoques et Mycoplasmes.

II. Généralité sur les antibiotiques et l'antibiorésistance

II.1. Antibiotiques

Le terme antibiotique utilisé pour la première fois en 1889, en référence à une substance synthétisée par un organisme pour en détruire un autre, se précisera plus tard, comme une substance antimicrobienne d'origine biologique, c'est à dire produite par des micro-organismes ou de synthèse chimique et qui est capable d'inhiber la multiplication ou de détruire d'autres micro-organismes (**Yala et al., 2001 ; Muylaert et Mainil, 2012**).

II.2.1. Mode d'action des antibiotiques

Un antibiotique agit du fait de son affinité pour une cible vitale pour la bactérie. Sa fixation spécifique inhibe le fonctionnement de cette cible qui est en général une enzyme ou structure clé (**Guillemot et Leclercq, 2005**).

Selon les travaux de **Lavigne et al. (2012)**, **Mehdi (2008)** ainsi que de **Fosseprez (2013)**, ont déterminé les principales cibles des antibiotiques comme suit:

- La synthèse du peptidoglycane (β -lactamines, Glycopeptides, Fosfomycine) ;
- La structure de la membrane externe et cytoplasmique (Polymyxines) ;
- La synthèse des protéines (Macrolides, Aminosides, Phénicoles, Tétracyclines) ;
- La synthèse des acides nucléiques (Quinolones, Rifamycines, Nitroimidazolés) ;
- Métabolisme intermédiaire par inactivation d'enzymes (Sulfamides, Triméthoprime).

II.2. Antibiorésistance

La résistance est la capacité d'une bactérie à résister aux effets des antibiotiques. Ce terme est aussi ancien que l'apparition des antibiotiques.

Selon l'organisation mondiale de la santé, le comité d'experts avait donné deux définitions bactériologiques de la résistance (**OMS, 1961**):

- Un germe est dit résistant quand la concentration d'antibiotique qu'il est capable de supporter est notablement plus élevée que la concentration qu'il est possible d'atteindre in vivo.

- Une souche microbienne ou une bactérie sont aussi dites résistantes quand elles supportent une concentration d'antibiotique notablement plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce ou des individus de la même culture (**Guillot, 1989**).

1. Type de résistance

On cite deux types de résistance bactérienne:

1.1. Résistance naturelle

La résistance naturelle ou résistance intrinsèque c'est une insensibilité aux antibiotiques, existant naturellement chez tous les membres d'un germe ou d'une espèce bactérienne. Elle fait, donc, partie du patrimoine génétique chromosomique (**Yala et al., 2001**). Ce type de résistance programmé par le génome bactérien est caractérisé par la stabilité et la transmission à la descendance.

1.2. Résistance acquise

La résistance acquise a été observée dès le début de l'antibiothérapie mais sa fréquence était initialement faible (**Lozniewski et Rabaud, 2010**). Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible par l'acquisition de nouveaux gènes, ce qui implique des changements génétiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation spontanée au niveau du chromosome qui est un phénomène rare, soit par l'acquisition horizontale de matériel génétique étranger (**Yala et al., 2001 ; Sylvie, 2009 ; Muylaert et Mainil, 2012**).

a) Résistance par mutation chromosomique

La résistance est généralement due à une mutation au niveau de l'ADN qui affecte spécifiquement le mécanisme d'action d'un antibiotique ou d'une famille d'antibiotiques. Cette résistance est caractérisée :

- Par une faible fréquence d'apparition : taux de mutation de l'ordre de 10^{-6} à 10^{-9} .
- Par sa spontanéité : elle apparaît en l'absence de l'antibiotique, qui n'est qu'un agent sélecteur des bactéries mutées.
- Par sa stabilité et son aspect héréditaire : lors de la division bactérienne, l'ADN muté est répliqué et transmis aux bactéries fille.

- Par sa Spécificité: elles n'intéressent qu'une famille d'antibiotiques ou un seul antibiotique à la fois (**Guillot, 1989**).

b) Résistance extrachromosomique

Il s'agit de la résistance par un gain d'un fragment d'ADN extra-chromosomique porteur d'un ou plusieurs gènes de résistance. Ce mode d'acquisition de résistance peut se faire selon trois mécanismes différents dont la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN par la bactérie) et la conjugaison (transfert de plasmide d'une bactérie à une autre qui peut être d'espèce différente) (**Baudry et Brézellec, 2006**).

2. Mécanisme de résistance

Le mécanisme de résistance se résume par : réduction d'accumulation d'antibiotique, destruction ou l'inactivation par des enzymes et défaut de cible de l'antibiotique.

2.1. Réduction d'accumulation d'antibiotique

Cette réduction se manifeste par deux manières : la réduction de la perméabilité cellulaire, ou par pompes à efflux.

a) Réduction de la perméabilité cellulaire

C'est une mutation affectant la structure des porines ou diminuant la synthèse des porines en empêchant les antibiotiques tel que la pénicilline G, les macrolides et les glycopeptides de pénétrer dans la bactérie (figure 2) (**Faure, 2009; Lozniewski et al., 2010**).

b) Pompes à efflux

Le système d'efflux est un système général de détoxification des bactéries. Il est destiné à évacuer les substances «jugées toxiques» par la cellule comme les antibiotiques (**Webber et Piddock, 2003; Nikaido, 2009**). Une surexpression par mutation de transporteurs, entraînant une résistance bactérienne (figure 2) (**Yamashita et al., 2000 ; Pitout et al., 2004 ; Mandell et al., 2009**).

2.2. Destruction ou l'inactivation par des enzymes

Ce sont des réactions biochimiques catalysées par des enzymes bactériennes en modifiant l'antibiotique par (figure2) :

- Clivage de noyau actif de l'antibiotique, les β -lactamases qui hydrolysent le cycle β -lactame.
- L'addition d'un groupement chimique empêchant la fixation de l'antimicrobien sur sa cible par hydroxylation, acétylation, phosphorylation, nucléotidylation, estérification (Pool, 2004 ; Fisher et al., 2005 ; Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

2.3. Défaut de cible de l'antibiotique

Un autre mécanisme de résistance peut se faire par un défaut de cible de l'antibiotique soit par la protection, la modification ou par l'altération de cible de l'antibiotique.

a) Protection de la cible de l'antibiotique

Cette protection peut être au niveau ribosomale par la production des protéines cytoplasmiques liant l'antibiotique ou bien par la production de protéines dont la structure tertiaire ressemble à celle de l'ADN ou enfin par la production d'une paroi épaisse où abondent des résidus D-Ala-D-Ala (Kaźmierczak et al., 2014 ; Redgrave et al., 2014).

b) Modification de la cible de l'antibiotique

Les protéines liant les Pénicillines (PLP) sont des enzymes qui catalysent l'étape finale de la biosynthèse du peptidoglycane, ils sont modifiés par (figure 2):

- Diminution de l'affinité des PLP pour les β -lactamines.
- Hyper-expression de PLP possédant naturellement une faible affinité pour les β lactamines.
- Synthèse de nouvelles PLP insensibles aux β -lactamines tel que la PLP2a (Lozniewski et al., 2010).

c) Altération de la cible de l'antibiotique

Dans ce cas, il peut avoir une altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase, de la liaison de complexe enzyme-cible ou des sites de liaison ribosomaux (Carle, 2009).

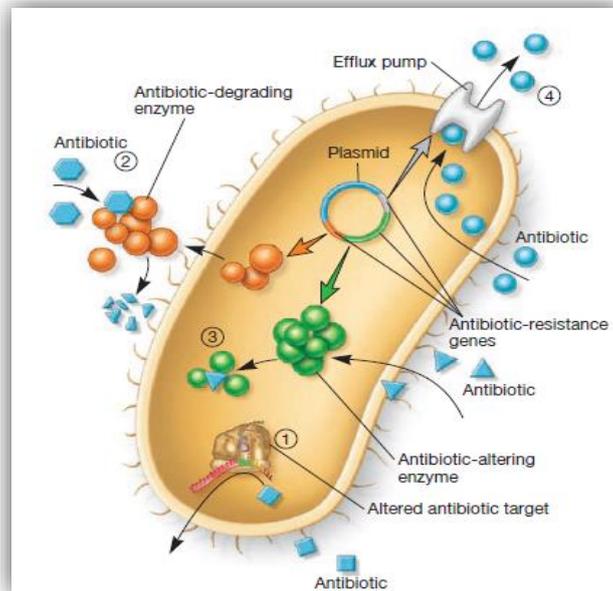


Figure 2 : Mécanismes de résistance aux antibiotiques (Willey et al., 2008)

Les bactéries peuvent résister à l'action des antibiotiques, (1) en empêchant l'accès (ou la modification) à la cible de l'antibiotique, (2) la dégradation de l'antibiotique, (3) la modification de l'antibiotique et / ou (4) l'extrusion rapide de l'antibiotique.

III. Généralité sur les bactéries multi-résistantes

Les bactéries sont dites multi-résistantes (BMR) lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique (Sylvie, 2009 ; Brissot et al., 2019).

Selon European Center for Disease prevention and Control (ECDC, 2011), les bactéries multirésistantes de type BMR se définissent comme résistantes à au moins trois familles différentes d'antibiotiques.

En Raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion hors de l'hôpital, de leur caractère clonal ou du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués, les principaux BMR qui font l'objet du programme national : Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi et *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (Jarlier , 2007).

Enfin, certaines bactéries appartenant à d'autres espèces peuvent être considérées comme des BMR : *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

III.1. Type des bactéries multi-résistantes

III.1.1 Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre élargi (BLSE)

Parmi les germes responsables d'infections bactériennes, les entérobactéries sont les plus redoutables car elles sont productrices de β -lactamases et possèdent d'autres mécanismes de résistance à de nombreux antibiotiques (Denis et al., 2011 ; Ebongue et al., 2015).

La famille des Enterobacteriaceae comprend de nombreux genres bactériens répondant à plusieurs caractéristiques : bacilles à Gram négatif (BGN), ils sont mobiles par ciliature péritriche ou immobiles, poussent sur milieux de culture ordinaires, fermentent le glucose, leur nitrate réductase est positive, oxydase négative et possèdent une catalase à l'exception de *Shigella dysenteriae*.

Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia*.

a) Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Selon Robin et al. (2012), les entérobactéries (BLSE) utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux antibiotiques : il peut s'agir de troubles de perméabilité pour les antibiotiques ; de systèmes d'efflux; ou de modification de la cible bactérienne de l'antibiotique. Mais la plus fréquente, est la résistance enzymatique par la production des β -lactamases.

b) Bêta-lactamines et son mécanisme d'action

Les β -lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique, toutes caractérisées par la présence d'un cycle β -lactame indispensable à l'activité antibiotique (Cattoir, 2008). Le noyau β -lactame est sensible aux enzymes bactériennes appelées β -lactamases qui sont produites par certaines bactéries résistantes, d'où l'intérêt en thérapeutique d'utiliser des inhibiteurs de β -lactamases (acide clavulanique, sulbactam, tazobactam) pour améliorer l'activité de certaines β -lactamines sensibles aux β -lactamases (Buxeraud et Faure, 2016).

Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : elles bloquent la synthèse du peptidoglycane (ou mucopeptide, ou muréine), qui est le polymère majeur spécifique de la paroi des bactéries. Ce blocage intervient par inhibition de certaines enzymes responsables de la transpeptidation, étape essentielle de la synthèse du peptidoglycane. Ces enzymes, collectivement appelées PLP, sont insérées dans la partie externe de la membrane cytoplasmique bactérienne. Pour être actives, les β -lactamines vont devoir atteindre leur cible en pénétrant dans la paroi bactérienne et se fixer sur les PLP (Cavallo et al., 2014).

c) Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

Les β -lactamases sont la principale cause de résistance bactérienne aux pénicillines, aux céphalosporines et aux composés β -lactamines apparentés. Ces enzymes inactivent les antibiotiques en hydrolysant la liaison amide du cycle β -lactame (Matagne et al., 1998). Elles sont inhibées partiellement par les inhibiteurs de β -lactamase (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam), et portées par des plasmides conjugatifs, donc transférables (Matagne et al., 1998 ; Doit et al., 2010 ; Anastay et al., 2013).

Une BLSE hydrolyse tous les antibiotiques de type β -lactames à l'exception des carbapénèmes, c'est-à-dire qu'elle rend inefficaces les pénicillines, les céphalosporines et les monobactames (Bellini et Troillet, 2016).

III.1.2. *Staphylococcus aureus* résistant à la Méricilline (SARM)

Staphylococcus aureus résistant à la méricilline est une bactérie apparue en 1960 dans un hôpital en Grande Bretagne, faisant partie de notre flore, on la trouve naturellement sur notre peau. Si le Staphylocoque pénètre dans le corps (exemple : par une plaie), il peut par contre causer des pneumonies, infections post-opératoires et infections urinaires (Loeb et Mulvey, 2005 ; Dumitrescu et al., 2010 ; Battraud, 2017).

Un SARM possède plusieurs caractéristiques: Gram positif, capable d'oxyder le mannitol, une activité catalase et coagulase, la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'oxacilline doit être supérieure ou égale à 4 mg/L (Neu, 1992 ; Simor et al., 2005).

Selon les travaux de **Mainardi et al. (1996)** ; **Nour et al. (2005)**; **Hemaiswarya et al. (2008)**; **Tattevin (2011)**, la résistance aux β -lactamines chez les staphylocoques repose sur deux grands types de mécanismes (figure 3) :

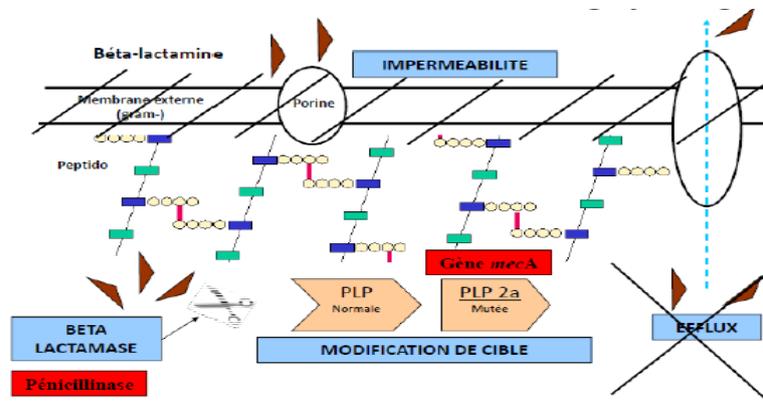


Figure 3 : Résistance de *Staphylococcus aureus* aux β -lactamine (**Mainardi, 2015**)

- La production de β -lactamase qui est une enzyme codée par le gène blaZ porté par un plasmide. Cette enzyme hydrolyse la pénicilline G et ses analogues de structure
- La synthèse d'une protéine de liaison à la pénicilline, la PLP2a, qui entraîne une résistance à l'ensemble des β -lactamines. La PLP2a est codée par le gène mecA, porté sur un élément génétique appelé chromosome cassettes staphylococcique mec (SCC mec).

III.1.3. *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABMR)

Acinetobacter baumannii est l'espèce la plus fréquente et la plus résistante du genre *Acinetobacter* impliquée en clinique et est responsable de près de 10 % des infections nosocomiales. Elle est présente dans l'environnement (eaux et sol), et chez l'homme, au niveau de la peau, des muqueuses et du tube digestif. Ces bacilles à Gram négatif sont des agents d'infections nosocomiales, sporadiques ou épidémiques (**Guillot et Bergogne, 2006**).

Selon **Gordon et Wareham (2010)** ; **Denis et al. (2011)**, *Acinetobacter baumannii* possède des mécanismes de résistance vis-à-vis des antibiotiques majeurs :

- Production d'une céphalosporinase à large spectre de type AmpC.
- Production d'une oxacillinase de type OXA-51 capables d'hydrolyser les pénicillines et les carbapénèmes.

- La surexpression des pompes d'efflux AdeIJK ,AdeFGK dont la pompe d'efflux AdeABCfréquemment observée chez les souches cliniques, qui affecte l'activité des aminosides, des quinolones, des tétracyclines et de certaines β -lactamines.
- Des enzymes modifiant les aminosides (des acétyltransférases, des nucléotidyltransférases et des phosphotransférases) trouvées souvent en association. Ceux-ci peuvent être localisés sur des plasmides, des transposons ou en association avec des intégrons.
- *A.baumannii* a relativement peu de porines par rapport à d'autres bactéries à Gram négatif, ce qui peut expliquer une partie de sa résistance antimicrobienne intrinsèque.
- D'autres mécanismes de résistance comprennent la régulation à la baisse des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) (résistance aux β -lactamines), des mutations de l'ADN gyrase et de la topoisomérase IV (résistance aux fluoroquinolones).

III.1.4. *Pseudomonas aeruginosa* multirésistant (PAMR)

Pseudomonas aeruginosa est un pathogène nosocomial majeur, en particulier chez les patients atteints de mucoviscidose et dans les services de réanimation (**Barbier et Wolff, 2010**). Les souches de PAMR sont définies par la résistance aux classes d'antibiotiques anti-pseudomonas (β -lactamine, Aminosides et Fluoroquinolones), cumulent constamment plusieurs mécanismes de résistance par l'activation de ses mécanismes intrinsèques, soit par l'acquisition de matériel génétique étranger (plasmides, transposons) (**Barbier et Wolff, 2010 ; Jeannot et Guillard, 2019**).

Selon les études réalisées par **Hocquet (2003) ; Jeannot et Plésiat(2005) ; Barbier et Wolff (2010) ; Lastours et Fantin (2010)**, les mécanismes de résistance sont comme suit :

- Système d'efflux Mex : l'hyperexpression des pompes dénommés MexAB-OprM , MexXY-OprM (résistance aux β -lactamine et aminoside).
- L'imperméabilité : la perte de la porine D2 de la membrane externe (résistance aux β -lactamine).
- Modification du site d'action : mutations des topoisomérases II (gyrA) et IV (parC) (La résistance aux fluoroquinolones).
- Inactivation enzymatique de l'antibiotique : surproduction de la β -lactamaseAmpC, production de APH (3')-IIb (résistance aux β -lactamines, aminosides).

IV. Facteurs contribuant à la résistance

Bien que l'apparition de la résistance à un antibiotique soit un phénomène biologique naturel, un bon nombre de facteurs liés non seulement à amplification de processus mais aussi à la diffusion de cette résistance. Ces facteurs peuvent être liés à des déficiences dans le système médical (personnels, infrastructures), à l'usage inapproprié des antibiotiques, à l'utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire (**Ouedraogo et al., 2017**).

Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentés dans le tableau ci-dessous.

Tableau I. Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques (**Rybak, 2004 ; Murthy, 2011**)

Facteur	Exemples (liste non exhaustive)
Emergence de la résistance	<ul style="list-style-type: none">- Usage abusif d'antibiotiques.- Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés.- Manque de fidélité au traitement.- Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique.- Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne.- Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement.
Propagation des souches résistantes	<ul style="list-style-type: none">- Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux.- Non-respect des directives de lutte contre les infections.- Promiscuité des patients hospitalisés.- Réduction du personnel infirmier et de soutien.- Déplacement accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire).- Voyages internationaux.
Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire	<ul style="list-style-type: none">- Animaux destinés à la consommation.- Agriculture et aquaculture.
Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants	<ul style="list-style-type: none">- Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc.

V. Infection nosocomiale à BMR et principaux site de portage

Selon le comité des ministres du Conseil de l'Europe (1984), l'infection hospitalière est toute maladie contractée à l'hôpital, due à des micro-organismes, cliniquement ou microbiologiquement reconnaissables

Certaines affections prédisposent au développement des infections nosocomiales, en particulier à bactéries multirésistantes, et ce à cause de la détérioration des défenses de l'hôte et sont considérés comme des facteurs de risque indépendants. Parmi ces affections, on cite, le diabète, l'insuffisance rénale, l'alcoolisme, l'immunodéficience, les pathologies abdominales, les pathologies génito-urinaires, ou les pathologies respiratoires chroniques, la gestation, la malnutrition sévère, les pathologies néoplasiques évolutives et les dysfonctions du système nerveux central (Zegmout, 2008).

Les infections nosocomiales causées par les BMR et les principaux sites de portage sont présentés dans le tableau II.

Tableau II. Infection nosocomiale à BMR et principaux site de portage (Zegmout, 2008 ; Lepelletier et Marty, 2015).

BMR	Infection nosocomiale	Site de portage
BLSE	<ul style="list-style-type: none">- Urinaire- Bactériémies- Site opératoire	<ul style="list-style-type: none">- Tube digestive
SARM	<ul style="list-style-type: none">- Cutanée- Site opératoire- Voie urinaire- Voie respiratoire- Bactériémie	<ul style="list-style-type: none">- Nez- Peau
PAMR	<ul style="list-style-type: none">- Pneumopathies- Bactériémie- Plaie chirurgicale	<ul style="list-style-type: none">- Oropharynx- Tube digestive
ABMR	<ul style="list-style-type: none">- Bactériémies- Les pneumonies acquises sous ventilation assistée	<ul style="list-style-type: none">- Oropharynx- Peau- Tube digestive

VI. Généralité sur l'huile essentielle

Le terme « huile » s'explique par la propriété que présentent ces composés de se solubiliser dans les graisses et par leur caractère hydrophobe. Le terme « essentielle » fait référence au parfum, à l'odeur plus ou moins forte dégagée par la plante (**Bruneton, 1993**).

Les huiles essentielles (HE) sont des substances odorantes et volatiles, non grasses, extraites d'un végétal sous forme liquide par hydrodistillation ou par pression mécanique (**Kalemba, 2003 ; Couic-Marinier et Lobstein, 2013**).

Ces huiles sont élaborées par des glandes sécrétrices qui se trouvent sur presque toutes les parties de la plante (feuilles, graines, fleurs, racines, fruits, etc.). Elles sont sécrétées au sein du cytoplasme de certaines cellules où elles se rassemblent sous formes de petites gouttelettes comme la plupart des substances lipophiles dont l'action bénéfique sur la santé est étudiée et mise en pratique par l'aromathérapie (**Burt, 2004 ; Gonzalez-Trujano et al., 2007 ; Laurent, 2017**).

VI.1. Graine de nigelle (*Nigella Sativa*)

Nigella sativa L. dérive du mot latin « Nigellus » qui signifie noirâtre est un petit arbuste appartenant à la famille des Renonculacées, à feuilles vertes effilées, fleurs rosacées blanches et des graines de couleur noir foncé ; au broyage elles dégagent une odeur aromatique (figure 4) (**Wichle, 2003 ; Ghedira, 2006 ; Tahan et Bayram, 2011**).

En Europe centrale, à l'ouest de l'Asie et certain pays d'arabe, *Nigella sativa* L. est cultivée dont l'Inde est le plus grand producteur (figure 4). Par ailleurs la plante est très peu exigeante et pousse sur des terrains argileux ou sablonneux, dans des endroits chauds et peu humides (**Alami, 1989 ; Ghedira, 2006 ; Charles, 2014**).

Elle est communément connue sous le nom de Cumin noir en Français, Black seed en Anglais, El habbatsauda dans les pays arabes (**Beloued, 1998**).



Figure 4 : Fleure et graine de *Nigella sativa*

VI.1.1. Systématique

Selon **Guignard (2001)**, la systématique de *Nigella sativa* est comme suit :

Règne : végétal

Embranchement : Spermaphytes

Sous- Embranchement : Angiospermes

Classe : Dicotylédones

Ordre : Renonculales

Famille : Renonculaceae

Genre : *Nigella*

Espèce : *Nigella sativa* L.

VI.1.2. Utilisations

a) Usage thérapeutique

Cette plante est utilisée traditionnellement depuis des millénaires à des fins médicinales, son grand spectre d'application médicale est argumenté par hadith du **Prophète Mohammed** (salut et miséricorde de Dieu soit sur lui) : « El habbahsauda est un médicament pour toutes les maladies sauf la mort » (**Ali et Blunden, 2003 ; Meziti, 2009**).

Au cours de ces dernières décennies, les graines de *Nigellasativa* ont fait l'objet de nombreuses études qui ont établi leur grande capacité thérapeutique en tant que source de substances douées d'activités biologiques très diversifiées telles que : l'activité antibactérienne, antioxydante, anti-tumorale, anti-inflammatoires, antimutagène, hépato protecteurs (**Aljabre et al., 2005 ; Ghedira et al., 2010 ; Talbi et al., 2015**).

b) Usage culinaire

Ses teneurs en vitamines B, minéraux, lipides et par la qualité de ses protéines, la graine de Nigelle constitue une excellente source complémentaire de nutriments essentiels (**Orsi-Llinares, 2005**).

Elle est toujours employée comme condiment et aromate dans différents plats, par exemple son usage dans les sauces ou pour aromatiser des légumes en Inde, rentrent dans la composition d'un mélange d'épices très populaire pour parfumer les plats de viandes. On le nomme PanchPhoron (**Orsi-Llinares, 2005**). En Algérie, les graines de nigelle sont utilisées beaucoup plus dans la boulangerie.

c. Usage cosmétique

Selon **Karrandou (2016)**, *Nigella sativa L.* convient aux peaux sèches, irritées ou crevassées et utilise en cas de chute de cheveux. L'huile de *Nigelle sativa* peut aussi être incorporée à des produits cosmétiques comme le savon ou la crème à la nigelle dont le savon a des propriétés réparatrices, nourrissantes, hydratantes et apaisantes, cependant la crème conçue pour le traitement des problèmes de peau (adoucit la peau, élimine les points noirs et les boutons).

VI.2. Clou de girofle (*Syzygium aromaticum*)

Syzygium aromaticum ou les boutons floraux séchés de l'arbre tropical *Eugenia caryophyllata* qui est un grand arbre appartenant à la famille des Myrtaceae, à des feuilles vertes rougeâtres, des fleurs hermaphrodites, des fruites appelés « antholfe ». Avant l'épanouissement, les boutons floraux sont nommés clous de girofle; c'est à cette époque qu'on les récolte (Figure 5) (**Diego et al., 2013 ; Ghedira et al., 2010**).

Son origine se situe dans la partie sud des Philippines et des îles Moluques, en Indonésie. Aujourd'hui, cet arbre est cultivé dans de nombreux pays tropicaux tels que Madagascar, Malaisie, îles d'Afrique de l'Est (Zanzibar, Pemba), Ceylan et Amérique du sud (**Ghedira et al., 2010 ; Lobstein et al., 2017**).

Il est communément connu sous le nom de « Clou de girofle » en Français, « Clove » en Anglais, « Qaranful » dans les pays arabes (figure 5).



Figure 5 : Giroflier en fleur (A), Les clous de girofle (B).

Comme beaucoup d'espèces, le giroflier a porté plusieurs noms scientifiques avant d'être nommé *Syzygium aromaticum*.

Actuellement, les noms *Syzygium aromaticum* et *Eugenia caryophyllus* sont tous les deux employés (**Ghedira et al., 2010**)

VI .2.1. Systématique

Règne : Plantae

Sous-règne : Tracheobionta

Embranchement : Magnoliophyta

Sous-embranchement : Magnoliophytina

Classe:Magnoliopsida

Ordre : Myrtales

Famille : Myrtaceae

Genre : *Syzygium*

Espèce : *Syzygium aromaticum* (**Ghedira et al., 2010**)

VI.2.2. Utilisation

a) Usage thérapeutique

L'utilisation de l'HE de Clou de girofle est rapprochée de celle des clous seuls et de son principal constituant, l'eugénol. La forte teneur en eugénol dans la composition d'huile essentielle de clou de girofle, le permet de posséder des propriétés bactéricides et antioxydants (**Diego et al., 2013 ; Lobstein et al., 2017**).

Traditionnellement, les clous de girofle étaient utilisés pour le traitement des maux de dents, de la bouche, de la gorge, de l'inflammation de la muqueuse buccale et de la mauvaise haleine (**Vahinala, 2009**).

Par voie orale, il traite les problèmes digestifs et les infections urinaires. En usage externe, il lutte contre le rhume et les myalgies (douleurs musculaires) aussi efficaces en cas d'acné, d'ulcères cutanés et de plaies. Il serait même aphrodisiaque donc il rejoint le rang des aliments mythiques de la stimulation sexuelle (**Lobstein et al., 2017**).

b) Usage culinaire

Les clous de girofle entiers, mais aussi en poudre, servent à aromatiser les conserves de légumes, le chou rouge ou la choucroute, les compotes de pommes et autres fruits (Georgetti et al., 2003).

c) Usage en agriculture

En agriculture, l'huile essentielle possède un effet herbicide et protecteur des cultures contre les insectes et les champignons. Peut également être utilisé comme insecticide, aux Moluques, ils l'ont piqué dans des oranges pour tuer moustiques et mites (Lobstein et al., 2017).

VI.3. Mode d'action des huiles essentielles

Les huiles essentielles ont un effet sur la croissance de bactéries telles que les pathogènes résistants aux antibiotiques (SARM, BLSE). Elles agissent en empêchant leur multiplication, leur sporulation et la synthèse de leurs toxines. Par ailleurs elles agissent aussi bien sur les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif (Burt, 2004 ; Laouar et Sifer, 2013).

Selon plusieurs auteurs Guinoiseau (2010) ; Laouar et Sifer (2013) ; Bouyahya et al. (2017), ont exprimé d'une manière générale, le mode d'action des huiles essentielles contre les bactéries comme suit (figure 6) :

- Attaquent la paroi bactérienne, ce qui provoque une augmentation de la perméabilité entraînent une fuite d'ions et de composés intracellulaires indispensables à la survie de la bactérie.
- Induisent la coagulation des constituants cellulaires par la dénaturation des protéines, ce qui bloque la production de l'énergie cellulaire et la synthèse des composants de structure.
- Destruction du matériel génétique.
- Agissent sur médiateurs du Quorum Sensing.

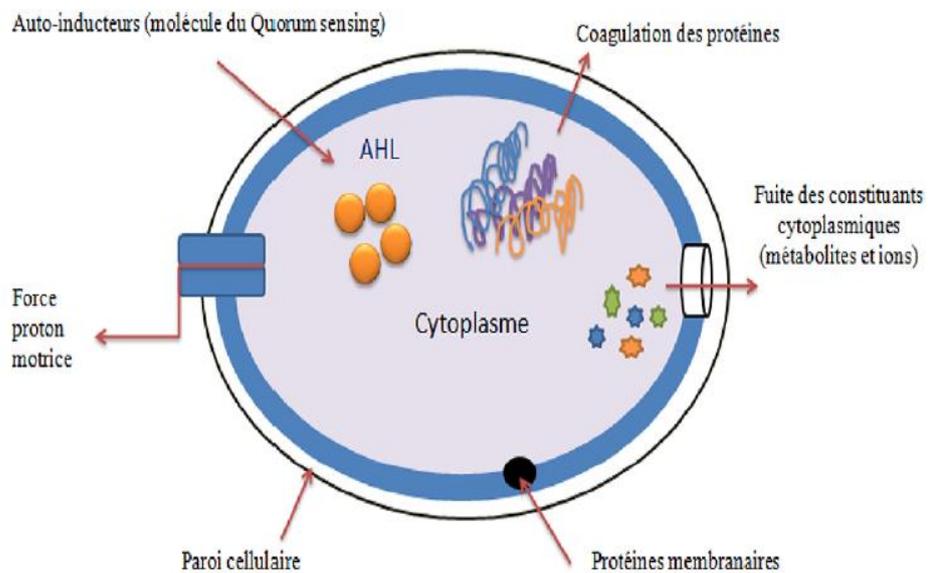


Figure 6 : Mécanismes d'action des huiles essentielles sur la cellule bactérienne (**Bouyahya et al., 2017**)

Chapitre II :

Matériel et Méthodes

I. Objectifs de l'étude

Cette présente étude a comme but d'isoler les BMR à partir de divers infections et d'évaluer leur sensibilité vis-à-vis deux huiles essentielles de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum*.

Notre travail est réalisé au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida durant une période de 2 mois allant de 9 février 2020 jusqu'au 19 mars 2020. Nos prélèvements sont réalisés au sein de CHU (Unité Frantz Fanon service de chirurgie générale, Unité Hassiba Ben Bouali service gynécologie) et l'hôpital Brahim Trichine service de diabétologie.

Pour cela nous avons structuré notre travail en étapes suivantes :

- ✓ Prélèvement, isolement et identification de bactéries.
- ✓ Etude d'antibiogramme des multi-résistantes de type SARM et BLSE.
- ✓ Extraction des huiles essentielles de *Nigella sativa* et de *Syzygium aromaticum*.
- ✓ Mise en évidence de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum* sur les bactéries multi-résistantes de type SARM et BLSE.

II. Matériel

1.1. Matériels biologiques

- ✓ Prélèvement biologique : urines, pus.
- ✓ L'huile essentielle de *Nigella sativa*.
- ✓ L'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

1.2. Matériels non biologiques

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

III. Méthodes

1. Recueilles des prélèvements

Lors de la réalisation des prélèvements, il est indispensable de rédiger une fiche de renseignement clinique. Cette fiche comporte les renseignements suivants : nom, prénom, âge, sexe, traitement en cours, le type et la date de prélèvement. Nos prélèvements sont issus à partir de plusieurs infections (urinaire, vaginale, pied diabétique et plaie chirurgicale).

1.1. Prélèvement urinaire

La méthode habituellement recommandée consiste à récupérer l'urine de manière aseptique, après un lavage hygiénique des mains et une toilette des organes génitaux externes. Il est préférable de recueillir l'urine du matin afin d'obtenir des urines ayant séjourné suffisamment longtemps (au moins 3 à 4 heures) dans la vessie. Après évacuation du premier jet contaminé par la flore commensale, au moins 20 à 30 ml sont recueillis dans un tube stérile, le tube est fermé hermétiquement et acheminé le plus tôt possible au laboratoire (Janvier *et al.*, 2008).

1.2. Prélèvement du pus

Nous avons effectué les prélèvements de pus par la méthode d'écouvillonnage comme suit :

- Rincer abondamment la plaie avec sérum salé : NaCl 0.6% (et non une solution antiseptique)
- Appliquer une pression suffisante à l'aide d'une compresse stérile pendant 5 secondes, pour extraire de l'exsudat de la plaie.
- Prélever le pus en tournant le bout du coton-tige sur lui-même, avec une rotation de 360° et en couvrant seulement une surface de 1 cm², réintroduire le coton-tige dans l'écouvillon et fermer le capuchon (figure 7) (Buttery, 2009).

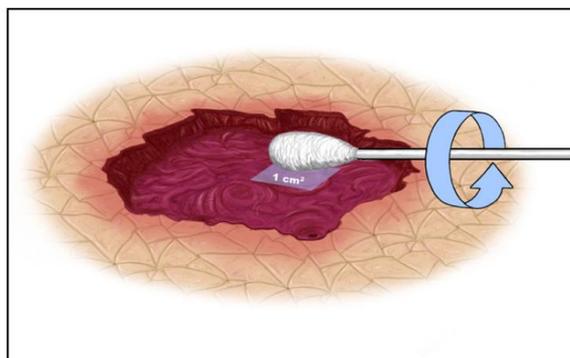


Figure 7: Ecouvillonnage d'une plaie (Buttery, 2009).

1.3. Transport et conservation

Tous les échantillons réalisés sont transportés au laboratoire d'hygiène de Blida dans un temps moins de deux heures et sont conservés à 4°C selon le tableau III.

Tableau III : Délai de transport et de conservation des prélèvements

Echantillon	Transport	Conservation
Urine	≤ 2h à température ambiante	≤ 24h à 4C°
Pus	≤ 2h à température ambiante dans un bouillon nutritif d'enrichissement BGT	≤ 24h à 4C°

1.4. Echantillonnage

Au cours de notre étude, nous avons effectué 41 prélèvements appartenant aux différentes infections et établissements (laboratoire/hôpital) selon le tableau IV.

Tableau IV : Echantillonnage des différentes infections étudiées

Type de prélèvement	Effectif	Service
Urine	14	Laboratoire d'hygiène
Pus de pied diabétique	25	Service de diabétologie
Pus vaginale	1	Service gynécologie
Pus de plaie	1	Service chirurgie générale
Total	41	

2. Examen cyto bactériologique

2.1. Etude cytologique

L'examen cytologique consiste à étudier et dénombrer au microscope les différents types de cellules (hématies ou globules rouges, leucocytes ou globules blancs et cellules épithéliales) retrouvées dans le prélèvement.

2.2. Etude bactériologique

Examen bactériologique consiste à rechercher, identifier et dénombrer les germes présents dans les différents prélèvements après leur mise en culture. Il doit être précédé par un examen macroscopique et microscopique.

2.2.1. Examen macroscopique

✓ Des urines

L'urine normale a une couleur claire, d'aspect jaune citron tandis que l'urine infectée est souvent limpide et trouble, de couleur jaune pâle ou jaune foncé et d'une mauvaise odeur. Parfois, nous notons même l'existence d'une hématurie (**Berthélémy, 2016**).

✓ De Pus

Dans les échantillons de pus, nous avons noté l'aspect de pus : la couleur, la consistance et l'odeur. L'aspect du pus peut donner des indications sur la bactérie suspectée (**tableau V**).

Tableau V : Les bactéries suspectées selon l'aspect de pus (**Asbar et Telitel, 2018**).

Aspect du pus	Bactéries suspectées
Blanc crémeux épais et bien lié	Staphylocoque
Claire et mal lié	Streptocoque
Liquide trouble ou louche, brun ou sanguinolent, d'odeur fétide	Bactéries anaérobies
Bleuté avec odeur de plâtre	Bacille pyocyanique

2.2.2. Examen Microscopique

L'observation microscopique permet de faire une étude morphologique des cellules d'une espèce bactérienne.

a) Etat frais

L'examen microscopique permet de mettre en évidence la présence éventuelle de bactérie, sa forme et le type de mobilité (Archambaud et Clave, 2008).

- Technique

Sur une lame propre nous avons étalé une goutte de suspension à l'aide d'une pipette pasteur stérile, en suite nous avons déposé délicatement la lamelle pour éviter la formation des bulles d'air puis nous avons passé à l'observation sous microscope optique à l'objectif GX40.

a) Etat fixé

Cette technique consiste à observer sous microscope un frottis à l'état fixé et après une coloration simple au bleu de méthylène (Archambaud et Clave, 2008).

- **Coloration simple au bleu de méthylène**

- Préparation de frottis

- Notez la référence de l'échantillon sur une lame parfaitement propre.
- Prélevez stérilement une goutte de culture bactérienne et la mélanger avec une goutte d'eau physiologique en étalant un film mince.
- Sécher à l'aire ambiante jusqu'à ce que le frottis présente un aspect mat puis, les éléments sont fixés par la flamme du bec Bunsen dont la lame tenue par une pince est passée 3 ou 4 fois dans la flamme.
- Laisser refroidir avant d'entreprendre une coloration.

- Coloration

- Recouvrir le frottis avec quelques gouttes de réactif de bleu de méthylène et laisser agir une minute.
- Laver le frottis à l'eau, égoutter et sécher entre deux feuilles de papier filtre.
- Observer à l'objectif GX100 à immersion.

3. Isolement des bactéries

Dans une zone stérile, nous avons ensemencé l'échantillon (urine, pus) sur le milieu de culture (Gélose nutritive, Hektoen, Chapman) par deux méthodes :

- Technique

- Ensemencé une goutte d'échantillon (urine) à l'aide d'une pipette pasteur en utilisant la méthode de quatre quadrants pour obtenir des colonies isolées. Cette méthode est réalisée en effectuant des stries serrées puis des stries éloignées.

- Nous avonsensemencé la moitié de la boîte de milieu de culture par l'écouvillon de prélèvement de pus enrichie en bouillon nutritif BGT, puis nous avons continué l'ensemencement à l'aide d'une pipette Pasteur stérile en utilisant la méthode de quatre quadrant en faisant des stries serrées puis des stries éloignées.
- Les boîtes ensemencées sont incubées par la suite à 37°C pendant 24h.

4. Identification des bactéries

Nous avons réalisé l'identification des bactéries par des tests biochimiques précédés par la coloration de Gram.

4.1. Colorations de Gram

Elle permet de reconnaître les bactéries présentes et leur caractère « Gram-positif » ou « Gram-négatif » selon qu'elles ont gardé la coloration violette ou non.

- Principe

Cette méthode de coloration repose sur une différence fondamentale entre la composition chimique des parois des bactéries à Gram positif et à Gram négatif. Les bactéries qui possèdent une enveloppe externe sont décolorées lors du lavage à l'alcool donc sont à Gram négatif, alors que celles qui n'en possèdent pas vont retenir le colorant sont à Gram positif (**Lanotte et al., 2010**)

- Technique

- Préparer le frottis, cette étape est détaillée précédemment ;
- Recouvrir le frottis d'une solution de violet de gentiane ; laisser agir une minute puis rincer à l'eau.
- Entraîner le violet par la solution de Lugol, recouvrir la lame de Lugol et laisser agir 1 minute puis laver à l'eau.
- Décolorer aussitôt par l'alcool; pour cela, verser l'alcool à la surface de la préparation et observer sa couleur en s'écoulant pendant 5 à 10 secondes , il est d'abord violet puis bleuté et enfin incolore.
- Laver rapidement à l'eau courante (eau distillée).
- Recouvrir la lame de solution de fuchsine et laisser agir 20 à 30 secondes.
- Laver et sécher entre deux feuilles de papier filtre (**Denis et al., 2011**).

- Lecture

L'observation ce fait au microscope optique grossissement x100 après immersion. La coloration des bactéries en rose est en faveur d'un Gram négatif, tandis qu'en violet elle oriente sur un Gram positif.

4.2. Tests biochimiques

4.2.1. Tests d'orientation

Les tests biochimiques effectués au cours de notre stage sont résumés dans le tableau suivant.

Tableau VI : Tests d'identification biochimiques des souches

Test	Principe	Technique	Résultat
Catalase	Cette enzyme est produite en abondance par les bactéries à métabolisme respiratoire (AS et AAF) qui peuvent catalyser les peroxydes. $H_2O_2 \rightarrow H_2O + 1/2O_2$	Mettre en contact une colonie avec le H_2O_2 sur une lame.	Le dégagement d'oxygène indique une catalase positive.
Coagulase	Enzyme capable de coaguler le plasma sanguin.	Après incubation d'une colonie avec 0,5ml BHIB. Ajouter 0,5 ml de plasma humain, incubé à 37 C° pendant 24 heures.	L'apparition d'un caillot observé en inclinant le tube à 90°C indique une coagulase positive.
Oxydase	Au cours de la respiration aérobie, l'accepteur final de la chaîne de transport d'électrons est une enzyme dite cytochrome oxydé, la mise en évidence de celle-ci ne peut se faire que si la bactérie à un cytochrome C.	Déposer une goutte du réactif N-tétraméthylparaphénylène diamine sur un bout de papier buvard puis étaler une colonie bactérienne sur la goutte.	Oxydase (+) : l'apparition d'une coloration bleu-violet.

Les principales étapes de l'identification des bactéries isolées à partir des échantillons effectués sont détaillées dans la figure suivante.

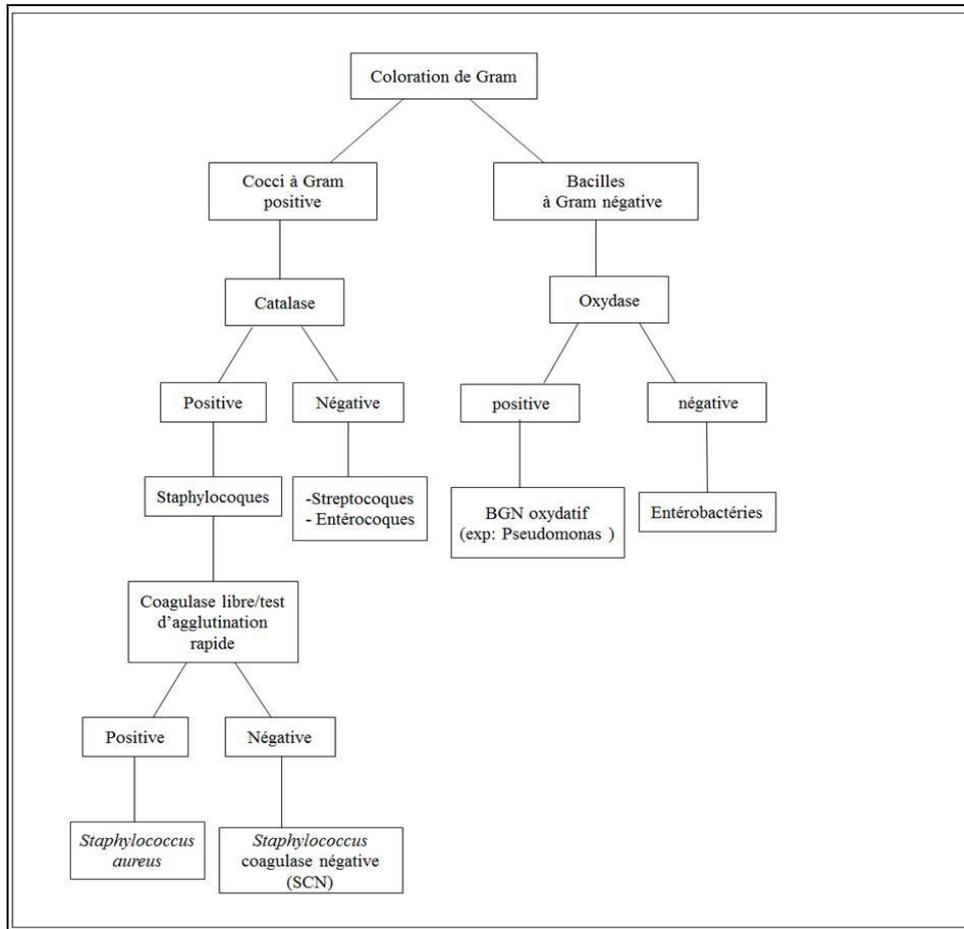


Figure 8 : Principales étapes d'identification des cocci à Gram positif et bacilles à Gram négatif.

4.2.2. Galerie Api20^E

- Principe

La galerie API 20^E comporte 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Les microtubes sont inoculés avec une suspension bactérienne qui reconstitue les tests. Les réactions produites pendant la période d'incubation se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs (Biomérieux, 2010).

- Technique

a) Préparation de la galerie

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

b) Préparation de l'inoculum

- Ouvrir une ampoule de Suspension Medium (ou un tube d'eau distillée stérile).
- Prélever une seule colonie bien isolée sur milieu gélosé.
- Réaliser une suspension bactérienne faible (opacité 0,5 sur l'échelle Mc Farland)

c) Inoculation de la galerie

- Remplir les tubules et les cupules des tests du type CIT.
- Remplir les tubules des tests du type ADH et remplir la cupule avec de l'huile de paraffine, pour créer l'anaérobiose.
- Remplir uniquement les tubules des tests restants.

Remarque : il est important de veiller à ne pas créer de bulles lors de l'inoculation qui pourraient fausser le résultat

d) Lecture

Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.

- Si 3 tests ou plus (test GLU + ou -) sont positifs, noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
- Test TDA : ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test IND : ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
- Test VP : ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.

e) Interprétation

Elle est réalisée à partir de la base de données à l'aide du Catalogue Analytique. Il faut rechercher le profil numérique dans la liste des profils ou bien à l'aide du logiciel d'identification en entrant manuellement le profil numérique à 7 chiffres.

5. Antibiogramme

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

5.1. Préparation de l'inoculum

Un inoculum de la suspension bactérienne a été préparé comme suit :

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur 2 à 3 colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF.

5.2. Ensemencement

L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum. Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et éliminer l'excès de liquide en tournant l'écouvillon sur les parois du tube (pour éviter une sur-inoculation des boîtes), puis écouvillonner sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions (CA-SFM, 2019).

5.3. Disposition des disques d'antibiotiques

Déposer les disques d'antibiotique (maximum six disques) à l'aide d'une pince stérile sur la surface de la gélose inoculée et séchée, le contact avec la surface doit être étroit, par la suite les boîtes sont incubées pendant 24 heures à 37°C (CA-SFM, 2019).

Après l'incubation la lecture se fait par mesure du diamètre de la zone d'inhibition obtenue autour des disques d'antibiotiques à l'aide d'une règle puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes CASFM. Il convient de noter toutefois, qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée "sensible, intermédiaire ou résistante".

6. Recherche des BMR

6.1. Teste de la céfoxitine

Le teste de la céfoxitine est un test permettant la confirmation de la présence des SARM.

- Technique

Ce test a été fait dans les conditions standards de l'antibiogramme et cela en déposant un disque de céfoxitine (CX 30 µg) au centre de la boîte suivi d'incubation à 37°C pendant 24h (Fernandes *et al.*, 2005).

- Lecture

Après l'incubation la méticillino-résistance est définie par un diamètre d'inhibition de la céfoxitine < 22 mm (figure9).



Figure 9 : Teste de la céfoxitine Cx < 22mm

6.2. Test de synergie

Le test de synergie est un test permettant de confirmer la présence de BLSE.

- Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque d'amoxicilline+acide clavulanique (AMC) (respectivement 20µg et 10µg) à 30mm centre à centre d'un disque de : ceftazidime (CAZ), cefotaxime (CTX) et aztréonam (ATM) de 30µg en raison de l'existence de différents phénotypes de résistance (cefotaximase ou ceftazidimase). Puis incubé 24h à 37°C.

- Lecture

Un test de synergie positif donne donc une image caractéristique, en « bouchon de Champagne » entre les disques AMC et CTX (figure10).

Un résultat positif est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique, et par conséquent l'augmentation de l'activité des céphalosporines de troisième et quatrième génération en présence d'acide clavulanique.



Figure 10: Teste de synergie "Bouchon de champagne"

6.3. Teste de synergie chez *Acinetobacter baumannii*

- Technique

La recherche de la BLSE se fait dans les conditions standards de l'antibiogramme en déposant un disque de ticarcilline+acide clavulanique (TCC 30 μ g) à 30mm centre à centre d'un disque de C3G :céftazidime (CAZ 30 μ g) . L'incubation se fait pendant 24h à 37C° (Kaboré *et al.*, 2016).

- Lecture

Après incubation, un test de synergie positif donne donc une image caractéristique, en «bouchon de Champagne» entre les disques : TCC et CAZ.

7. Conservation des souches

La conservation des souches a été réservée pour les souches identifiées comme SARM et BLSE afin de tester l'effet antibactérien de l'huile essentielle de *Nigella sativa* et de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum*.

Les souches sont conservées dans des milieux gélosés prêts à l'emploi en petits tubes de 3 ml.

8. Extraction des huiles essentielles (prévue)

Les épices *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum* utilisées dans ce travail se trouvent sur le marché tout au long de l'année, pour leur importance majeure et leur usage quotidien dans la cuisine Algérienne. Elles ont été obtenues sous forme séchée.

8.1. Extraction par hydrodistillation

L'extraction a été effectuée par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger selon la technique recommandée par la pharmacopée européenne (**European Pharmacopoeia, 2005**).

Selon **Bruneton (1999)**, l'hydrodistillation consiste à immerger directement le matériel végétale à traiter dans un alambic rempli d'eau qui est ensuite porté à l'ébullition, les vapeurs hétérogènes condensées sur une surface froide se transforme à l'état liquide, le mélange l'huile- eau se sépare par différence de densité. Cette méthode est généralement utilisée en cas des huiles essentielles dont les constituants chimiques sont thermorésistants (**Haekel et Omar, 1993**).

La matière végétale (200–400 g) est ajoutée à l'eau dans un ballon de 2 litre placé au dessus d'une source de chaleur. Le ballon est lié à une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargée de gouttelettes d'HE. Après l'extraction du maximum de l'huile essentielle, la partie huileuse flottante est récupérée puis conservée à 4 °C et à l'abri de la lumière (figure 11).

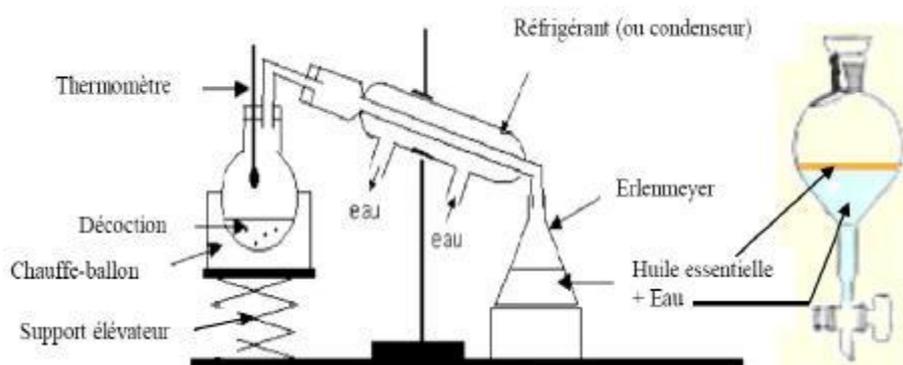


Figure 11: Appareillage utilisé pour l'hydrodistillation de l'huile essentielle (**Lagunez, 2006**).

- Calcul du rendement

Le calcul du rendement est défini comme étant le rapport entre la masse de la matière végétale et la masse de l'huile essentielle obtenue (**Belyagoubi, 2006**), selon la formule suivante :

$$\mathbf{R\ HE = MHE/Ms \times 100}$$

R: rendement en huile essentielle.

MHE : la masse d'huile essentielle.

Ms : la masse de la matière végétale en g.

9. Evaluation de l'activité antibactérienne des huiles essentielles (Aromatogramme)

9.1. Technique de diffusion en milieu solide (la méthode de Vincent)

- Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu de conservation approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur 2 à 3 colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger la pipette pasteur dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF.

- Technique

La méthode de diffusion par disques sur gélose a été utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne des huiles essentielles par la formation de zones d'inhibition (**Carson et Riley, 1995**). Des disques en papier filtre à 6 mm de diamètre sont imprégnés de 5 µl d'huile essentielle et déposés sur la surface gélosée pré-ensemencée par écouvillonnage (un disque par boîte) avec de la suspension microbienne standardisée. Les souches bactériennes sont ensemencées sur gélosé Muller Hinton et incubées à 37 °C pendant 24h.

La lecture des résultats se fait par la mesure, à l'aide d'une règle graduée, du diamètre de la zone d'inhibition formée autour du disque (**Gulluce et al., 2007**).

Chapitre III :

Résultats et discussions

I. Répartition des résultants selon les facteurs étudiés

Durant notre étude nous avons analysé les aspects épidémiologiques de diverses infections chez les 41 patients. Les paramètres étudiés sont : sexe, âge, sexe et âge, type d'infection, type de prélèvement, l'hospitalisation et le service d'hospitalisation.

I.1. Selon le sexe

Sur les 41 prélèvements effectués, nous avons noté une prédominance masculine avec une prévalence de 73,17%, alors qu'une fréquence de 26,83% représente les femmes (figure 12).

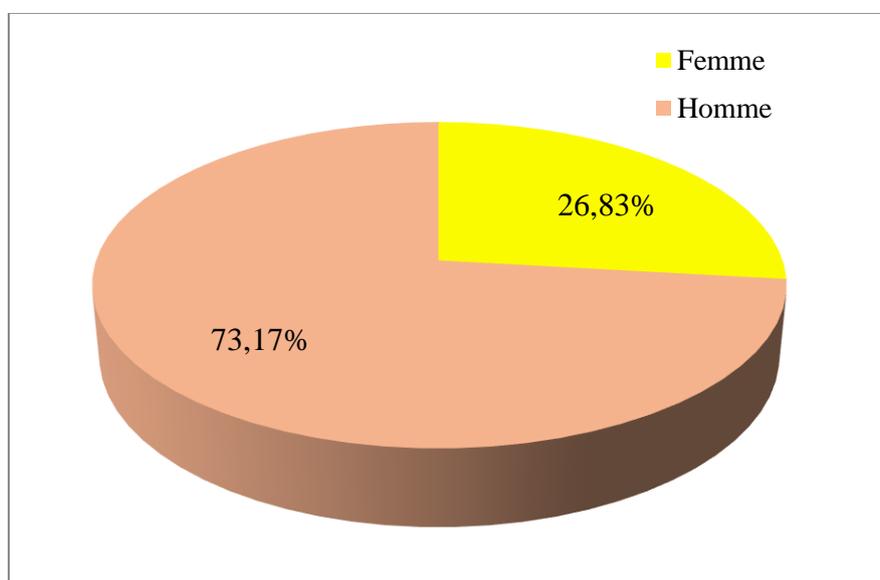


Figure 12: Répartition des patients en fonction du sexe

Au nombre de 41 prélèvements, 25 sont réalisés sur des hommes atteints de diabète de type II.

La prédominance masculine du pied diabétique peut être expliquée par la multiplicité des facteurs de risque chez l'homme dans notre pays par rapport à la femme, représentés essentiellement par le tabac. Le diabète chez l'adulte est souvent déclaré au stade de complications. Le diabète type 2 complique 70% du pied diabétique, c'est surtout par rapport à la durée d'évolution et le nombre de facteurs de risque (HTA, tabac) (Chabni et al., 2013).

I.2 Selon les tranches d'âge

A fin de déterminer la tranche d'âge la plus touchée par les infections, nous avons réparti les patients à tranches d'âge de 20 ans. D'après les résultats obtenus nous avons remarqué que les patients appartenant à la tranche d'âge 45 – 65 est la plus touchée par les infections avec une fréquence de 46,34 %. Suivi par la tranche d'âge 25–45 avec un taux de 36,59 %. Les patients de plus de 65 ans occupent la troisième position avec une prévalence de 17,07 % (figure 13).

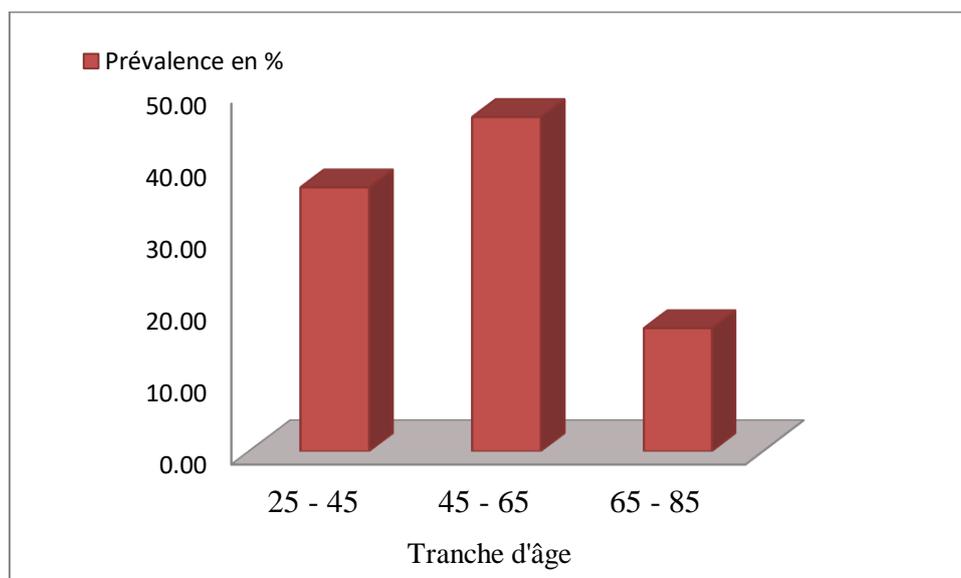


Figure 13: Répartition des patients selon les tranches d'âge

I.3 Selon le sexe et l'âge

Les résultats obtenus nous ont permis de démontrer que les femmes appartenant à la tranche d'âge de 25 – 45 représentent le taux de prélèvement le plus élevé avec une fréquence de 63,64 %. Alors que les hommes appartenant à tranche d'âge 45 – 65 affichent le taux de prélèvement le plus élevé avec une prévalence de 56,67 % (figure 14).

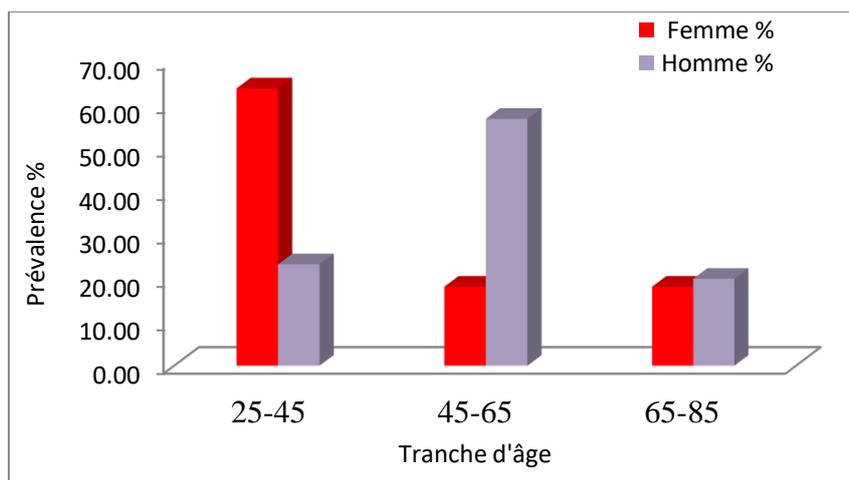


Figure 14 : Répartition des patients selon le sexe et l'âge

I.4. Selon le type d'infection

La figure suivante démontre la répartition des patients selon le type d'infection pour l'ensemble des échantillons analysés (figure 15). Sur les 41 patients étudiés, nous avons recueilli plus d'infection de type pied diabétique que d'autres avec une prévalence de 58,54%. Suivi par l'infection urinaire (36,59%). Peu de cas étudié sur l'infection vaginale et sur la plaie infectée. Ce qui représente 65,85% de prélèvements sont de pus et le reste urinaire.

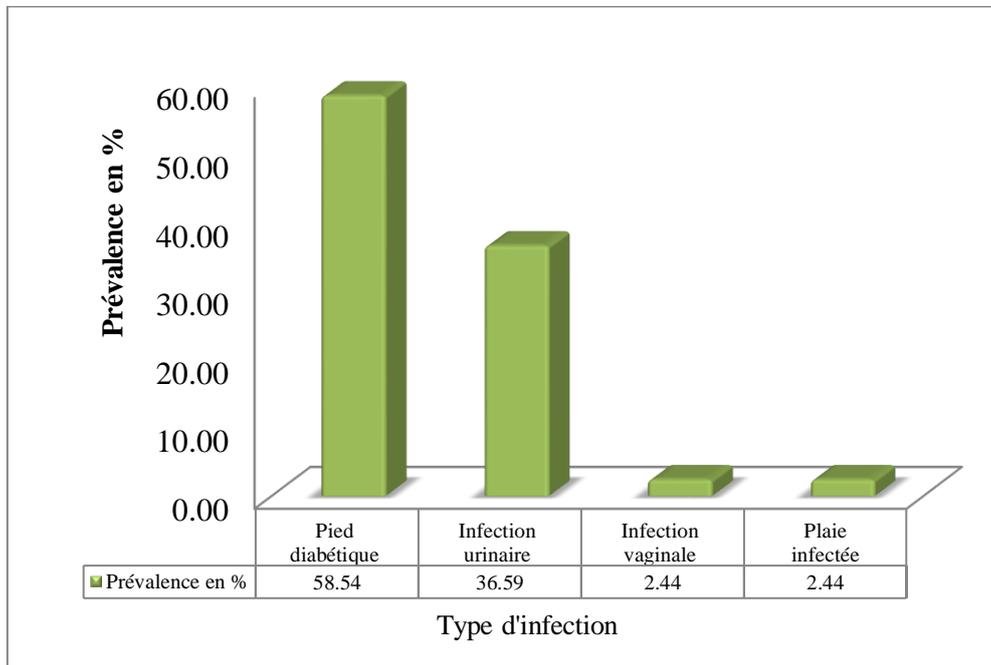


Figure 15 : Répartition des patients selon le type d'infection

I.5. Selon les patients hospitalisés/non hospitalisés

Parmi les 41 prélèvements de pus effectués, 25 prélèvements ont été réalisés sur des patients hospitalisés avec une fréquence de 60,98%, les 16 restants sont des patients non hospitalisés avec un taux de 39,02% (figure 16).

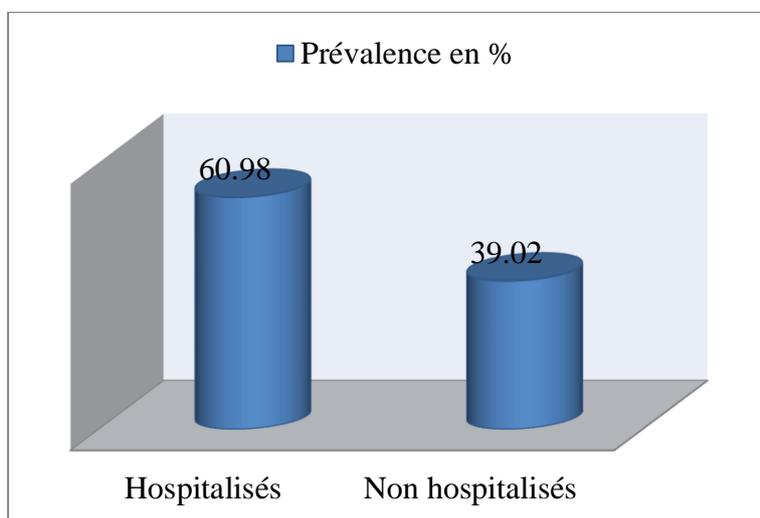


Figure 16 : Répartition des patients selon hospitalisation ou non hospitalisation

I.6. Selon le service d'hospitalisation

L'étude de répartition des patients selon le service d'hospitalisation montre que les plus grands pourcentages concernent le service de diabétologie (58,54%) et le laboratoire d'hygiène (36,59%) (Figure 17).

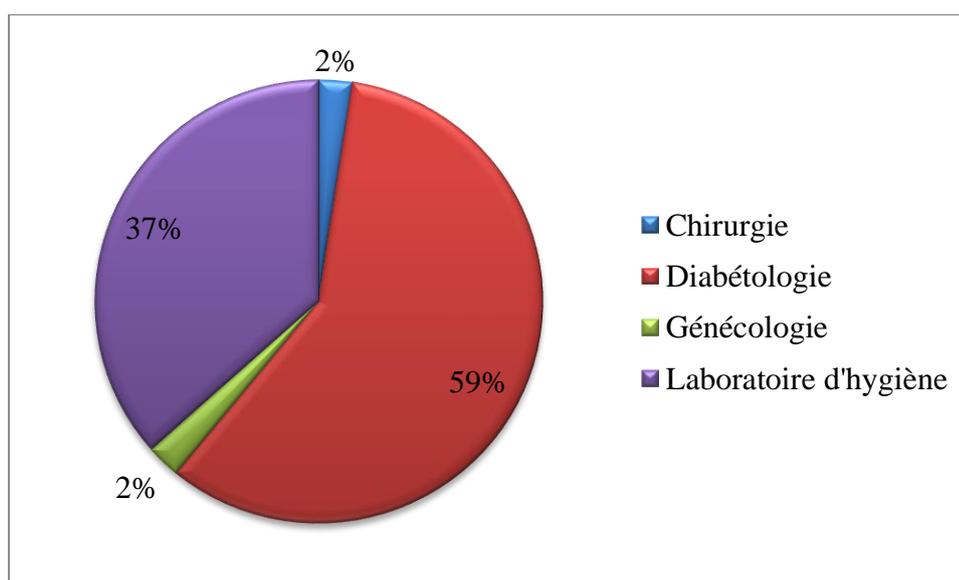


Figure 17 : Répartition des patients selon le service d'hospitalisation

II. Résultats de l'analyse bactériobiologique

II.1. Cas positif et négatif des prélèvements

✓ Pus

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que sur les 27 prélèvements de pus effectués (pied diabétique, plaie chirurgicale, vaginale), 9 se sont révélés positifs avec un taux de 33,33 %. Tandis que 18 prélèvements sont révélés négatifs avec une prévalence de 66,67 % (figure 18).

✓ Urine

La figure 18, montre que sur les 14 prélèvements des urines effectués, 1 est révélé positif avec un taux de 7,14 %, et le reste des prélèvements sont révélés négatifs avec une prévalence de 92,86 %.

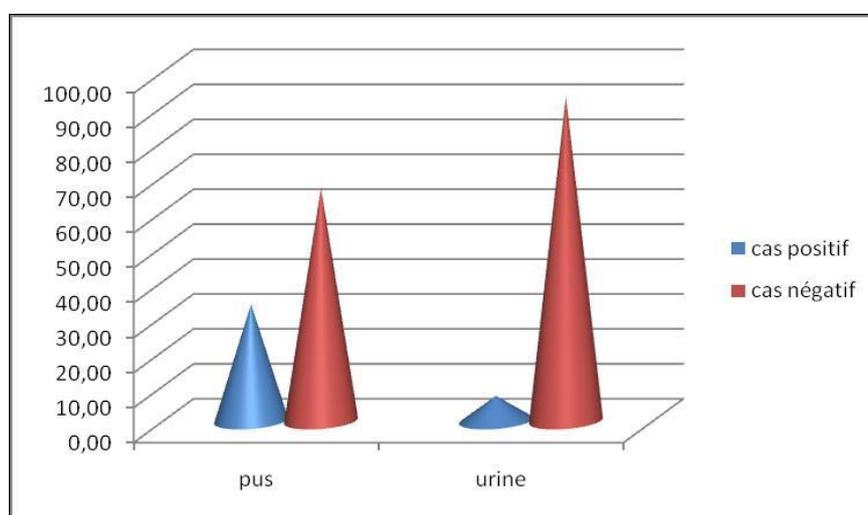


Figure 18: Répartition des prélèvements positifs et négatifs

Donc au total, parmi les 41 prélèvements nous avons 24,39% des cas positifs et 75,61% des cas négatifs.

Dans notre étude la prévalence de pus positif est 33,33 %. Selon **Hartemann-Heurtier et Senneville (2008)**, les prélèvements de plaies sont quasiment toujours positifs. Concernant nos cas qui restent négatifs 66,67 %, ceci est du probablement à la prescription des traitements qui font augmenter dans plusieurs cas le taux des cultures négatives.

Concernant le taux de cas positif trouvé dans les urines 7,14%, ce résultat n'est pas équivalent à celui obtenu au sein du laboratoire d'hygiène par **Lacheheb et Bendagha (2016)** qui ont enregistré un taux de 13,68%.

II.2. Bactéries identifiées à partir des prélèvements

Sur les 41 souches identifiées nous avons remarqué que les *Staphylococcus aureus* occupent la première position avec une fréquence de 26,83%, suivi par les *Staphylococcus épidermidis* avec 19,51% et les *Escherichia coli* et les *klebsiella sp.* avec un taux de 17,07 %. Nous avons identifié *Proteus sp.* avec un pourcentage de 14.63%, le taux le plus faible est celui de *Serratia odorifera* et *Acinitobacter baumannii* avec 2,44% (figures 19, 20).

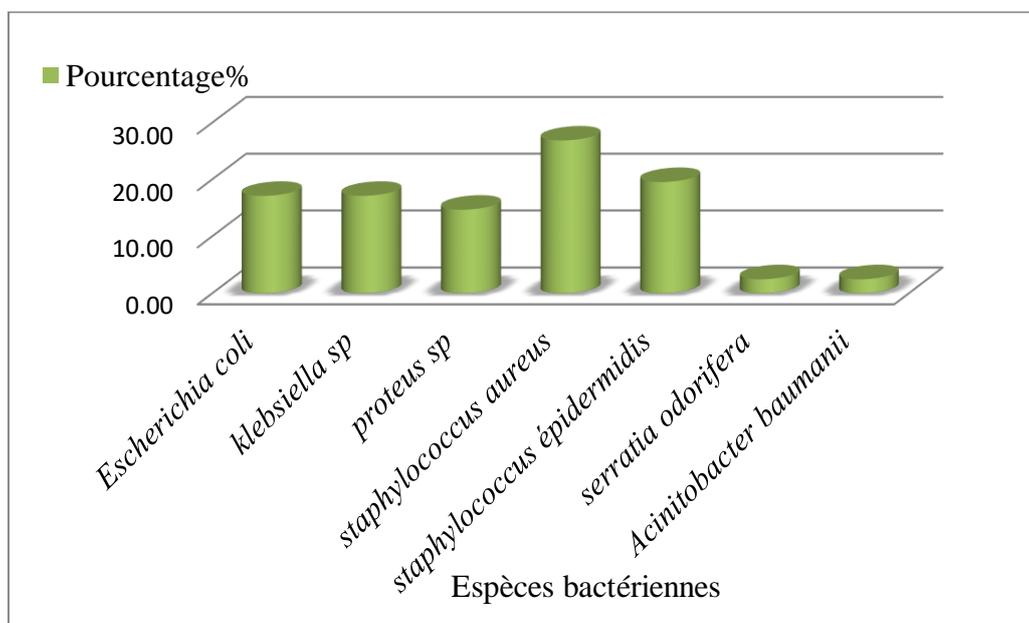


Figure 19 : Répartition des résultats selon les espèces identifiées

Pour les prélèvements de pus, il y a une prédominance de *S. aureus* avec un taux de 37.03 %. En parallèle, **Touati (2013)** a montré que *Staphylococcus aureus* est parmi les germes les plus impliqués dans les infections des plaies.

Sur les 14 prélèvements urinaire, nous avons identifié 13 souches d'entérobactéries où *E. coli* représente 17,07 %, les autres espèces sont faiblement représentées. Selon **Guyène (2003)**, les principaux germes impliqués dans les infections urinaires sont les entérobactéries avec un taux de 90 à 95% des cas dont *E. coli* 70 à 80% des cas.

La figure 20 présente quelques espèces bactériennes identifiées au cours de notre étude. La majorité sont isolées à partir du pus des pieds diabétique.

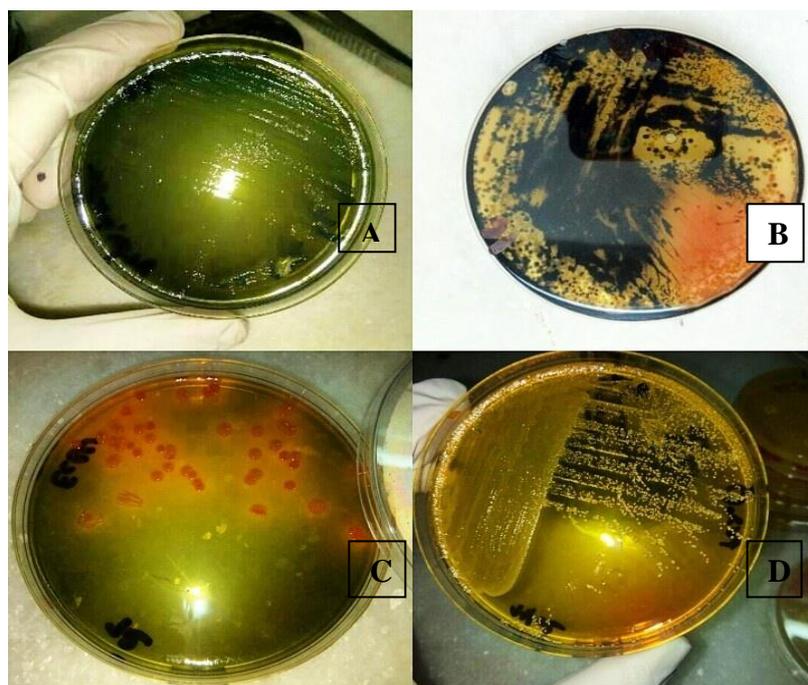


Figure 20 : Différentes bactéries identifiées (A) : *Acinetobacter baumannii* ;(B) : *Proteus mirabilis* ; (C) : *Klebsiella sp* ; (D) : *Staphylococcus aureus*.

II.3. Répartition des résultats selon le type de BMR

Les résultats obtenus au cours de notre étude montrent que sur les 27 prélèvements de pus effectués, 6 cas sont révélés des bactéries multi-résistances de type SARM en occupant la première position avec un taux 22,22% et 3 cas se sont révélés des bactéries multi-résistances de type BLSE avec un taux de 11,11% (figure 21).

Concernant les 14 prélèvements des urines effectués, 1 seul prélèvement est révélé SARM avec un taux de 7,14% (figure 21). Dans cette présente étude, nous avons constaté que le nombre de cas trouvé de type SARM est plus répondu par rapport au BLSE.

Donc sur les 10 prélèvements positifs, nous avons noté 70% de SARM et 30% de type BLSE.

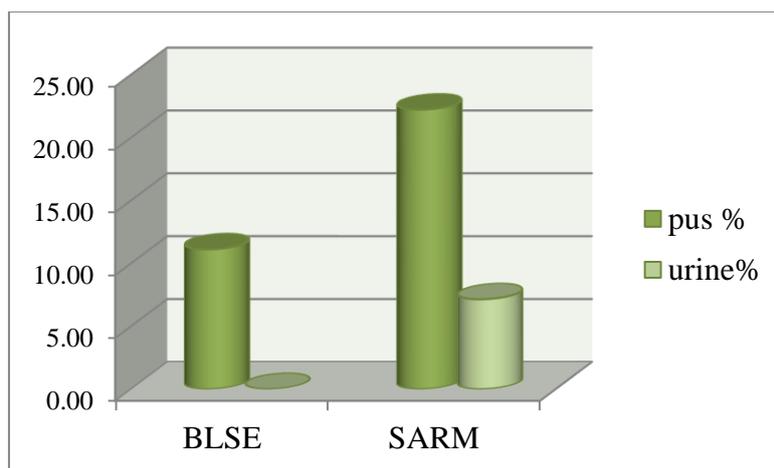


Figure 21 : Prévalence des SARM et BLSE dans les prélèvements du pus et des urines

L'émergence de BMR pose un problème inquiétant qui expose les patients à des échecs de traitements par manque d'antibiotiques efficaces avec mise en jeu du pronostic vital. Selon **Basseray et al. (2000)** deux facteurs favorisent l'émergence et la dissémination de la multi-résistance : la pression de sélection exercée par les antibiotiques et une fois la résistance acquise, la diffusion de ces bactéries par transmission croisée.

Le taux des BMR que nous avons isolé à partir de prélèvement de pus 33,33% est proche de celui rapporté par une étude effectuée à l'hôpital universitaire de Marrakech par **Arsalane (2010)**, qui a montré que parmi les sites infectieux à BMR, nous trouvons les suppurations avec un taux de 21%.

En revanche une autre étude a été rapportée par **Amhal (2017)** à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech a montré que le taux de BMR dans les prélèvements de pus peut atteindre jusqu'à 50% de souches isolées. En effet, Cette proportion varie selon les hôpitaux et surtout selon le type d'activité des services hospitalier et la pression de sélection exercée par une prescription fréquente d'antibiotiques à large spectre.

Dans notre étude la prévalence des SARM dans le pus est 22,22%. Selon **Touati (2013)** cette prévalence est expliquée par la réalité que la formation de pus est l'un des signes les plus caractéristiques d'une infection, les pus qui sont positif résultent d'un traumatisme suivi de contamination bactérienne. Une modification des conditions locales liées au déficit du système immunitaire rendant un tissu sensible aux bactéries de la flore normale locale, dans ce cas toutes les espèces bactériennes pathogènes et même celles réputées non pathogènes peuvent être mises en causes.

II.4. Résultats d'antibiorésistance des BMR

La figure 22 présente les résultats du test de céfoxitine des *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM).

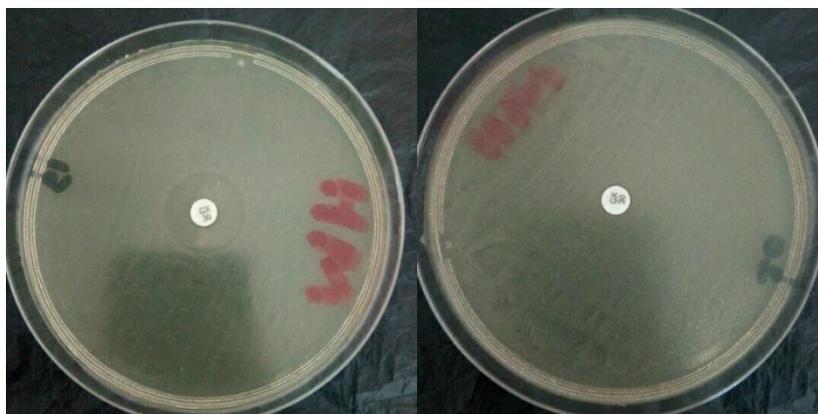


Figure 22: Test de céfoxitine positif sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

Le diamètre critique de la céfoxitine qui offre les meilleures performances sur l'ensemble des *Staphylococcus aureus* isolés est < 21 mm.

La lecture ce fait après mesure des diamètres d'inhibition représenté comme suit : le diamètre d'inhibition est $CX = 19$ mm, $CX = 0$ mm (figure 22) donc se sont des souches CX résistantes.

La figure 23 démontre le résultat du test de synergie des BLSE chez *Serratia odorifera*. Un test de synergie positif donne une image caractéristique, en « bouchon de Champagne » entre les disques AMC et CTX. Un résultat positif est basé sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique, et par conséquent l'augmentation de l'activité des céphalosporines de troisième et quatrième génération en présence d'acide clavulanique.



Figure 23 : Test de synergie « Bouchon de champagne » chez *Serratia odorifera*

III. Etude de l'effet antibactérien de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum*

Selon **Arora et Kaur (1999)** ; **Carovic–Stanko et al. (2010)**, lorsque le diamètre est inférieur ou égal à 10mm, l'agent antibactérien n'a pas d'effet inhibiteur et la sensibilité de la souche est nulle. Pour un diamètre compris entre 10mm à 15mm, l'agent antibactérien présente un effet modéré et la souche est de sensibilité moyenne. Enfin, pour un diamètre supérieur à 15mm, l'agent est hautement actif et la souche est hyper sensible.

D'après les tableaux VII et VIII, l'huile essentielle de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum* présente une activité antibactérienne dose-dépendante significativement plus active contre les bactéries à Gram positives (plus précisément *Staphylococcus*) que contre les bactéries à Gram négatives, ce qui est cohérent avec les observations fréquemment rapportées dans la littérature (**Kokoska et al., 2008** ; **Gholamnezhad et al., 2016**) .

Cette disparité peut être expliquée par différence structurale de la paroi bactérienne où les bactéries à Gram négatif ont une membrane externe ce qui rend leur paroi cellulaire imperméable aux agents antimicrobiens (**Abu-Al-basal, 2009**). Ainsi la paroi des Gram positif est composé uniquement du peptidoglycane ce qui les prédisposent à une importante sensibilité aux agents antimicrobiens (**Ogbonnia et al., 2008**) .

Tableau VII : Evaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Syzygium aromaticum* sur les bactéries à Gram positif et négatif (**Silvestri et al., 2010**).

Des bactéries à Gram positif	Des bactéries à Gram négatif
<u>Sensible</u> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i>	<u>Sensible</u> <i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Escherichia coli</i> <i>Proteus vulgaris</i> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Salmonella choleraesuis</i> <i>Citrobacter freundii</i>
<u>Résistante</u> <i>Bacillus subtilis</i> <i>Enterococcus faecalis</i> <i>Streptococcus mutans</i>	<u>Résistante</u> <i>Salmonella choleraesuis</i>

Le tableau VIII montre l'évaluation de l'activité antibactérienne de *Nigella sativa* sur les bactéries à Gram positif et négatif

Tableau VIII: Evaluation de l'activité antibactérienne de *Nigella sativa* sur les bactéries à Gram positif et négatif

Bactéries à Gram positif	Bactérie à Gram négatif	Références
<u>sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Staphylococcus aureus</i> · <i>Staphylococcus epidermidis</i> · <i>Staphylococcus à coagulase négative</i> · <i>Streptococcus pyogenes</i> 	<u>Resistant</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Acinetobacter baumannii</i> · <i>Proteus mirabilis</i> · <i>Klebsiella pneumoniae</i> · <i>Proteus vulgaris</i> · <i>Citrobacter freundii</i> <u>Sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Pseudomonas aerogenosa</i> 	(Gholamnezhad, 2016)
<u>Sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Bacillus cereus</i> · <i>Bacillus subtilis</i> · <i>Staphylococcus aureus</i> 	<u>Sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Pseudomonas aerogenosa</i> 	(Singh et al., 2005) (Ramadan, 2015)
	<u>Résistant</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Pseudomonas aerogenosa</i> 	(Khan,1999)
<u>sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Staphylococcus épidermidis</i> · <i>Staphylococcus aureus</i> · <i>Bacillus cereus</i> 		(Kokoska et al., 2008)
<u>sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Staphylococcus aureus</i> 	<u>sensible</u> <ul style="list-style-type: none"> · <i>Escherichia coli</i> 	(Ali et Blunden, 2002). (Bourgou et al., 2010)

Cependant, peu de travaux sur l'effet antibactérien des huiles essentielles de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum* sur les BMR (BLSE et SARM). Pour cette raison, nous avons réalisé une synthèse des travaux réalisés sur d'autres bactéries autres que BMR.

De façon générale, l'action antibactérienne des composants des huiles essentielles peut se produire de trois manières:

- En interférant avec la double couche de phospholipides de la paroi cellulaire; en augmentant la perméabilité et la perte des constituants cellulaires.
- En modifiant une variété de systèmes enzymatiques, y compris ceux impliqués dans la production d'énergie cellulaire et la synthèse de composants structurels.
- En inactivant et en détruisant le matériel génétique (**Kalemba et Kunicka, 2003; Delamare et al., 2007**).

De nombreuses études, ont démontré que l'huile essentielle de clou de girofle est fortement antibactérienne. Cette activité pourrait être attribuée à son composé majoritaire qui est "l'eugéno" (**Valero et Giner, 2006**), Par ailleurs l'étude de **Rhayour (2002)** a montré que l'activité bactéricide de l'huile essentielle débiterait par une fixation de ces molécules sur les membranes bactériennes provoquant des altérations de structure et de perméabilité, conduisant à la perte de constituants cellulaires due à une lyse importante des cellules bactériennes.

Conclusion

A la lumière des résultats obtenus durant la réalisation de cette étude sur l'activité antibactérienne des huiles essentielles de graine de nigelle (*Nigella sativa*) et des clous de girofle (*Syzygium aromaticum*) sur les BMR, nous avons constaté que :

Au total de 41 prélèvements réalisés sur des patients hospitalisés et non hospitalisés, nous avons remarqué une prédominance masculine avec une prévalence de 73,17% et que ces infections touchent beaucoup plus les patients appartenant à la tranche d'âge 45-65 ans.

Parmi les diverses infections nous avons constaté que l'infection du pied diabétique occupe la première position avec une prévalence de 58,54%, ce qui explique la préoccupation de service diabétologie. Aussi, nous avons révélé à partir de l'analyse bactériologique des échantillons que la majorité des cas positifs provient de pus avec un taux de 37,04%.

Au terme de notre travail, 41 souches ont été isolées et identifiées dont la prédominance des bactéries à Gram négatif avec 53,65% où *Escherichia coli* et *Klebsiella sp.* occupent la première place avec un taux de 17,07%. Suivi par des bactéries à Gram positif d'une prévalence de 46,43%.

Sur l'ensemble des souches isolées, 10 souches ont été révélées des BMR dont 17,07% sont de type SARM et 7,32% de type BLSE.

Selon notre étude rétrospective, l'huile essentielle de *Nigella sativa* et *Syzygium aromaticum*, présente une activité antibactérienne significativement plus efficace contre les bactéries à Gram positifs (*Staphylococcus aureus* est la plus sensible) que contre les bactéries à Gram négatifs.

En perspective, nos résultats obtenus restent préliminaire méritent d'être complétés par :

- Elargir la période de stage.
- Augmenter l'effectif des prélèvements.
- Il serait intéressant d'établir des protocoles d'investigation des bactéries multi-résistantes et leur sensibilité aux huiles essentielles.
- Faire un feedback de notre résultat au niveau de tout les services et agent de l'établissement afin d'impliquer tout le monde dans la lutte contre l'émergence des bactéries multi-résistantes.

A.

1. **Abu-Al-basal M., (2009).** *In vitro* and *In vivo* Anti-Microbial Effects of *Nigella sativa* Linn. Seed Extracts Against Clinical Isolates from Skin Wound Infections. American Journal of Applied Sciences, Vol 6, Issue 8, p 1440-1447.
2. **Acker C., (2008).** Intérêt d'une technique de biologie moléculaire dans le diagnostic des infections à *Neisseria gonorrhoeae* : Étude de 1165 patientes.
3. **Ahmis W., (2018).** ALGÉRIE : Programme de prévention et de contrôle des infections à bactéries multirésistantes en milieu de soins. Amr control – édition française, vol 01, p 106-107.
4. **Alami S., (1989).** La phytothérapie ancestrale actuelle et d'avenir (contribution à l'étude de la phytothérapie dans la médecine du prophète). Thèse de médecine, Casablanca.
5. **Alekshun M-N., Levy S-B., (2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. Cell, 128, 1037-1050.
6. **Ali B., Blunden G., (2002).** Pharmacological and Toxicological properties of *Nigella sativa*. Phytother Res, 15, p 59-69.
7. **Amhal F-Z ., (2017).** Profil épidémiologique actuel des bactéries multirésistantes expérience de l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. Thèse de doctorat. Université Cadi Ayyad, p 56-57.
8. **Anastay M., Lagier E., Blanc V., Chardon H., (2013).** Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries dans un hôpital du sud de la France, 1999–2007. Pathologie Biologie, Vol 61, p38-43.
9. **Archambaud M., Clave D., (2008).** Diagnostic Bactériologique Direct D'une Infection. Les prélèvements, principales bactéries en cause, interprétation (DCEM1). Laboratoire de Bactériologie-Hygiène Faculté de Médecine Toulouse-Rangueil, p 04.
10. **Arnaud I ., Jarlier V ., Carbonne-Berger A .,Maugat S., Bajolet O.,Dumartin C ., Marty N .,Savey A ., Sénéchal H .,Coignard C .,Astagneau P ., (2012).** Bactéries multirésistantes (BMR) en milieu hospitalier : entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) et *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM), Réseau BMR-Raisin, 2002-2010.Revue Bulletin épidémiologique hebdomadaire, N° 42 – 43, p 473-491.
11. **Arora, D.S., Kaur, J., (1999).** Antimicrobial activity of spices. International Journal of Antimicrobials Agents, Vol 12, p 257-262.

12. **Arsalane L ; Qamouss Y, Chafik A; Boughalem M ; Louzi L;2010.** Les technologies de laboratoire, Vol 5, N°21, p 12-18.
13. **Asbar R., telitel NH., (2018).** L'antibiorésistance des souches bactériennes isolées à partir des prélèvement de pus de pied diabétique .Mémoire professionnel de fin d'étude. Institut National de Formation Supérieure Paramédicale de Blida, p 38.

B

14. **Balouiri M., Sadiki M., Ibsouda S-K., (2016).** Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. Journal of Pharmaceutical Analysis, Vol 6, Issue 2, p 71-79.
15. **Barbier F., Wolff M., 2010.** Multirésistance chez *Pseudomonas aeruginosa* Vers l'impasse thérapeutique ? .M/S n° 11, vol. 26, p 960-963.
16. **Basseray A., Micoud M.,(2000).**Infections nosocomiales. Encycl. Med. Chir, Maladies infectieuses.
17. **Battraud. M, (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ?.Thèse doctorat, Université de Lille 2, p 78.
18. **Baudry C ., Brezellec H ., (2006).**Microbiologie-Immunologie-Cahiers du Préparateur. Groupe Liaisons, p 126.
19. **Bellini C., Troillet N., (2016).** Résistance aux antibiotiques : état des lieux en Europe et en Suisse et impact pour le praticien. Med Suisse, Vol 12, p1699-1702.
20. **Beloued A., (1998).** Plantes médicinales d'Algérie. 2ème Ed. Office des Publications Universitaires. Alger, p144.
21. **Belyagoubi L., (2014).** Antibiotiques produits par des bactéries (actinomycètes et bactéries lactiques) issus de différents écosystèmes naturels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université Aboubakr Belkaïd-Tlemcen.
22. **Berthélémy S., (2016).** L'examen cytobactériologique des urines. Actualités pharmaceutiques, N° 556,p 57-58.
23. **Birgand G., Lucet J., (2013).**Politique de dépistage des BMR : quand et qui faut-il dépister ? .Revue Francophone des laboratoires, N°453, p29-39.
24. **Bourgou S., Pichette A., Marzouk B. and Legault J., (2010)** .Bioactivities of black cummin essential oil and its main terpenes from Tunisia. South African J. Bot., vol 76, p 210–216.

25. Bouyahya .A., Bakri. Y., Et-Touys A., Talbaoui .A., Khouchlaa A., Charfi S., Abrini J., Dakka N., (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries, p07.
26. Boyle W., (1955). Spices and essential oils as perspectives. American Perfumer Essential Oil Review, vol 66, p 25-28.
27. Brissot E., Villate A., Alsuliman T., Beauvais D., Bonnin A., Mear J.B., Souchet L., Yakoub-Agha I., Bazarbachi A., (2019). Dépistage des bactéries multirésistantes (BMR) et hautement résistantes émergentes (BHRe) aux antibiotiques en allogreffe de cellules souches hématopoïétiques : recommandations de la Société francophone de greffe de moelle et de thérapie cellulaire (SFGM-TC). Bull Cancer, Vol 817, p01-05.
28. Bruneton J. (1999). Pharmacognosie-Phytochimie, Plantes médicinales, Tec et Doc, Paris, p 1119.
29. Bruneton J., (1993.)Pharmacognosie : phytochimie, plantes médicinales, Tec & Doc, Lavoisier, Paris, p 915.
30. Burt S-A., (2004). Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods a review. International Journal of Food and Microbiology, vol 94, p 223-253.
31. Buttery J., (2009).Culture de plaie colonisée ou infectée.Centre de santé et service sociaux.Institut universitaire de gériatrie de Sherbrook. p3
32. Buxeraud J., Faure S., (2016). Les bêtalactamines. Actualités pharmaceutiques, N°558, p1-5.

C

33. Carović-Stanko K., Orlic S., Politeo O., Strikić F., Kolak I., Milos,M., Satovic Z. (2010). Composition and antibacterial activities of essential oils of seven *Ocimum taxa*. Food Chem,Vol 1: 196–201.
34. Carson C-F., Riley T-V., (1995). Antimicrobial activity of the major components of the essential oil of *Melaleuca alternifolia*. J. Appl. Bacteriol. Vol 78, N°3, p 264–269.
35. CASFM / EUCAST : Société Française de Microbiologie Ed ; 2019
36. Cattoir V., (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Pathol Biol, vol 52, p 607-616.
37. Chabni N., Dakkar Z., Kendouci Tani MS., Meguenni K., (2013). Prévalence et complications du pied diabétique au service de Médecine interne- CHU Tlemcen.

38. **Charles D-J., (2014).** Antioxidant Properties of Spices, Herbs and Other Sources. Springer, p415.
39. **Cortés-Rojas D.F., Fernandes de Souza C.R ., Pereira Oliveira W.,(2013).** Clove (*Syzygium aromaticum*): a precious spice. Asian Pac J Trop Biomed, Vol 4, N°2, p90-96.
40. **Couic-Marinier F ., Lobstein A. (2013).** Les huiles essentielles gagnent du terrain à l'officine. Actualités pharmaceutiques, Vol 52, N° 525, p 03.
41. **Courvalin., (2007).** La résistance des bactéries aux antibiotiques: combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques. Bull. Acad. Vét. France. Tome 161 .N°1, p 07-12.

D

42. **Daffe S., (2005).** Connaissances attitudes et pratiques des populations face au paludisme dans l'aire de sante de finkolo (sikasso) mali. Thèse de doctorat, Université de Bamako.
43. **Delamare A-P., Moschen-Pistorello I-T., Artico L, Serafini L-A., Echeverrigaray S., (2007).** Antibacterial activity of essential oils of *Salvia officinalis L.* and *Salvia triloba L.* cultivated in South Brazil. Revue Food Chemistry, Vol 100, p 603-608.
44. **Denis F., Ploy M-C., Martin C ., Bingen E ., Quentin R (2011).** Bactériologie médicale Techniques usuelles. 2^{ème} Edition. p 332-334.
45. **Doit C ., Mariani-Kurkdjian P., Bingen E., (2010).** Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu. Archives de Pédiatrie, Vol 17, p140-144.
46. **Dumitrescu O., Dauwalder O., Boisset S., Reverdy M.E., Tristan A., Vandenesch F., (2010).** Résistance aux antibiotiques chez *Staphylococcus aureus*. Medecine Science (Paris), vol 26, p 943-949.

E

47. **Ebonguel C.O ., Tsi azok M.D ., Nda Mefo'o J.P., Ngaba G.P ., Beyiha G., Adiogo D., (2015).** Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. Pan African Medical Journal, vol 20, N°227, p02-05.
48. **Elodie Guinoiseau .,(2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse doctorat. Université de Corse-Pasquale Paoli. Ecole Doctorale Environnement et Société UMR CNRS 6134 SPE, p 56.

F

49. **Faure S., (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux beta-lactamines bla CTX-M 9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine: influence d'un traitement antibiotique. Médicaments. Université Rennes 01, p52
50. **Fernandes C J ., Fernandes L-A., Collignon P., (2005).** Céfoxitin resistance as a surrogate marker for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. Journal of Antimicrobial Chemotherapy, vol 55, N°4, p506-510.
51. **Fisher J.F., Meroueh S.O., Mobashery., (2005).** Bacterial resistance to beta-lactam antibiotics: compemmi,g opportunism, compelling opportunity, Chem.Rev,105, 395-424.
52. **Fosseprez P., (2013).** Antibiothérapie en pratique de ville : Constat et réflexions sur le rôle du pharmacien d'officine dans la lutte contre l'antibiorésistance .Thèse doctorat, Université De Lorraine, Faculté De Pharmacie, p 07.
53. **François A., Brandstätter H., Bréchet A-C., Huttner A., (2013).** Infections urinaires, p 1-12.

G

54. **Gervais R ., Willoquet G., (2017).** Guide pharmaco: Etudiants et professionnels en soins infirmiers. 12^{ème} edition.
55. **Ghedira K ., Goetz P ., Le Jeune R (2010).** *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & Perry (Myrtaceae) Giroflier. Phytothérapie, vol 8, p 37–43.
56. **Ghedira K., (2006).**La Nigelle Cultivée : *Nigella sativa* L. (Ranunculaceae). Phytothérapie 5. p 220.
57. **Gholamnezhad Z., Havakhah S., Boskabady M-H., (2016).** Preclinical and clinical effects of *Nigella sativa* and its constituent, thymoquinone: A review. J Ethnopharmacol , vol 190N°372, p 86.
58. **Gonthier R., (2000).** Infection urinaire du sujet âgé. La Revue de Gériatrie, Tome 25, N°2, p 95-103.
59. **González-Trujano M E ., Peña E I., Martínez A L., Moreno J., Guevara-Fefer P., Déciga-Campos M., López-Muñoz F J., (2007).** Evaluation of antinociceptive effect of *Romarin officinalis* L.using three différent experimental models in modents .J theopharmacol, Vol 111, p 476-482.

60. **Gordona N.C., Wareham D.W., (2010).** Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*: mechanisms of virulence and resistance. *International Journal of Antimicrobial Agents*, Vol 35, p219-226.
61. **Guardabassi L., Courvalin P., (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington, p 1-18.
62. **Guignard J.L., (2001).** Botanique systématique moléculaire. 12^{ème} édition Masson (Paris), p 304.
63. **Guillemot D., Leclercq R., (2005).** Impact de l'exposition des populations sur le risque de résistance bactérienne. *Med Mal Infect*, Vol 35, N°3, p 212-220.
64. **Guillot J.F, (1989).** Apparition et évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques. *Annales de Recherches Vétérinaires*, INRA Editions, p 3-16.
65. **Guillot J.F, (1989).** Bases moléculaires et épidémiologiques de l'antibiorésistance bactérienne. *Annales de Recherches Vétérinaires*, INRA Editions, p1-11.
66. **Gulluce M., Sahin F., Sokmen M., Ozer H., Daferera D., Sokmen A., Polissiou M., Adiguzel A., Ozkan H., (2007).** Antimicrobial and antioxidant properties of the essential oils and methanol extract from *Mentha longifolia L. ssp. longifolia*. *Food Chemistry*, Vol 103, p1449– 1456.
67. **Guyène B-M ., (2003).** Facteurs prédisposant d'infection urinaire à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques, p30.

H

68. **Hartemann-Heurtier A., Senneville E., (2008).** Diabetic foot osteomyelitis. Review. *Diabetes & Metabolism*. Vol 34, Issue 2, p 87-95
69. **Hemaiswarya S., Kruthiventi K., Doble M., (2008).** Synergism between natural products and antibiotics against infectious diseases. *Phytomedicine*, vol 15, 639–652.
70. **Hernando-Amado S., Blanco P., Alcalde-Rico M., Corona F., Realescalderon J A., Sanchez M B., Martinez J L., (2016).** Drug resistance updates, Vol 28, p13–27.
71. **Hocquet D., (2003).** Résistance aux antibiotiques par efflux actif chez *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat. Université d FrancheComté, Besançon, p20-22.

J

72. Janvier F., Mbongo-Kamaa E., Mérensa A., Cavalloa J-D., (2008). Les difficultés d'interprétation de l'examen cyto bactériologique des urines. Revue francophone des laboratoires, N°406, p 51-59.
73. Jeannot K, Guillard T., (2019). *Pseudomonas aerogenosa*, p 05-06.
74. Jeannot K., Plésiat P., (2005). Implications thérapeutiques de la résistance aux antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*. La Lettre de l'Infectiologue, Tome 20, N° 6, p 232-233.
75. Jehl F., Chabaud A., Grillon A., (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ?. Journal des Anti-infectieux, vol 17, N°4, p 125, 139.
76. Joly-Guillou M.L., Bergogne-Bérézin E., (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. Antibiotiques, N°8, p94-99.

K

77. Kaboré W.A.D., Konaté A., Bako E., Serge Bagré T., Boisramé S., Chandad F, Alfred S., Barro N., Sangaré L., (2016). Détection d'*Acinetobacter baumannii*, agent pathogène opportuniste et multirésistant dans les infections bucco-dentaires à Ouagadougou, Burkina Faso. Med Buccale Chir Buccale 2016, vol 22, p 105-112.
78. Kalembe D., Kunicka A., (2003). Antibacterial and antifungal properties of essential oils. Current Medicinal Chemistry, vol 10, p 813-829.
79. Karrassou A., (2016). La Nigelle, une panacée peu connue en Occident. thèse doctorat, Université de Bourgogne UFR des Sciences de santé Dijon, p38-39.
80. Kaźmierczak, Z., Górski A., Dąbrowska K., (2014). Facing Antibiotic Resistance: *Staphylococcus aureus* Phages as a Medical Tool. Viruses, vol 6, p 2551-2570.
81. Khan M., (1999). Chemical composition and medicinal properties of *Nigella sativa* Linn. Inflammopharmacology, Vol 7, N°1, p 15-35.
82. Knothe GP., Shah P., Kremery V., Antai M., Mitsuhashi S., (1983). Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection, Vol 11, N°6, 315-317.
83. Kokoska L., (2011). Chemistry and Biological Activity of *Nigella Genus* : The antimicrobial and anti-inflammatory effects of seed extracts, essential oils and compounds

of six *Nigella* species. Edition: LAP LAMBERT Academic publishing GmbH & Co.KG. U.S.A. p 1.

- 84. Kokoska L., Havlik J., Valterova I., Sovova H., Sajfrtova M., Jankovska I., (2008).** Comparison of Chemical Composition and Antibacterial Activity of *Nigella sativa* Seed Essential Oils Obtained by Different Extraction Methods. Journal of Food Protection, Vol 71, N° 12, p 2475–2480.

L

- 85. Lacheheb L., Bendagha R., (2016).** Les infections urinaires. Université des Frères Mentouri Constantine.P35-40.
- 86. Lagunez –Rivera L., (2006).** Etude de l'extraction de métabolites secondaires de différentes matières végétales en réacteur chauffe par induction thermomagnétique directe ; Thèse de Doctorat de l'Institut National Polytechnique de Toulouse, p31-42.
- 87. Lahlou A-I., Chegri M., L’Kassmi H., (2009).** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d'infections urinaires à l'hôpital militaire Moulay-Ismail de Meknès. Antibiotiques, 11^{ème} édition, p 90-96.
- 88. Lanotte P., Mereghetti L., Quentin R., (2010).** Démarche de l'examen bactériologique. Bactériologie médicale.2^{ème} Edition,p 05-06.
- 89. Laouar S ., Sifer H .,(2013).** Etude de l'activité antibactérienne de quelques huiles essentielles et l'effet de leur association avec les antibiotiques.mémoire d'ingenieur d'etat. Université Abderrahmane MIRA, p 09.
- 90. Lastours V., Fantin B., (2010).** Résistance aux fluoroquinolones en 2010 : quel impact pour la prescription en réanimation ?. Service de médecine interne, hôpital Beaujon, Assistance publique-Hôpitaux de Paris, vol 19, p 347-353.
- 91. Laurent J., (2017).** Conseils et utilisations des huiles essentielles les plus courantes en officine.Thèse doctorat. universite Paul Sabatier Toulouse, p16.
- 92. Lavigne JP., Sotto ANicolas-Chanoine MH., Bouziges N., Bourg G., Davin-Regli A., Pagès JM.(2012).**Membrane perméability , a provitale function involed in antibiotic résistance and virulence in Enterobacter aerogenes clincal isolates. Clin Microbiol Infect 18 : 539-545..
- 93. Lepelletier D ., Marty N., (2015).** Maîtrise de la diffusion de la résistance aux antibiotiques l'hôpital : le rôle de l'hygiène hospitalière. Monica Attinger-Unité HPCI Forum HH, p 04.

- 94. Lobstein A., Couic-mariniere F., Barbelet S., (2017).** Huile essentielle de Clou de girofle. *Actualités pharmaceutiques*, n° 569, p 59-61.
- 95. Loeb M. et Mulvey M., (2005).** Surveillance for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Canadian hospitals - a report update from the Canadian Nosocomial Infection Surveillance Program. *Canadian Communicable Disease Reports*. 31: 33-40.
- 96. Lozniewski A., Rabaud C., (2010).** Résistance bactérienne aux antibiotiques, p 01-04.

M

- 97. Mainardi J.L., (2015).** Mécanisme d'action et de résistance aux antibiotiques/ session interactive autour de l'antibiogramme. Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou et Faculté de Médecine Paris René Descartes. p14
- 98. Mainardi J-L., Goldstein F-W., Gutmann L., (1996).** Mécanismes de résistance bactérienne aux antibiotiques. *Encycl Méd Chir (Elsevier, Paris), Maladies infectieuses* vol 10, p 08.
- 99. Mandell GL., Bennett JE., Dolin R., Mandel I., (2009).** Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Sixième édition, Elsevier, Churchill Livingstone éditeurs, USA.
- 100. Martini J., Senneville E., (2018).** Médecine Clinique Endocrinologie & Diabète. Journées Nationales du DES d'Endocrinologie-Diabète et Maladies Métaboliques p96-98.
- 101. Matagne A., Lamotte-Brasseur J., Frère J.M.,(1998).** Catalytic properties of class A β -lactamases: efficiency and diversity. *Biochem. J.*, p 581-598.
- 102. Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi C., Fernandez X., (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea L* and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research*, vol 4, N°10, p 959-964.
- 103. Mazari K., Bendinerad N., Benkhechi CH., Fernandez X. (2010).** Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil isolated from Algerian *Juniperus phoenicea L* and *Cupressus sempervirens*. *Medicinal Plant Research*. 4(10) : 959-964
- 104. Mehdi S., (2008).** La fréquence des bactéries multi résistantes à l'hôpital Hassani de Settat. Thèse du Doctorat en Pharmacie, RABAT : Université Mohammed, p 48-51.
- 105. Milind P., Khanna D., (2011).** Clove: A Champion Spice. *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, vol 2, N°1, p47-54.

106. **Murthy R., (2011).** Implementation of Strategies to Control Antimicrobial Resistance. Chest, Vol 119, N°2, p405-411.
107. **Muylaert A., Mainil J.G., (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Ann. Méd. Vé, vol 156, p109- 123.

N

108. **Neu H-C., (1992).** The Crisis in Antibiotic Resistance. Révue Science, Vol 257, p 1064-1073
109. **Nicodème J-D., Nicodème P-E., Zingg M., Uçkay I, Malacarne S, Suva D., (2015).** Pied diabétique infecté : du diagnostic à la prise en charge. Revue Médicale Suisse, p 01.
110. **Nikaido H., (2009).** Multidrug resistance in bacteria. Annu. Rev. Biochem . vol 78, p 119-146.
111. **Nour M., Mastouri M., Ben Nejma M., (2005).** Le staphylocoque doré résistant à la méticilline : émergence et bases moléculaires de la résistance. Pathologie Biologie, Vol 53, p 334–340.

O

112. **Ogbonnia S-O., Enwuru N-V., Onyemenem E-U., Oyedele G-A ., Enwuru C-A., (2008).** Phytochemical evaluation and antibacterial profile of *Treculia africana* Decne bark extract on gastrointestinal bacterial pathogens. African Journal of Biotechnology, Vol 7, N°10, p 1385-1389.
113. **Orsi-Llinares F., (2013).** La nigelle, une épice d'intérêt médicinal. Thèse de doctorat, Université de Grenoble, p 131-136.
114. **Ouedraogo A-S ., Jeab Pierre H ., Banuls A-L ., Ouédraogo R ., Godreuil S ., (2017).**Émergence et diffusion de la résistance aux antibiotiques en Afrique de l'Ouest : facteurs favorisants et évaluation de la menace. Médecine et Santé Tropicales, Vol. 27, N°2, p 148-154.

P

115. **Pitout J-D., Hanson N-D., Church D-L., Laupland K-B., (2004).** Population-based laboratory surveillance for *Escherichia coli* producing extended-spectrum β -lactamases:

importance of community isolates with blaCTX-M Genes. Clin Infect Dis, vol 38, p1736-1741.

- 116. Poole K, (2004).** Resistance to beta-lactam antibiotics. Cell Mol. Life Sci, Vol 61, p 2200-2223.

R

- 117. Ramadan M-F., (2015).** Nutritional value and applications of Nigella sativa essential oil: a mini review. A Biochemistry Department, Faculty of Agriculture, Zagazig University, Zagazig 44519, Egypt; Deanship of Scientific Research, Umm Al-Qura University, Makkah, Kingdom of Saudi Arabia. Journal of Essential Oil Research. p 271-275

- 118. Rauter A-P., Branco I., Tostao Z., Pais M-S., Gonzalez A-G., Bermejo J-B., (1989).** Flavonoids from *Artemisia campestris Subsp Maritima*. Phytochemistry, vol 28, N° 8, p 2173-2175.

- 119. Redgrave L-S., Sutton S-B., Webber M-A., Piddock L- J- V., (2014).** Fluoroquinolone resistance: mechanisms, impact on bacteria, and role in evolutionary success. Trends in Microbiology, vol 22, N°8, p 438–445.

- 120. Rhayour K., (2002).** Etude du mécanisme de l'action bactéricide des huiles essentielles sur *Esherichia coli*, *Bacillus subtilis* et sur *Mycobacterium phlei* et *Mycobacterium fortuitum*. Thèse de doctorat, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah, p 95-114.

- 121. Robina F., Gibolda L., Bonnetta R., (2012).** Résistances naturelles et acquises aux Bêta-lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ?. Revue francophone des laboratoires, N° 445, p47-58.

- 122. Rybak M.J.,(2004).** Resistance to Antimicrobial Agents: An Update. Pharmacotherapy, Vol 24, N° 12, p204-213.

S

- 123. Semmar R-N., Bensikhelifa N., (2017).** Études phytochimiques et biologiques comparatives chez l'espèce *Nigella arvensis* (Habba sawda) et *Nigella sativa* (Sinoudj). Université des Frères Mentouri Constantine, p01.

- 124. Simor A-E., Ofher-Agostini M., Gravel D., Varia M., Paton S., McGeer, A., Bryce, E.,**

- 125. Singh G., Marimuthu P., Heluani C-S., Catalan C., (2005).** Chemical constituents and antimicrobial and antioxidant potentials of essential oil and acetone extract of *Nigella sativa* seeds. J. Sci. Food Agric ,vol 85, 2297–2306.
- 126. Sylvie C ., (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important !.Pharmactuel Vol 42, p6-21.
- 127. Tahan M., Bayram I., (2011).** Effect of using black cumin (*Nigella sativa*) and parsley (*Petroselinum crispum*) in laying quaildiets one gyield, egg quality and hatchability, Archiva zootechnica, vol.14,N°.4, p 39–44.

T

- 128. Tattevin P., (2011).** Les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) d'acquisition communautaire. Médecineet maladies infectieuses. Vol 41, p167–175.
- 129. Touati M., (2013).** Antibio-résistance des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau des services de réanimation - CHU Annaba. Thèse de doctorat. Université Badji Mokhtar-Annaba.

V

- 130. Valero M., Giner M-J., (2006).** Effects of antimicrobial components of essential oils on growth of *Bacillus cereus* INRA L2104 in and the sensory qualities of carrot broth. International Journal of Food Microbiology, Vol 106, Issue 1, p 90 – 94.

W

- 131. Webber M-A., Piddock L-J-V.,(2003).** The importance of efflux pumps in bacterial antibiotic resistance Journal of Antimicrobial Chemotherapy, Vol 51, Issue 1, p 9–11.
- 132. Wichtl M., Anton R., (2003).**Plantes thérapeutiques. Tournai (Belgique): 2ème édition, Tec & Doc.
- 133. Wilkinson J-M., (2006).** Methods for testing the antimicrobial activity of extracts, Edition 8, p 157-165.

Y

134. **Yala D., Merad A.S., Mohamedi D., Ouar Korich M.N., (2001).** Resistance Bactérienne Aux Antibiotiques. Médecine du Maghreb, N°91, p 13-14.
135. **Yamashita S-K., Louie M., Simor A-E., Rachlis A., (2000).** Microbiological surveillance and parenteral antibiotic use in a critical care unit. Can J Infect Dis, vol11, p107-111.

Z

136. **Zanella M-C., Kressmann B., wuarin L., Coulin B., Maître S., Suvà D., Benjamin A., Lipsky Uçkay I., (2016).**Microbiologie et traitement antibiotique du pied diabétique infecté. revue médicale suisse, p733
137. **Zegmout A., (2008).**Les infections à bactéries multirésistante en reanimation : incidence, facteur de risque et facteurs pronostiques. Thèse doctorat en médecine. Universite Mohammed V- Souissi, p 56-58.

Annexe I

Fiche de renseignements utilisée pour la collecte des données épidémiologiques

Fiche de renseignements

Nom :.....

Prénom :

.....

Age :.....

Sexe :.....

Type de prélèvement :

Urine

Pus

Vaginale

Date de prélèvement :

Annexe II

Composition des milieux de culture

Gélose Chapman

Extrait de viande.....	1g
Chlorure de sodium.....	75g
Peptone.....	10g
Gélose.....	15g
Mannitol.....	10g
Rouge de phénol	0,025g
Ph=7,4	

Gélose Mueller Hinton

Infusion de viande de boeuf	3g
Hydrolysate de caséine	17,5g
Amidon	1,5g
Agar	17g
PH : 7,4	

Gélose nutritive

Extrait de viande	5g
Peptone	10g
Chlorure de sodium	5g
Agar	20g
PH: 7	

Bouillon glucosé tamponné

Tryptone	20,0 g
Glucose	2,0 g
Chlorure de sodium	5,0 g
Dihydrogénophosphate de sodium.....	2,5 g
pH = 7,3	

Gélose Hektoen

Protéose-Peptone.....	12,0 g
-----------------------	--------

Annexe

Extrait de levure.....	3,0 g
Désoxycholate de sodium.....	9,0 g
Lactose.....	12,0 g
Saccharose.....	12,0 g
Salicine.....	2,0 g
Bleu de bromothymol.....	65 mg
Fuchsine acide.....	100 mg
Thiosulfate de sodium.....	5,0 g
Citrate ferrique ammoniacal.....	1,5 g
Chlorure de sodium.....	5,0 g
Agar.....	15,0 g

pH = 7,5



Annexe III

Galerie API 20^E de *Serratia odorifera*



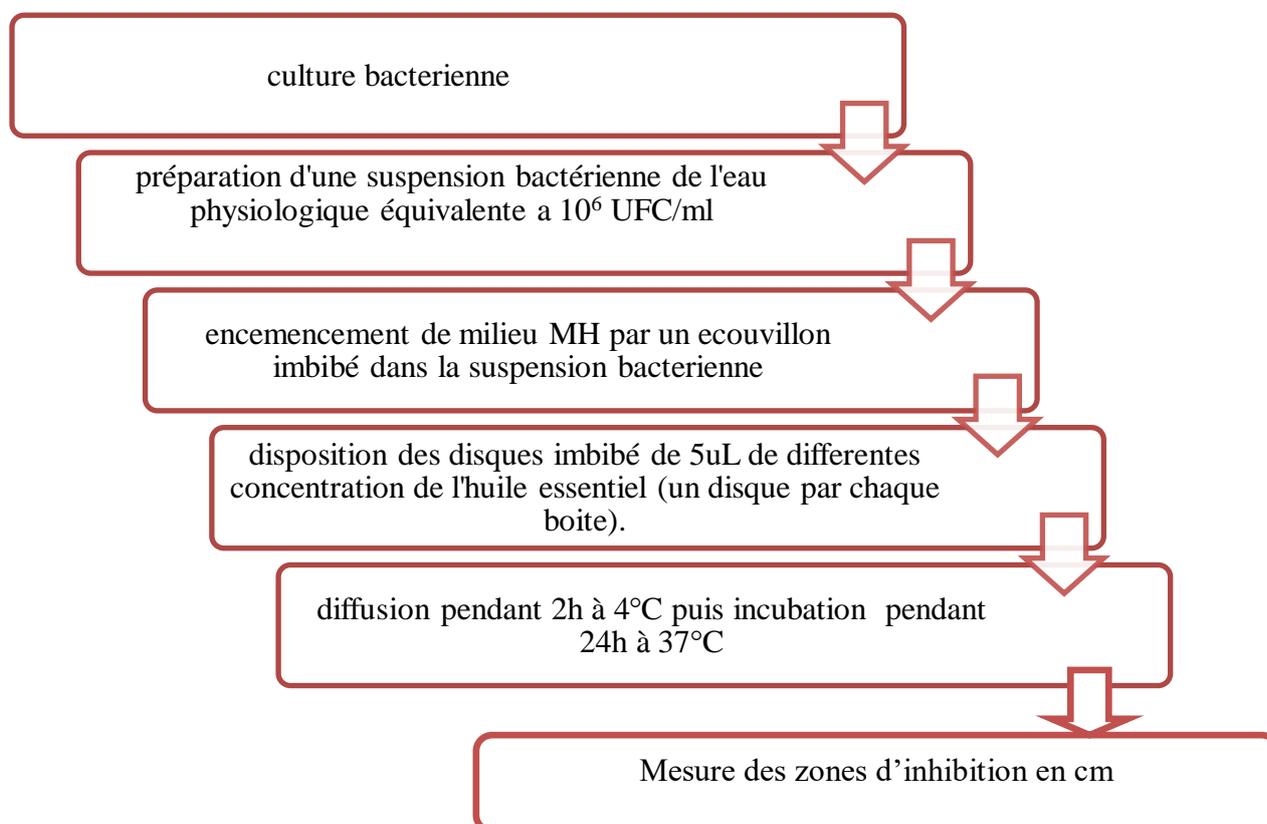
Annexe IV

Galerie API 20^E de *Proteus mirabilis*



Annexe VI

Galerie API 20^E *Klebsiella oxytoca*



Annexe V

Les étapes de la réalisation d'un aromatoigramme