



Université Mohamed Khider de Biskra
Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature
et de la vie
Département des sciences de la nature et de la vie
Filière : Sciences biologiques

Référence / 2021

MÉMOIRE DE MASTER

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté et soutenu par :

Amani Khadri
Soumia Khelifa

Effet inhibiteur des produits naturels envers les biofilms de bactéries responsables d'infections liées aux soins

Jury :

Dr	Benkaddour Bachir	MAA	Université Biskra	Président
Dr	Benbelaid Fethi	MCB	Université Biskra	Rapporteur
Dr	Dendouga Wassila	MCA	Université Biskra	Examinatrice

Année universitaire : 2021-2022

Remerciements

*En premier lieu, nous remercions **Allah** qui nous a donné le courage, la patience et la volonté pour réaliser ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre encadrant **Dr. Fethi Benbelaid** pour l'intérêt qu'il a donné à ce travail et pour ses précieux conseils et sa disponibilité.*

*Nous remercions aussi très fort l'ingénieur du laboratoire de bactériologie de l'EPH « El-Hakim Sadanne, Biskra » Zineb **Zemmam** d'avoir partagé tout son savoir et son expérience au labo avec nous.*

*Nous tenons à exprimer nos remerciements aux **membres du jury** d'avoir accepté à examiner ce mémoire.*

*Enfin, nos remerciements s'adresse également à **tous nos enseignants** du département de biologie de Biskra qui ont toujours veillé à nous donner la bonne information et la meilleure formation durant tout ce parcours de cinq ans.*

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à :

*A l'homme, qui a souffert sans me laisser souffrir, qui n'a jamais dit non à mes exigences et qui n'a épargné aucun effort pour m'encourager et me rendre heureuse : **mon cher père***

*A la femme qui a été toujours à mes côtés pour me soutenir et m'encourager pour affronter les différents obstacles : **mon adorable mère**. Ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force.*

*A mes chères sœurs **Zineb et Selma** et mon chère frère **Aymen** qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu vous protège et vous offre la chance et le bonheur.*

*A mes chères amies, **Rahima , Hadil et Ryane** qui m'ont toujours encouragé, et à qui je souhaite plus de succès.*

*A ma coéquipière **Amani** pour sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail.*

A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin pour que ce travail soit possible, je vous dis merci pour votre amour et votre encouragement.

Soumia

Dédicace

*La présentation de ce modeste travail m'offre l'occasion d'exprimer ma profonde gratitude
à mes très chers parents qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours d'étude.*

*A mon cher frère **Brahim**.*

*A mes chères sœurs **Sérine, Faten, Elina**.*

*A ma coéquipière **Soumia**.*

A tous ceux qui m'ont accordé leur soutien dans les moments difficiles.

Amani

Table des matières

Liste des tableaux.....	IV
Liste des figures	V
Liste des Abréviations.....	VI
Introduction	1
Partie Bibliographique.....	2
Chapitre 1. Les biofilms.....	2
1.1. Définition du biofilm	3
1.2. Caractéristiques des biofilms	3
1.2.1. Biofilm est un environnement hétérogène.....	3
1.2.2. Bactéries du biofilm possèdent des propriétés spécifiques	3
1.3. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens	4
1.3.1. Capsules ou Glycocalyx.....	4
1.3.2. Hétérogénéité du métabolisme et taux de croissance	4
1.3.3. Phénomène de persistance montré par les cellules	4
1.3.4. État métabolique des organismes dans le biofilm.....	5
1.3.5. Adaptation génétique	5
1.3.6. Détection du quorum (signalisation de cellule à cellule)	5
1.3.7. Réponses au stress	6
1.3.8. Structure de la membrane externe	6
1.4. Moyens de lutte contre les biofilms.....	6
1.4.1. Antibiothérapie.....	6
1.4.2. Peptides antimicrobiens (AMP)	7
1.4.3. Surfaces anti-adhérentes	7
1.4.4. Vaccination.....	8
Chapitre 2. Infections nosocomiales	3
2.1. Définition.....	9
2.2. Epidémiologie.....	9

2.3. Voies de transmission	10
2.3.1. Voie endogène	10
2.3.2. Voie exogène	10
2.4. Types d'infections nosocomiales	11
2.4.1. Infections urinaires	11
2.4.2. Infections pulmonaires	12
2.4.3. Infections du site opératoire	12
2.4.4. Infections liées aux cathéters	13
2.5. Prévention des infections nosocomiales	13
Partie Expérimentale	9
Chapitre 3. Matériel et Méthodes	10
3.1. Présentation de lieu d'étude	15
3.2. Sites de prélèvement et d'échantillonnage	15
3.3. Milieux de cultures utilisés	17
3.4. Revivification	19
3.4.1. Mise en culture et isolement	19
3.4.2. Purification des souches	20
3.5. Conservation des souches	20
3.6. Identification	21
3.6.1. Etude des caractères culturaux (aspect macroscopique)	21
3.6.2. Etude des caractères morphologiques (aspect microscopique)	21
3.6.2.1. Etat frais	21
3.6.2.2. Coloration de Gram	21
3.6.3. Etude des caractères biochimiques	22
3.6.3.1. Galerie Api 10s	22
3.6.3.2. Test DNase	22
3.6.3.3. Test catalase	22
3.6.3.4. Test oxydase	23

3.7. Antibiogramme	23
3.7.1. Mode Opérateur	23
3.8. Aromatogramme	24
3.8.1. Mode opératoire	25
3.9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	25
3.10. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la formation des biofilms (CMIB)	27
3.10.1. Mode opératoire	27
Chapitre 4. Résultats	15
4.1. Identification	29
4.1.1. Identification Macroscopique	29
4.1.2. Identification microscopique	33
4.1.3. Identification biochimique	34
4.2. Antibiogramme	37
Synthèse Bibliographique	15
Chapitre 5. Méthodes de l'analyse théorique	16
5.1. Cadre d'étude	47
5.2. Echantillonnage	48
5.3. Souches étudiés	49
5. 4. Produits naturels testés	50
5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles	52
5.5.1. Techniques utilisées dans chaque étude	52
Chapitre 6. Résultats de l'analyse théorique	62
6.1. Résultats des techniques utilisées	62
7. Discussion	78
Conclusion	82

Liste des tableaux

Tableau 1. Sites et services de prélèvement.	17
Tableau 2. Les souches sélectionnées.	29
Tableau 3. Résultats de plaque API pour <i>E. coli</i>	36
Tableau 4. Api 10s pour <i>K. pneumoniae</i>	37
Tableau 5. Les diamètres des zones d'inhibition des différents antibiotiques.	38
Tableau 6. Les diamètres des zones d'inhibition de huiles essentielles.	41
Tableau 7. Les concentration minimales inhibitrices (CMI) de croissance bactérienne (%).	43
Tableau 8. Les concentration minimales inhibitrices de la formation des biofilms (CMIBs).	45
Tableau 9. Les lieux des études.	47
Tableau 10. Les différents prélèvements collectés.	48
Tableau 11. Les souches bactériennes étudiées.	49
Tableau 12. Les produits naturels testés.	51
Tableau 13. Les techniques utilisées.	53
Tableau 15. Les résultats trouvés.	62

Liste des figures

Figure 1. Infections nosocomiales d'origine endogène (Meryem Lemsanni, 2016).....	10
Figure 2. Infections nosocomiales d'origine exogène (Meryem Lemsanni, 2016).....	11
Figure 3. L'établissement public hospitalier non universitaire "HAKIM SAADANE".	15
Figure 4. Exemples des sites de prélèvement des surfaces hospitalières	16
Figure 5. L'ensemencement sur les milieux sélectifs.	20
Figure 6. Méthode d'ensemencement sur gélose inclinée	20
Figure 7. Réalisation de l'antibiogramme.....	24
Figure 8. Réalisation de l'aromatogramme.....	25
Figure 9. Préparation d'inoculum.....	26
Figure 10. Préparation des dilutions	27
Figure 11. Réalisation de la CMIB	28
Figure 12. Aspects des colonies sur le milieu de culture GN.....	29
Figure 13. Aspects des colonies sur milieu Chapman.....	30
Figure 14. Aspects des colonies sur milieu Héктоèn.	31
Figure 15. Aspects des colonies sur milieu BCP	32
Figure 16. Résultats de coloration de Gram (Grosissement x100).	33
Figure 17. Observation à l'état frais.	34
Figure 18. Résultat de test oxydase.....	35
Figure 19. Résultat positive de test catalase (formation de bulles e gaz) (cas de <i>staphylococcus aureus</i>).	35
Figure 20. Résultat de test DNase.....	36
Figure 21. Quelques résultats de l'antibiogramme.	41
Figure 22. Quelques résultats de l'aromatogramme.....	43
Figure 23. Résultats des CMI sur la plaque de microdilution.	44
Figure 24. Résultats de CMIB	46

Liste des Abréviations

IN : Infections nosocomiales

IUN : Infections urinaires nosocomiales

IU : Infections urinaires

CAUTI : Infections des voies urinaires associées aux cathéters urinaires

PN : Pneumonie

PAVM : Pneumopathies associées à la ventilation mécanique

AET : Aspirations endotrachéale

BTP : Brossage télescopique protégé

ISO : Infections du site opératoire

CVC : Cathéter veineux central

CVP : Cathéter veineux périphérique

CLOA : Cytospin leucocytaire orange acridine

MMR : Micro-organismes multirésistants

PAC : Pneumonies aiguës communautaires

ICD : Infections liées à *Clostridium difficile*

LBA : Lavage broncho-alvéolaire

MDR : Multirésistant drug bacteria

XDR : Extrem drug resistant

SARM : *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline

CMI : Concentration minimale inhibitrice

CMB : Concentration minimale bactéricide

CMIB : Concentration minimale inhibitrice de biofilms

CMEB : Concentration minimale éradicatrice de biofilms

CPM : Concentration de prévention des mutants résistants

HE : Huile essentielle

BLSE : Bactéries productrice de de bêta-lactamase

BN : Bouillon nutritif

GN : Gélose nutritive

MSA : Gélose Chapman.

BCP : Bromocresol purple/Bromocrésol pourpre

MH : Muller-Hinton

BHI : Gélose de cœur de cervelle

ATCC : American Type Culture Collection

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance

Introduction

Introduction

L'infection nosocomiale bactérienne est l'une des principales causes de morbidité et de mortalité à travers le monde. Ces infections liées aux soins surviennent principalement chez les patients hospitalisés présentant des facteurs de risque tels que l'utilisation concomitante ou récente d'antibiotiques (**Siah *et al.*, 2009**).

A cause de leur fréquence, leur gravité parfois, les infections nosocomiales sont des marqueurs de qualité des soins communément admis. En effet, la lutte contre ces infections liées aux soins devient un élément primordial de l'accréditation des établissements. Dans le contexte très contraignant de maîtrise des dépenses de santé, leur coût constitue également un élément important pour renforcer les politiques de prévention (**Chaibdraa *et al.*, 2008**). Cependant, pour mettre en place des stratégies de prévention dans les services à haut risque (réanimation médicale ou chirurgicale), il faut certes identifier et mesurer le niveau d'endémie des infections par la mise en place d'une surveillance régulière et continue. Il est nécessaire également d'identifier et d'analyser les facteurs de risque d'acquisition et de transmission des infections que les mesures de prévention tenteront de maîtriser (**Astagneau et Brücker, 1998**).

Actuellement, à travers de nombreuses études, les chercheurs ont remarqué que la forme la plus sévère des infections nosocomiales bactériennes est celle causée par les biofilms bactériens. Ces derniers font référence aux communautés complexes et sessiles de microbes que l'on trouve soit attachés à une surface, soit enfouis fermement dans une matrice extracellulaire sous forme d'agrégats. La matrice du biofilm entourant les bactéries les rend tolérantes aux conditions difficiles et résistantes aux traitements antibactériens. De plus, les biofilms sont responsables d'un large éventail de maladies chroniques et en raison de l'émergence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries, il est vraiment devenu difficile de les traiter efficacement (**Yannick *et al.*, 2014**).

En outre, l'émergence de bactéries multirésistantes (MDR) à un rythme alarmant paralyse constamment le système de santé dans le monde entier. Ainsi, de nouveaux agents antibactériens efficaces et des stratégies alternatives sont nécessaires de toute urgence pour combler à la fois le vide de la découverte et du développement d'antibiotiques, et la résistance des biofilms. Comparés aux médicaments chimio thérapeutiques synthétiques et à d'autres approches potentielles, les agents antibactériens naturels possèdent des avancées en matière d'accessibilité, de diversité structurelle, d'activité efficace, et de modes d'action distincts. En

effet, les agents antibactériens naturels et les analogues dominent encore les multiples classes d'antibiotiques couramment utilisés en clinique, y compris les β -lactamines, les tétracyclines, les aminoglycosides et les polypeptides. Bien que les molécules bioactives d'origine végétale aient été utilisées à diverses fins l'application pour lutter contre les bactéries MDR et restaurer l'activité des antibiotiques cliniques a longtemps été ignorée (**Song *et al.*, 2021**).

Dans ce travail on suggère que les produits naturels des plantes peuvent être un réservoir prometteur et sous-estimé pour contourner la résistance bactérienne aux antibiotiques existants ainsi que face aux biofilms bactériens. C'est pour ça, nous nous sommes intéressés dans cette étude à synthétiser les résultats des études menées sur l'évaluation des agents antimicrobienne d'origine végétal vis-à-vis des biofilms bactériens et les bactéries MDR responsables des infections liées aux soins. Nous avons également effectué une partie pratique toujours dans le même contexte d'évaluer des produits naturels, y compris les huiles essentielles, envers des souches bactériennes pathogènes multirésistantes isolées de l'environnement hospitalière.

Notre manuscrit est divisé en plusieurs parties à savoir théorique dans laquelle nous avons essayé à rédiger une synthèse bibliographique sur les infections liées aux soins, les biofilms bactériens et les produits naturels comme une solution alternative. Par la suite, nous avons présenté le matériel et méthodes utilisés dans notre pratique réalisé au sein de l'Hôpital Hakim Saaddane, ainsi que les résultats obtenus. Puis, nous avons effectué une synthèse des recherches dont les auteurs ayant s'intéressés par l'évaluation des substances naturelles d'origine végétal contre des bactéries pathogènes isolées des biofilms et les services de soins.

Partie Bibliographique

Chapitre 1. Les biofilms

1.1. Définition du biofilm

Les biofilms sont définis comme des communautés de cellules microbiennes fixées de manière irréversible à des surfaces biologiques ou inertes. (**Blaschek *et al.*, 2006**). Ces cellules sont agrégées et protégées par leur propre matrice polymérique extracellulaire sécrétée, leur croissance et leur transcription génétique sont altérées par rapport aux cellules non attachées (**Costerton, 2008**). La matrice extracellulaire des biofilms est composée d'exopolysaccharides (EPS), de protéines et d'acides nucléiques, qui sont censés fournir aux cellules une gamme d'avantages par rapport aux cellules planctoniques (**Costerton, 2008**). En effet, les micro-organismes des biofilms sont plus résistants vis-à-vis la majorité des agents antimicrobiens et les défenses immunitaires de leur hôte (**Bjarnsholt *et al.*, 2011**).

1.2. Caractéristiques des biofilms

1.2.1. Biofilm est un environnement hétérogène

Le développement tridimensionnel du biofilm conduit à la création de gradients physico-chimiques. Contrairement aux cultures réalisées en milieux liquides agités, le biofilm n'est pas un environnement homogène car il présente des zones à teneurs variables en oxygène ou en nutriments ainsi que des valeurs de PH différentes. Les régions au centre des agrégats bactériens sont généralement anaérobies et pauvres en nutriments, alors que celles situées près des canaux ou à l'extrémité du biofilm sont mieux oxygénées et plus riches en nutriments. Cette hétérogénéité physico-chimique s'accompagne d'une hétérogénéité métabolique, source de microenvironnements qui permet la coexistence organisée d'espèces bactériennes aux propriétés métaboliques différentes et souvent complémentaires (**Roux *et al.*, 2006**).

1.2.2. Bactéries du biofilm possèdent des propriétés spécifiques

De nombreux travaux ont montré que la formation d'un biofilm induit une expression différentielle des gènes, comparée à celle des bactéries libres. Par conséquent, l'ensemble des caractéristiques structurales et physico-chimiques du biofilm confère aux bactéries des propriétés spécifiques de morphologie, de croissance, de communication entre les cellules et de résistances aux biocides, distinctes de celles des bactéries planctoniques (**Roux *et al.*, 2006**).

1.3. Résistance des biofilms aux agents antimicrobiens

La résistance peut être considérée comme la capacité des micro-organismes à se reproduire en présence de biocides (antibiotiques ou conservateurs). Cette situation correspond à des cellules vivant au sein de biofilms, car ces dernières sont capables de survivre à de très fortes concentrations de biocides, mais avec une prolifération perturbée. Dans le cas de la tolérance au biofilm, cette caractéristique est phénotypique, c'est-à-dire qu'elle disparaît lorsque les bactéries qui composent le biofilm sont remises en suspension pendant la phase planctonique (Lebeaux et Ghigo, 2012).

1.3.1. Capsules ou Glycocalyx

Le glycocalyx fait partie intégrante des biofilms et a de nombreux effets sur les cellules, notamment la résistance aux antibiotiques et autres agents antibactériens. En effet, cette couche de glycocalyx accumule jusqu'à 25 % de son poids en molécules antimicrobiennes et limite leur transport. D'autre part, cette matrice est un site d'adsorption pour l'adhésion d'exoenzymes impliquées dans la dégradation des métabolites biocides, entraînant un ralentissement de l'activité des médicaments sensibles.

1.3.2. Hétérogénéité du métabolisme et taux de croissance

En effet, les changements dans le cycle de croissance bactérienne peuvent affecter le niveau de synthèse enzymatique proportionnel à la masse cellulaire. Pendant la phase stationnaire ou de croissance lente, la synthèse enzymatique cellulaire cesse. Les biocides tuent les bactéries métaboliquement actives, tandis que les bactéries en phase de croissance dormante sont moins sensibles aux antimicrobiens.

1.3.3. Phénomène de persistance montré par les cellules

Les persistants sont des populations de cellules tolérantes vis-à-vis les agents antimicrobiens et sont responsables des maladies infectieuses sévères. La détection des souches bactériennes résistantes aux agents antimicrobiens est le défi majeur dans les cliniques. L'étude sur la formation de persistants dépendants de l'ATP conclut que l'abaissement du niveau d'ATP diminue l'activité de la cible antibiotique, ce qui conduit à la résistance. Le biofilm bactérien contient des cellules persistantes qui présentent une tolérance aux médicaments multiples et aux agents bactéricides. De ce fait, les bactéries à Gram positif ou négatif à croissance lente peuvent présenter une multirésistance aux antibiotiques.

1.3.4. État métabolique des organismes dans le biofilm

La résistance du biofilm aux antibiotiques s'explique pareillement par l'imposition d'une croissance spécifique des cellules au sein de cette communauté. La disponibilité limitée des nutriments affecte la composition de la barrière et modifie l'enveloppe cellulaire bactérienne. Par la suite, une exposition aux bactéricides rend la population cellulaire résistante grâce à une adaptation phénotypique. Le stress thermique et nutritionnel chez *Escherichia coli* (*E. coli*) induit l'expression d'une résistance à la lumière UV ou H₂O₂. Un autre exemple de ce type de résistance c'est celui des Entérocoques qui régulent l'expression des enzymes antioxydantes et baisse les enzymes pro oxydatives après l'induction du stress oxydatif. Cependant, le phénotype résistant se perd lors de l'élimination du bactéricide.

1.3.5. Adaptation génétique

Dans un biofilm, les cellules s'adaptent génétiquement pour réduire leur susceptibilité et adopter le phénotype relativement protégé et distinct. Chez *E. coli*, le phénotype multirésistant est contrôlé par des opérons qui régulent la résistance multiple aux antibiotiques (*mar*) pour développer des tolérances significatives aux antibiotiques, les solvants organiques et les autres désinfectants. De plus, plusieurs gènes de défense ont été caractérisés chez *E. coli* codant pour des catalyseurs dont les superoxydes dismutases, les hydroperoxydes réductases et les alkyl glutathion réductases ainsi que les enzymes de réparation de l'ADN. En outre, divers gènes régulateurs tels que *l'oxyR* et *le soxR* ont été caractérisés, par la détermination du potentiel redox intracellulaire et activent une réponse au stress lorsque les cellules sont soumises à des agents oxydants. A titre d'exemple celui de *M. tuberculosis* qui adopte un état de dormance face aux conditions environnementales stressantes non reconnu par les médicaments antituberculeux.

1.3.6. Détection du quorum (signalisation de cellule à cellule)

La détection du quorum (QS) est un processus d'interaction cellule-à-cellule qui régule le comportement des bactéries via un auto inducteur tel que lactone d'acyle homosérine (LAHL). Chez les bactéries à Gram positif, les cellules sécrètent grâce au QS des peptides en tant que composés de signalisation et un système de régulation (récepteur de l'histidine kinase lié à la membrane et régulateur de réponse intracellulaire) pour détecter les changements requis dans le modèle d'expression des gènes et les peptides.

1.3.7. Réponses au stress

La réponse au stress dans le biofilm est caractérisée par plusieurs changements dans la physiologie et la morphologie bactériennes. Elle contrôle la formation de l'enveloppe cellulaire et la synthèse de fimbriae minces et agrégatives. Cependant, cette réponse fonctionne comme un facteur préventif des dommages cellulaires plutôt que de réparation. L'altération des gènes exprimée en raison de la réponse générale au stress des cellules du biofilm peut provoquer une augmentation de la résistance envers les biocides.

1.3.8. Structure de la membrane externe

Etant donné que les agents antibactériens doivent pénétrer dans le cytoplasme pour atteindre leur cible, toute modification de l'enveloppe cellulaire entraîne la résistance de cellules. Les agents antibactériens hydrophiles sont principalement empêchés d'entrer par la membrane externe par la couche de lipopolysaccharides et les phospholipides sous-jacents, tandis que les protéines de la membrane externe excluent les agents hydrophobes.

1.4. Moyens de lutte contre les biofilms

Les antibiotiques développés jusqu'à présent sont inefficaces pour traiter les infections liées aux biofilms. Leur éradication exige ainsi l'augmentation des concentrations minimales inhibitrices (CMI) et concentrations minimales bactéricides (CMB), ce qui risquent d'entraîner une toxicité *in vivo*. Par conséquent, il est extrêmement important de concevoir ou de cribler des molécules anti-biofilm qui peuvent efficacement minimiser et éradiquer ces infections liées aux biofilms (Roy *et al.*, 2018).

1.4.1. Antibiothérapie

Les biofilms sont caractérisés par des propriétés d'antibiorésistance élevée car leur sensibilité aux antibiotiques n'est pas la même d'une bactérie à une autre, elle se diffère selon son mode de vie planctonique ou en biofilm. Cette sensibilité est mesurée selon des techniques standardisées définies par le National Committee Clinical Laboratory Standards (NCCLS) en déterminant la Concentration Minimale d'Eradication du Biofilm (CMEB). Actuellement, les chercheurs dans le domaine d'antibiothérapie tentent de trouver des moyens de lutte contre l'antibiorésistance des biofilms. Les chercheurs ont trouvé que certaines molécules pénètrent bien dans le biofilm telles que les fluoroquinolones et la rifampicine. D'autres études ont également montré que l'association amoxicilline- acide clavulanique pénètre bien dans le biofilm. De même, la fosfomycine, la ciprofloxacine et les macrolides ont montré leur

efficacité dans la minimisation des exo polysaccharides du biofilm. Ils favorisent alors la pénétration des autres antibiotiques (**Bezoui, 1991**).

1.4.2. Peptides antimicrobiens (AMP)

Les AMP sont de courts peptides amphiphiles composés de 12 à 100 acides aminés présents dans la première ligne de défense de multiples organismes tel que les plantes. Les AMP empêchent la formation des biofilms en perturbant la membrane cellulaire bactérienne sans interférer avec les cellules hôtes. Le mécanisme d'action des AMP responsables de leur activité antibactérienne se base sur l'intégration et la perturbation consécutive de la bicouche phospholipidique des cellules bactérienne, par différentes voies. La meilleure stratégie pour une activité antialissure réussie est obtenue en empêchant la fixation initiale d'agents microbiens, soit par des approches antiadhésives, soit des bactéricides ou des bactériostatiques. Les techniques d'immobilisation pour lier les AMP sur des surfaces se sont avérées pertinentes pour déterminer les niveaux de performance. L'immobilisation peut être réalisée par des stratégies différentes, soit par des méthodes physiques (adsorption, couche par couche (LbL) ou des méthodes chimiques (liaison covalente, monocouches auto-assemblées (SAM)). Les développements récents ont tendance à se concentrer sur les approches d'immobilisation covalente pour le revêtement des surfaces en raison de la stabilité et de l'efficacité accrues de l'activité antimicrobienne, associées à une diminution des niveaux de toxicité et de la diffusion de l'AMP. Un autre facteur important à considérer lors de l'immobilisation des AMP sur des surfaces réside dans les faibles concentrations de surface nécessaires pour une efficacité antimicrobienne optimale (**Nicolas *et al.*, 2021**).

1.4.3. Surfaces anti-adhérentes

Une autre approche pour inhiber la formation des biofilms c'est de minimiser l'adhérence bactérienne aux surfaces abiotiques par le développement de matériaux anti adhésive. Cette démarche est souvent utilisée en association avec l'administration d'antibiotiques ou d'antimicrobiens, une double stratégie cible à empêcher les bactéries planctoniques de se fixer facilement à la surface de l'implant tout en permettant de tuer la population sensible aux antibiotiques. La première stratégie peut être accomplie soit en modifiant les propriétés physiques de surface (telles que l'hydrophobicité/ hydrophilicité, la texture, la charge et la rugosité) de sorte que les bactéries ne soient plus capables de se fixer facilement (**Bhattacharya *et al.*, 2015**).

1.4.4. Vaccination

La finalité de cette vaccination est d'immuniser un individu contre certains antigènes bactériens exprimés lors de l'adhérence initiale ou dans le biofilm mature afin d'empêcher le développement du biofilm. Des travaux *in vitro* et *in vivo* ont montré que cette approche réduisait le risque de colonisation et d'infection des voies urinaires en ciblant des adhésines impliquées chez des souches uropathogènes d'*E. coli*, et plusieurs vaccins ciblant *staphylococcus aureus* (*S.aureus*) ou *Staphylococcus epidermidis* (*S.epidermidis*) sont en cours de développement. Cette vaccination pourrait concerner des patients pour lesquels on compte implanter un matériel tel que stimulateur cardiaque, valve cardiaque mécanique ou prothèse articulaire, ou encore chez les patients à risque d'infection chronique (mucoviscidose, infection urinaire) (Lebeaux et Ghigo, 2012).

Chapitre 2. Infections nosocomiales

2.1. Définition

Une infection est définie comme nosocomiale si elle provenait d'un milieu hospitalier n'était ni ne présente ni n'avait eu de période d'incubation à l'admission et est apparue 48 heures ou plus après l'admission (**Razine et al., 2012**). Les infections liées aux soins sont souvent associées à des séjours hospitaliers prolongés et constituent un facteur de risque majeure de développement des problèmes neurologique et de décès (**Legeay et al., 2015**).

2.2. Epidémiologie

Les infections nosocomiales sont parmi les soucis les plus importants dans les unités de soins intensifs. Pour cette raison, il est important de comprendre l'épidémiologie de ces infections et leur l'impact sur les patients gravement malades (**Olaechea et al., 2009**). En Europe, les infections nosocomiales touchent 4,1 millions de personnes et causent 40 000 décès chaque année (**Albrecht, 2018**). La morbidité globale dans l'unité de soins intensifs variait de 6,9% à 19,9% des patients hospitalisés dont la fréquence et le type varient considérablement d'un service hospitalier à l'autre (**Oubihi, 1987**)

Une étude multicentrique a été menée dans 27 hôpitaux en Algérie, en Égypte, en Italie, au Maroc et en Tunisie pour évaluer la prévalence et les caractéristiques des infections nosocomiales. La population étudiée (4634 patients) était relativement jeune, avec un âge moyen de 41,1 ans (écart-type [SD] 23,4). Le taux des infections nosocomiales était de 10,5 % constaté beaucoup plus dans les centres non universitaires et les hôpitaux de taille moyenne. Dans l'ensemble, les infections liées aux soins sont fréquentes dans les services d'urologie et en pédiatrie (11,3 %). Les bactéries les plus fréquemment isolées étaient *Escherichia coli* (17,2 %), *Staphylococcus aureus* (12,5 %), *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) et *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) (9,2 % chacune).

Au jour de l'enquête, 40,7 % des patients recevaient des antibiotiques, et près de la moitié d'entre eux avaient des indications éprouvées. L'incidence des infections nosocomiales était significativement associée à la ventilation mécanique, à une hospitalisation de 8 jours ou plus, aux cathéters centraux ou périphériques, aux cathéters urinaires, au diabète et à l'âge (**Amazian et al., 2010**).

2.3. Voies de transmission

2.3.1. Voie endogène

Le patient s'infecte avec ses propres germes lors d'un acte invasif et / ou du fait de vulnérabilités particulières (traitement antibiotique, état d'immunodépression). On parle alors d'auto-infection (**Lemsanni, 2016**). Les complications des infections respiratoires associées au décubitus et leur impact sur le drainage des voies aériennes peuvent être des auto-infections. Une bactériémie due aux bactéries intestinales hébergées par des patients immunodéprimés est une auto-infection (**Kone, 2011**).

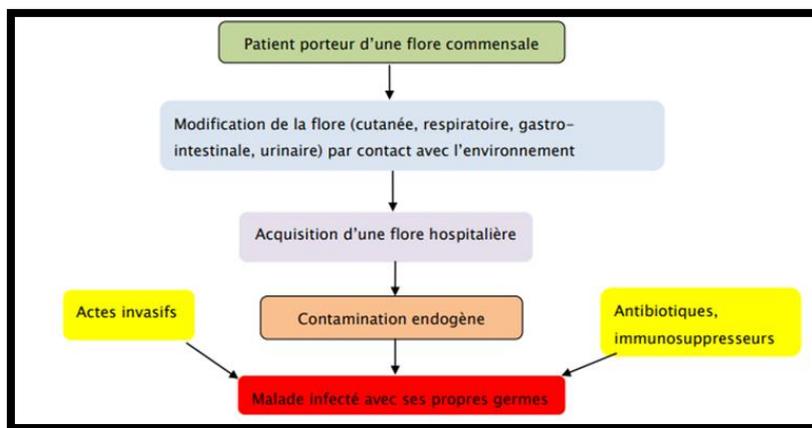


Figure 1. Infections nosocomiales d'origine endogène (**Lemsanni, 2016**).

2.3.2. Voie exogène

Cette voie inclut celles de contamination du patient impliquant des micro-organismes qui peuvent être retrouvés (**Baudin, 2012**) :

- ❖ Chez un autre patient, atteint d'une maladie « contagieuse » qui peut être transmise à un ou plusieurs autres patients dans une structure médicale proche : même chambre, même couloir, même site d'examen. Dans ce cas, on peut classer la transmission nosocomiale de la tuberculose, de la varicelle, de la rougeole ou de la grippe (**Aba et al., 2016**).
- ❖ Chez le personnel soignant qui peut être colonisé soit par l'environnement matériel soit par un patient colonisé ou déjà infecté (**Zeroual, 2012**). On parle d'infections manuportées qui peuvent transmettre des microbes même lorsque les mains sont soigneusement désinfectées (**Chalfine et Carlet, 2002**).
- ❖ Dans l'environnement hospitalier où les infections liées à ce pathogène sont majoritairement associées à des patients affaiblis, notamment des patients

immunodéprimés : légionellose à partir du réseau d'eau chaude par aérosolisation, aspergillose à partir des poussières produites par des travaux à proximité (Aba *et al.*, 2016).

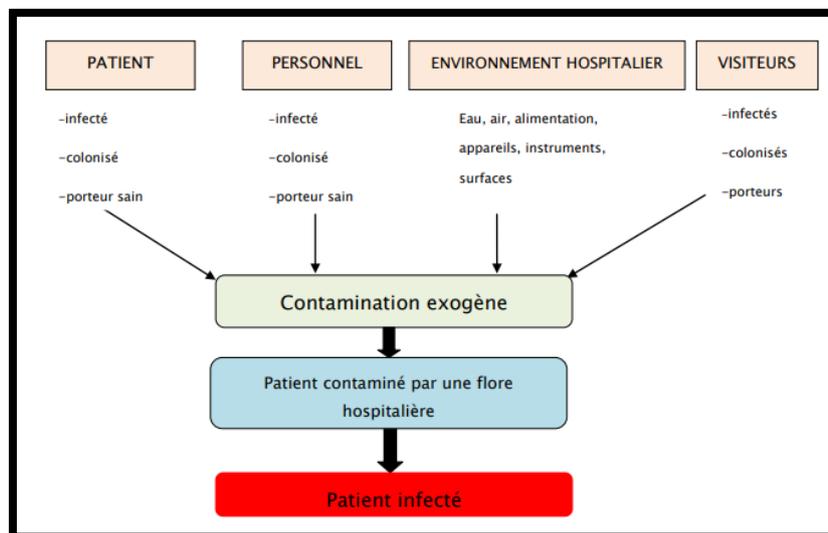


Figure 2. Infections nosocomiales d'origine exogène (Lemsanni, 2016).

2.4. Types d'infections nosocomiales

2.4.1. Infections urinaires

Les infections urinaires sont les infections qui constituent selon les études 20 à 50 % des infections nosocomiales (Riegel, 2003), et qui regroupent un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants de l'arbre urinaire ou de ses annexes. On admet que la bactériurie est positive quand elle est à $\geq 10^5 \text{ ufc mL}^{-1}$ (Lobel et Soussy, 2007). Les infections urinaires sont plus prononcées lorsque les patients sont plus jeunes, et s'atténuant entre 55 et 74 ans. Les symptômes peuvent être : des brûlures urinaires, mictions impérieuses, dysurie, pollakiurie, hématurie macroscopique, pesanteurs lombaire et/ou pelvienne post mictionnelles (Kremer, Vogel, 2003).

Les résultats d'Andreu *et al* ont montré qu'*Escherichia coli* est l'agent causal le plus fréquent dans les cystites non compliquées (86 %) et jusqu'à 90 % des pyélonéphrites non compliquées. Cependant, pour les infections urinaires compliquées, *E. coli* reste le principal agent pathogène causal mais d'autres bacilles à Gram négatif tel que *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter spp* représentent 11 %, et *Pseudomonas aeruginosa* 8 %. Les bactéries Gram positives jouent également un rôle dans les infections des voies urinaires associées aux cathéters urinaires (CAUTI) avec les **Streptocoques** du groupe D responsables de 19%

d'entre eux, et *Staphylococcus aureus* 4 % (Vásquez *et al.*, 2017). Le traitement comprend une antibiothérapie à large spectre notamment une céphalosporine dont l'effet secondaire est la sélection de bactéries multirésistantes (Riegel, 2003).

2.4.2. Infections pulmonaires

Les pneumonies nosocomiales (PN) sont la première cause de prescription d'antibiotiques en réanimation. La contamination se fait par le passage des germes colonisant l'oropharynx dans les voies aériennes sous glottiques (Bessermann, 2014). Les bacilles à Gram négatif sont les bactéries majoritairement impliquées (60 % des PN). *Pseudomonas spp* arrive largement en tête (30 %), devant *Acinetobacter spp* (10 % à 12 %), et les entérobactéries des groupes *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia* (8 %). Parmi les cocci à Gram positif, on trouve *Staphylococcus aureus* 30 % et *Staphylococcus epidermidis* 10%.

En ce qui concerne le traitement, L'antibiothérapie doit être réévaluée entre le troisième et le cinquième jour en fonction des symptômes, radiologiques, et des résultats des prélèvements bactériologiques. Les antibiotiques concernés sont sélectionnés soit au vu de l'antibiogramme, soit en fonction des critères suivants (Tarodo de la Fuente, 1999)

2.4.3. Infections du site opératoire

Les infections du site opératoire (ISO) sont définies comme des infections survenant dans les 30 jours suivant une opération chirurgicale (ou dans l'année si un implant est laissé en place après la chirurgie) et affectant soit l'incision, soit les tissus profonds sur le site chirurgical. Ces infections peuvent être (Owens et Stoessel, 2008).

L'origine de L'infection est soit exogène (air, matériel médical, chirurgiens et autres soignants), soit endogène (flore cutanée ou flore présente sur le site opératoire ou, dans de rares cas, sang utilisé en peropératoire) (Ducel *et al.*, 2008). Les agents pathogènes courants qui causent les ISO sont *Staphylococcus aureus*, les staphylocoques à coagulase négative (en particulier après une chirurgie implantaire) et les entérobactéries/anaérobies après une chirurgie colorectale (Leaper *et al.*, 2017).

Pour lutter contre ces infections, des précautions particulières doivent être en préopératoire, au bloc et durant la période postopératoire (Al-Hajje *et al.*, 2012). Des instruments, des systèmes de ventilation efficaces, une utilisation appropriée de la tenue chirurgicale et la qualité des matériaux qui la composent, une préparation correcte du patient avant l'intervention et un personnel formé, sont indispensables pour garantir un faible niveau de

contamination bactérienne. Une prophylaxie antibiotique bien sélectionnée peut protéger les patients contre les infections postopératoires en réduisant la charge bactérienne sur le site chirurgical au moment de l'opération (**Giudice *et al.*, 2019**).

2.4.4. Infections liées aux cathéters

Le cathétérisme veineux concerne soit les veines superficielles, on parle alors de cathétérisme veineux périphérique (CVP) soit les troncs veineux profonds, on parle dans ce cas de cathétérisme veineux central (CVC) (**Niangado, 2021**). Les infections associées aux cathéters veineux centraux représentent un problème de santé majeur et peuvent entraîner des complications comme la bactériémie (**Gaudy *et al.*, 2011**).

La contamination s'effectue lors de l'insertion du cathéter, par la flore cutanée du patient ou du professionnel, par des antiseptiques contaminés ou par un cathéter dont l'intégrité de l'emballage n'est pas respectée. Elle peut aussi s'effectuer par des produits injectés dans le sang à partir d'un foyer infectieux éloignés (**Dupont *et al.*, 2008**).

Les bactéries les plus couramment rencontrés sont les **staphylocoques** à coagulase positive, comme *Staphylococcus aureus*, et les **staphylocoques** à coagulase-négative (**Vella, 2021**). Des bactéries à Gram négatif peuvent également être impliquées : *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*, *Serratia spp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter spp*. Ces bactéries proviennent plutôt du tube digestif par translocation ou contamination des solutions perfusées (**Er-Rahmany, 2010**).

Le traitement nécessite le retrait du cathéter, une antibiothérapie à large spectre secondairement adaptée à l'antibiogramme qui est commencée dès qu'un sepsis/choc septique ou une neutropénie est suspecté (association bêtalactamine à large spectre + vancomycine + amikacine), sinon on attend les premiers résultats bactériologiques (**Yapo *et al.*, 2016**).

2.5. Prévention des infections nosocomiales

Pour prévenir et contrôler les infections nosocomiales, des modèles efficaces pour améliorer la sécurité des patients et réduire les infections nosocomiales consistent en :

- ❖ Une surveillance continue du taux d'infection, de l'écologie bactérienne locale et l'identification épidémiologique pour construire des systèmes éducatifs et améliorer les soins.
- ❖ Une conception stratégique des unités de soins et une organisation rationnelle du travail de l'équipe soignante pour éviter l'encombrement et la surcharge de travail.

- ❖ Une utilisation prudente des agents antimicrobiens en tenant compte de l'écologie locale et du type de résistances bactériennes qui se développe (**Dachy et Battisti, 2014**).
- ❖ Une bonne hygiène de tous les membres du personnel : des ongles propres et court, des cheveux courts ou attachés, une barbe et un moustache propres et taillées court (**Ducel et al., 2008**).
- ❖ Une bonne hygiène des mains qui nécessite la connaissance des méthodes de lavage et de désinfection (**Arfaoui et al., 2008**), car c'est la mesure la plus importante dans le contrôle des infections (**Saloojee et Steenho, 2001**).
- ❖ Une tenue de travail en tissu facile à laver et à décontaminer, qui devra être changée après une exposition au sang ou après avoir été mouillée par une transpiration excessive ou une exposition à des liquides (**Ducel et al., 2008**).
- ❖ L'utilisation des gants à usage unique pour prévenir la transmission d'agents pathogènes et protéger les utilisateurs et les travailleurs de la santé en cas de contact avec des matières infectieuses, des fluides biologiques, une peau non intacte ou des surfaces contaminées (**Leroux et al., 2018**).
- ❖ L'exigence des mêmes précautions de la chirurgie (la désinfection des mains et du site d'insertion...etc.), lors de la mise en place et la manipulation des cathéters veineux (**Saloojee et Steenho, 2001**).

Partie Expérimentale

Chapitre 3. Matériel et Méthodes

3.1. Présentation de lieu d'étude

Cette enquête scientifique a été réalisée au niveau de l'établissement public hospitalier (EPH) « HAKIM SAADANE » (**Figure 03**), de la wilaya de Biskra (Nord-est du Sahara algérien). Cet hôpital dispose de 204 lits techniques (192 lits organisés) et comprend 6 services d'hospitalisations (Les urgences, Bloc opératoire, Réanimation, Médecine interne, Cardiologie, Pneumo-physiologie, Oncologie, Psychiatrie, Pédiatrie). De plus, il comprend une unité d'hospitalisation à domicile, une unité de traitement de cancer du sein, un service d'imagerie médicale, deux Laboratoires (hématologie-biochimie et bactériologie), un service de pharmacie, 4 départements administratifs et une morgue d'une capacité de 5 tiroirs.



Figure 3. L'établissement public hospitalier "HAKIM SAADANE".

3.2. Sites de prélèvement et d'échantillonnage

Le prélèvement est la clé du diagnostic bactériologique qui doit être effectué dans des conditions optimales de stérilité bactériologique. Parmi les méthodes utilisées, on a choisi la méthode d'écouvillonnage (**Benabdelhafid, 2020**).

Des prélèvements écologiques ont été effectués pour faire l'échantillonnage à l'aide des écouvillons stériles et remplis avec du BN (bouillon nutritif), au niveau des différents services (**tableau1**) selon les étapes suivantes :

- ❖ Se laver les mains
- ❖ Mettre des gants à usage unique.
- ❖ Porter un masque à usage unique pour éviter le risque d'inhalation d'agents pathogènes.
- ❖ Ouvrir et déplacer l'écouvillon sur la surface du site choisi verticalement et horizontalement jusqu'à ce que la couleur du coton passe du blanc au jaune sale.
- ❖ Remettre l'écouvillon dans le tube et le fermer.
- ❖ Le total est de 18 échantillons de plusieurs sites les plus suspects d'être contaminés par des bactéries infectieuses formatrices de biofilm (**Figure 04**).



Figure 4. Exemples des sites de prélèvement des surfaces hospitalières

1. sol ; 2. Poignée de porte ; 3. Lit du malade ; 4. Pognée suspendu ; 5. Lavabo ; 6. Table de réanimation.

Tableau 1. Sites et services de prélèvement.

Site	Service
Lits	Femme / Pédiatrie
Sol	Femme
Poignet de porte	Femme / Pédiatrie
Poignet suspend	Femme
Chariot	Cardiologie / Réanimation
Table malade	Homme / Réanimation / Pédiatrie
Mur	Pédiatrie
Paillasse	Pneumonie
Lavabo	Cardiologie / Réanimation
Respirateur	Réanimation
Cathéter	Femme / pédiatrie

3.3. Milieux de cultures utilisés

Les micro-organismes ont besoin des aliments pour se développer. Ces aliments sont fournis au laboratoire par des milieux nutritifs ou milieux de culture qui sont soit liquides, soit solides. Les milieux solides présentent un grand intérêt, lorsque la technique d'ensemencement est appropriée, ils permettent aux bactéries de se développer en colonies distinctes issues en principe de la multiplication d'une seule bactérie (clone), et à partir desquelles des cultures pures peuvent être obtenues (**Boussena, 2020**)

Bouillon nutritif (BN)

Le bouillon nutritif est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes moins exigeants. Ce milieu est constitué de 7,5 g de peptone ; 1,5 g d'extrait de levure ; 3 g de NaCl ; et 0,5 g de glucose. Le pH est ajusté à 7,5 à température de 37°C pour 500 ml d'eau distillée (**Obame Engonga, 2009**).

Mueller Hinton (MH)

C'est la gélose la plus communément utilisée pour l'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques (l'antibiogramme) (**Denis et al., 2011**).

Gélose Chapman

La gélose Chapman est un milieu sélectif pour l'isolement et la numération des staphylocoques. Il distingue les espèces qui fermentant le mannitol de celles qui ne le fermentent pas. La sélectivité de ce milieu est basée sur la présence de chlorure de sodium qui inhibe la plupart des bactéries à Gram (+) et Gram (-). La différenciation des *Staphylocoques* repose sur leur capacité à fermenter le mannitol ou non. S'il y a fermentation, cela provoque une acidification qui entraîne une coloration jaune du milieu en présence de rouge de phénol (indicateur de pH) (**Bio-rad, 2011**).

Gélose nutritive

C'est un milieu largement utilisé pour la culture des micro-organismes non exigeants. Elle est recommandée pour une utilisation dans de nombreuses méthodes analytiques standardisées pour les aliments, les produits laitiers, l'eau et d'autres produits (**Denis et al., 2011**).

Gélose Hektoen

Hektoen est un Milieu sélectif pour l'isolement des entérobactéries pathogène utilisé après un bain-marie à 100°C pendant une heure pour fondre la gélose (**Amairi, 2021**). Les indicateurs présents dans ce milieu : le bleu de bromothymol et la fuchsine acide ils indiquent la dissimilation des glucides (lactose, saccharose, salicine), le fer ferrique comme indicateur de la formation d'hydrogène sulfuré (H₂S) à partir de thiosulfate.

Gélose BCP

La gélose BCP (Bromo Crésol Pourpre) est un milieu lactosé non sélectif, utilisé principalement pour la culture des bacilles à Gram négatif non exigeants. La présence de lactose et de bromocrésol pourpre permet de comprendre les propriétés lactose des bactéries, donc il est facile de constater que la suspension de la colonie suspecte contient également des bactéries lactose + (**Site web 1**).

3.4. Revivification

La revivification des souches a été effectuée par ensemencement dans 5 ml de bouillon nutritif (BN) à l'aide d'une anse de platine. Les tubes sont ensuite incubés à 37°C pendant 24h.

3.4.1. Mise en culture et isolement

Le but de l'isolement est d'obtenir des colonies distinctes pour chaque micro-organisme différent. Pendant l'incubation, chaque micro-organisme déposé se multiplie pour produire un clone de cellules identiques. Lorsque les microorganismes déposés sont suffisamment éloignés, le clone se développe abondamment pour produire une colonie (amas de cellules identiques) (**Aminetou Bent et Sidi Baba, 2007**).

Dans cette étape, l'ensemencement de bouillon nutritif (BN) enrichi a été effectué sur des milieux sélectifs (GN, Chapman, Hektoen, Bcp) selon les étapes suivantes :

- ❖ Numéroté les boîtes (au niveau de la couvercle) selon l'endroit de prélèvement.
- ❖ Prélever une fraction de l'inoculum à l'aide d'écouvillon.
- ❖ Ouvrir la boîte et déposer la pointe d'écouvillon au point initial (**Figure 5**)
- ❖ Faire des stries serrées sans rayer la gélose sur le premier demi-cercle (partiel).
- ❖ Tourner la boîte à chaque fois d'un quart de tour et faire des stries serrées sur le deuxième troisième et quatrième demi- cercle successivement (partie 2,3 et 4), comme montré dans la **figure 5**.
- ❖ Refermer la boîte et la déposer dans l'étuve pendant 24h à 37 °C (couvercle vers le bas).



Figure 5. L'ensemencement sur les milieux sélectifs.

3.4.2. Purification des souches

Cette étape est réalisée afin d'obtenir la pureté des souches avant d'entamer l'identification. Chaque culture souche revivifiée précédemment a été ensemencée sur GN avec une pipette Pasteur et incubée à l'étuve pendant 24 h à 37 °C.

3.5. Conservation des souches

Le but de cette étape est de garder les souches étudiées pour les réutiliser plus tard. La conservation des souches pures a été effectuée sur gélose inclinée, par stries en utilisant l'anse de platine (**figure 6**). Après incubation pendant 24h à 37 °C, les tubes sont conservés à 4°C.

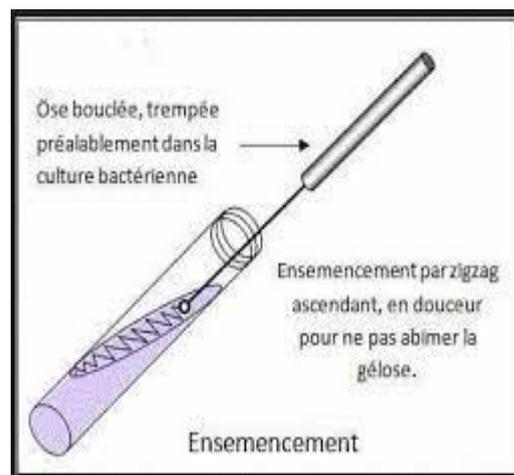


Figure 6. Méthode d'ensemencement sur gélose inclinée

3.6. Identification

3.6.1. Etude des caractères cultureux (aspect macroscopique)

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Cette étude est basée sur des observations à l'œil nu et macroscopiques permettant de différencier les caractéristiques des souches étudiées (l'aspect de colonies caractéristiques de chaque espèce bactérienne est l'un des premiers critères d'identification) **(Boussena., 2020).**

3.6.2. Etude des caractères morphologiques (aspect microscopique)

3.6.2.1. Etat frais

L'état frais permet l'étude microscopique des bactéries vivantes, en l'absence de toute fixation ou coloration. Cette méthode permet d'observer :

- ❖ La morphologie des bactéries.
- ❖ Le mode de groupement.
- ❖ La mobilité.
- ❖ La densité ou proportion de chaque microorganisme en cas de mélange.

3.6.2.2. Coloration de Gram

Cet examen repose sur les différences de composition de la paroi bactérienne fixées sur une lame de microscope, les composants cytoplasmiques des bactéries sont colorés avec le colorant de Gram (violet de gentiane). Lors du rinçage à l'alcool effectué par la suite, les bactéries Gram- dont la paroi pauvre en peptidoglycane est perméable à l'alcool sont décolorées. Les bactéries Gram+ quant à elles, conservent la coloration violette en raison de l'épaisse paroi de peptidoglycane qui les entoure. Afin de faciliter l'observation des bactéries Gram-, une nouvelle coloration à la fuscine ou à la safranine les fait paraître roses. **(Templier., 2016).**

La coloration de Gram confirme constamment le diagnostic, mais sa lecture est plus difficile pour un œil non averti si elle n'a pas été précédée par l'examen direct à l'état frais.

3.6.3. Etude des caractères biochimiques

C'est l'identification définitive peut être obtenue par l'étude de caractères biochimiques grâce à des méthodes conventionnelles qui permettent d'explorer le métabolisme des hydrates de carbone (fermentation, hydrolyse), le métabolisme protéique (présence d'une nitrate réductase, production d'indole, hydrolyse de l'urée et de la gélatine, action sur le lait), le métabolisme des lipides (lécithinase, lipase) et le métabolisme du soufre (production d'hydrogène sulfuré). Alternativement, des galeries commercialisées permettant l'étude de certains de ces caractères ou la détection d'enzymes préformées peuvent être utilisés mais leur emploi nécessite une bonne connaissance des caractères phénotypiques en raison de bases de données parfois incomplètes (Matuszewski., 2009).

3.6.3.1. Galerie Api 10s

API 10 S est un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif non exigeantes, il comprend 11 tests biochimiques miniaturisés, ainsi qu'une base de données (Site web 2).

3.6.3.2. Test DNase

Le test DNase a été effectué en incubant les isolats pendant 24 heures à 37 ° C sur une gélose DNase et en versant un excès (~ 15 ml) de 1N HCl. L'excès d'acide a été éliminé avec une pipette à vide.

3.6.3.3. Test catalase

Le test de la catalase permet de détecter l'enzyme catalase dans les bactéries. Il est essentiel pour différencier les *Micrococcaceae* catalase-positifs des *Streptococcaceae* catalase-négatifs. Bien qu'il soit principalement utile pour différencier les genres, il est également utile pour la spéciation de certains organismes à gram positif tels que *Aerococcus urinae* (positif) et *Aerococcus viridians* (négatif). Certains ont rapporté sa valeur dans la différenciation présomptive parmi certaines *Enterobacteriaceae*. Le test de la catalase est également utile pour différencier les bactéries aérobies des bactéries anaérobies obligatoires, car les anaérobies sont généralement connus pour ne pas avoir cette enzyme (Reiner., 2010).

3.6.3.4. Test oxydase

C'est un test de détection de l'enzyme cytochrome oxydase chez les bactéries Gram négative qui produisent cette enzyme, telles que *Neisseria* ou *Pseudomonas* (**Site web 3**).

3.7. Antibiogramme

L'antibiogramme est un test spécial en biologie clinique car il cible les organismes infectieux et non les humains. Il constitue un outil de mesure de la résistance bactérienne. Sa pratique et son interprétation nécessitent des connaissances cliniques, pharmacologiques, bactériologiques, biochimiques et génétiques approfondies (**Marcel., 2005**). Un antibiogramme hospitalier est un résumé périodique des susceptibilités antimicrobiennes des isolats bactériens locaux soumis au laboratoire de microbiologie clinique de l'hôpital. Les antibiogrammes sont souvent utilisés par les cliniciens pour évaluer les taux de susceptibilité locaux, comme aide au choix de l'antibiothérapie empirique et pour surveiller les tendances de résistance au fil du temps au sein d'un établissement (**Joshi., 2010**).

3.7.1. Mode Opérateur

- ❖ Dans la zone stérile (20cm du Bec Bunsen une colonie isolée de chaque souche cultivée est prélevée à l'aide d'un écouvillon.
- ❖ Encoremencement de la colonie isolée dans GN puis incubation 24h.
- ❖ S'assurer de la pureté de la colonie.
- ❖ Encoremencement de la culture jeune dans gélose MH.
- ❖ Placement des disques d'antibiotiques dans chaque boîte selon les standardisations de chaque souche bactérienne
- ❖ Incubation 18h
- ❖ Lecture des résultats (**Figure 07**)



Figure 7. Réalisation de l'antibiogramme.

3.8. Aromatogramme

C'est une méthode *in vitro* pour mesurer la capacité antibactérienne des HE. Ce test est équivalent à l'antibiogramme remplacé par l'HE précédemment sélectionnée et reconnue. Bien que rarement utilisée de nos jours, l'antibiogramme peut démontrer le puissant pouvoir anti-infectieux des huiles essentielles (Da Silva., 2010).

3.8.1. Mode opératoire

- ❖ Dans la zone stérile (20cm du Bec Bunsen) et à l'aide d'une pipette pasteur un puit est creusé dans la gélose MH préalablement encemencée avec une colonie bactérienne isolée.
- ❖ A l'aide de la micropipette un volume 10ul de l'HE est mis dans le puit creusé.
- ❖ Incubation des boîtes pendant 18h à l'étuve 37°C.
- ❖ Lecture des résultats. (**Figure 08**)



Figure 8. Réalisation de l'aromatogramme.

3.9. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) : la plus petite concentration d'un agent antibactérien suffisante pour inhiber la croissance visible d'une souche de bactéries au laboratoire, c'est-à-dire *in vitro* (Morel, 2017).

3.9.1. Mode opératoire

- ❖ Préparation de l'inoculum
- ❖ Une colonie isolée de chaque culture bactérienne jeune estensemencée dans 5ml de bouillon MH stérile et incubée 24h à l'étuve 37°C.

- ❖ Un volume de 20ul de MH stérile est ajouté à l'inoculum.
- ❖ Agitation. (Figure 09)

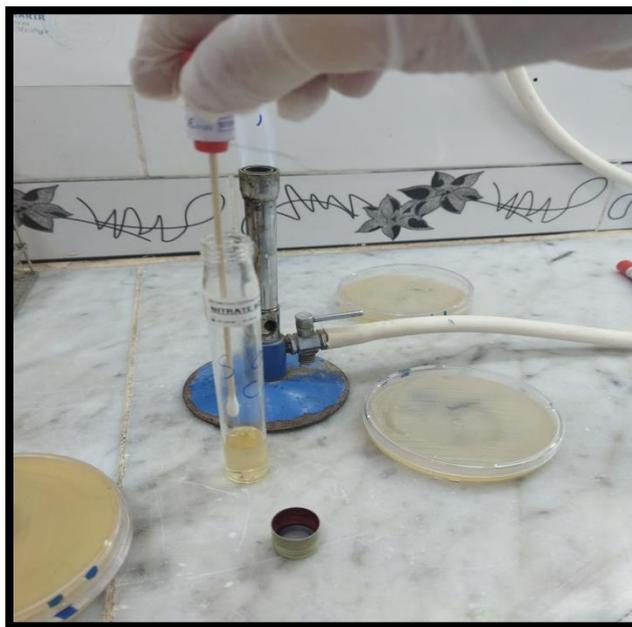


Figure 9. Préparation d'inoculum

- ❖ Dans un premier tube à hémolyse la solution mère de volume totale 500ul est composée de 200ul de HE+5ul de l'émulsifiant Tween80+295ul bouillon MH). La solution mère a été diluée 9 fois successivement par des dilutions $\frac{1}{2}$. Un mélange de bouillon MH et Tween80 à 1% a été préparé et ajouté dans des tubes à hémolyse stériles dans le but d'obtenir des concentrations entre 40 % et 0.08% et une concentration de Tween 80 fixée à 1%.
- ❖ Ensuite dans une microplaque un volume de 10ul est pris de la solution mère et mis dans le premier puit de la microplaque. La même quantité de chaque dilution est mise dans les puits restants en-respectant l'ordre.
- ❖ Un volume 90ul de l'inoculum est ajouté à chaque puit.
- ❖ Agitation manuelle.
- ❖ Incubation 24h
- ❖ Lecture des résultats. (Figure 10)

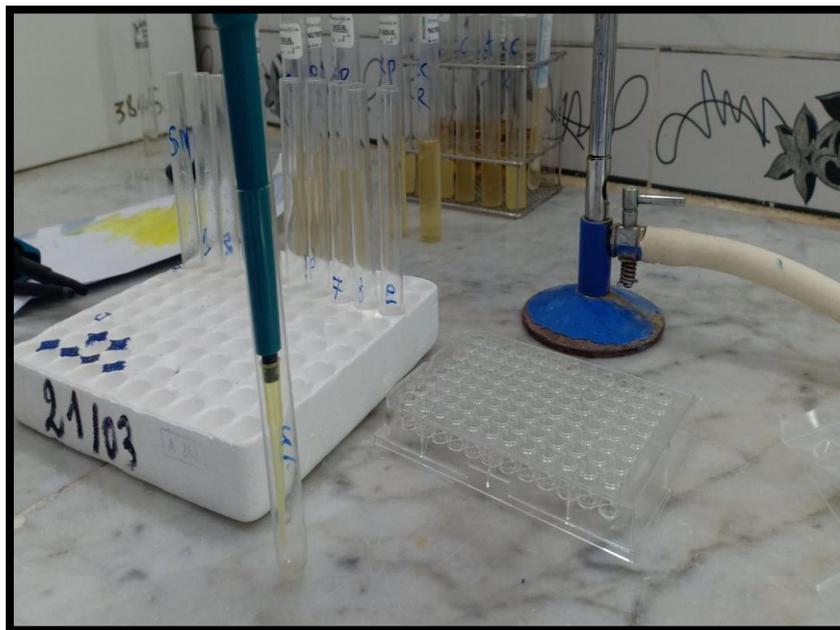


Figure 10. Préparation des dilutions

3.10. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la formation des biofilms (CMIB)

Le test en tube et le test sur microplaque sont les techniques les plus fréquemment utilisées pour quantifier la formation de biofilm, un indicateur important de la pathogénicité des bactéries. Le but de la présente étude était de développer une technique de microplaque pour la quantification de la formation de biofilm (Stepanovic *et al.*, 2000). Dans le présent travail, nous avons mis en évidence la formation du biofilm en référence à une méthode utilisées pour la détection du biofilm.

3.10.1. Mode opératoire

- ❖ Après l'incubation de la microplaque et la lecture des résultats à l'aide d'une micropipette un volume 150 μ l de cristal violet à 0.4 % est ajouté dans chaque puits durant 10 à 15 min dans le but de colorer les bactéries formatrices de biofilms.
- ❖ Les puits colorés ont été rincés 5 fois à l'eau distillé pour éliminer l'excès de cristal violet.
- ❖ Ensuite, un autre volume de 150 μ l d'éthanol à 99 % est ajouté dans chaque puits avec une agitation de 10 minutes.
- ❖ Lecture des résultats.

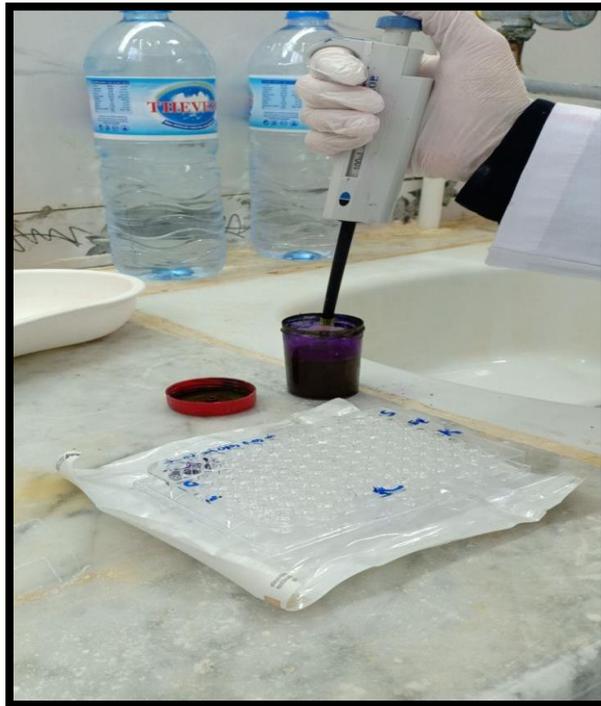


Figure 11. Réalisation de la CMIB

Chapitre 4. Résultats

4.1. Identification

Après l'analyse des échantillons prélevés des différentes surfaces de l'hôpital, 5 isolats bactériens d'origine nosocomiale ont été choisis pour y tester l'activité antimicrobienne de l'HE *Thymbra capitata* (*T.capitata*) (tableau 2).

Tableau 2. Les souches sélectionnées.

Gram	Souche
Bactéries Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> (<i>S.aureus</i>)
Bactéries Gram (-)	<i>Enterobacter cloacae</i> (<i>E.cloacae</i>) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (<i>P.aeruginosa</i>) <i>Klebsiella pneumoniae</i> (<i>K.pneumoniae</i>) <i>Escherichia coli</i> (<i>E.coli</i>)

4.1.1. Identification Macroscopique

Aspects des colonies sur gélose nutritif

- ❖ Des colonies, blanchâtres et avec un bord irrégulier (ex prélèvement N°1).
- ❖ Des colonies, blanchâtres, Brillantes avec un bord régulier (ex le prélèvement N°16).

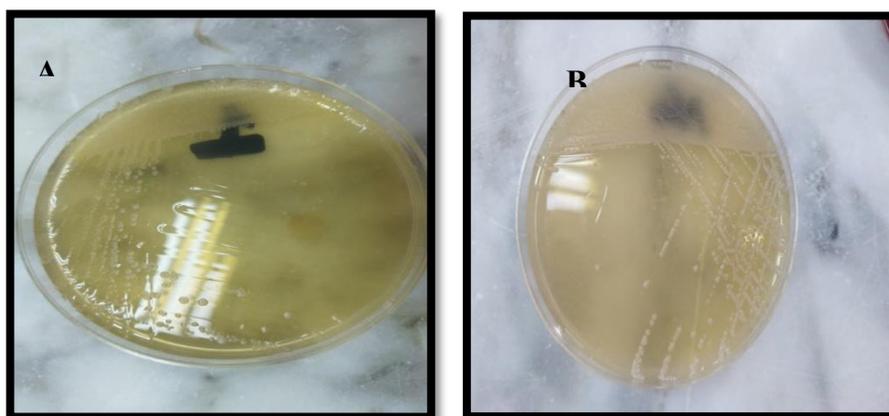


Figure 12. Aspects des colonies sur le milieu de culture GN

A. le prélèvement N°1 , B. le prélèvement N°16

Aspects des colonies sur milieu Chapman

Des colonies pigmentées en jaune doré (virage de couleur de milieu de culture au jaune qui indique la fermentation de mannitol = mannitol +, ex (le prélèvement N° 10, 15,14, *S. aureus*). Absence des colonies dans le prélèvements N°11

Selon **Cirkovic et al. (2015)** l'identification de *S. aureus* dans le milieu chapman se base sur l'hydrolyse du mannitol, et de nombreux autres micro-organismes, y compris les staphylocoques à coagulase négative, hydrolysent le mannitol

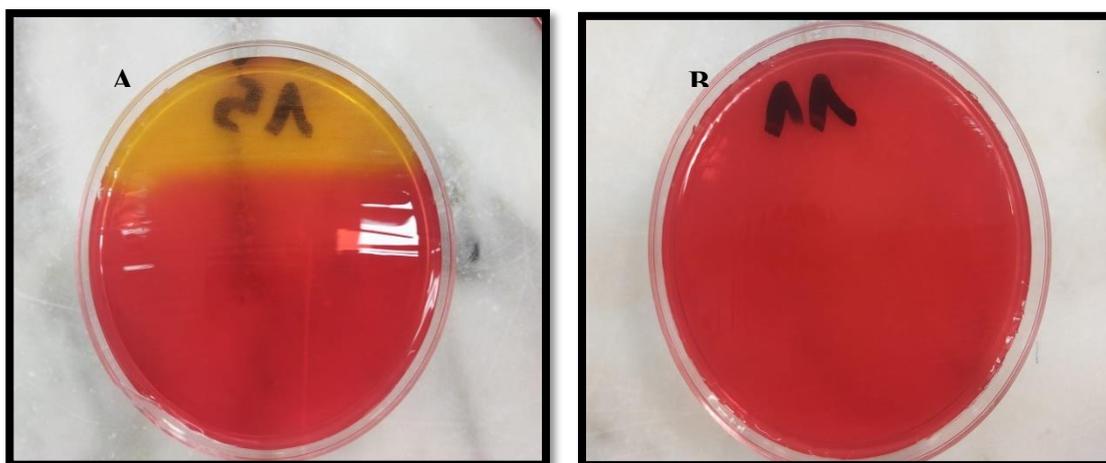


Figure 13. Aspects des colonies sur milieu Chapman

A. le prélèvement N°15, B. le prélèvement N°11.

Aspects des colonies sur milieu Hektoen

- ❖ Des colonies jaune orangé (acidification du milieu par fermentation des glucides), bombés, brillantes et avec un bord régulier dans le prélèvement N°2.
- ❖ Un tapis des colonies brillantes avec une couleur jaune orangé, bombés et avec un bord régulier dans le prélèvement N°1 et 3.

D'après l'étude de **Yeung et al. (2014)** lors d'une identification rapide de *Salmonella* une entérobactérie et l'un des agents pathogènes d'origine alimentaire les plus courants dans le monde, chez les patients cliniques peut permettre une meilleure prise en charge rationnelle et prévenir d'autres épidémies. Un test clinique a été effectué en identifiant 159 échantillons de selles sur une gélose Hektoen contenant des colonies noires ou cristalloïdes Quatre-vingts des isolats ont été correctement identifiés comme *Salmonella*

pour atteindre une sensibilité de 100 %. Soixante-quinze échantillons ont été correctement identifiés comme n'étant pas *Salmonella spp.*, mais quatre ont été identifiés à tort comme *Salmonella*. La spécificité était de 94,93%.

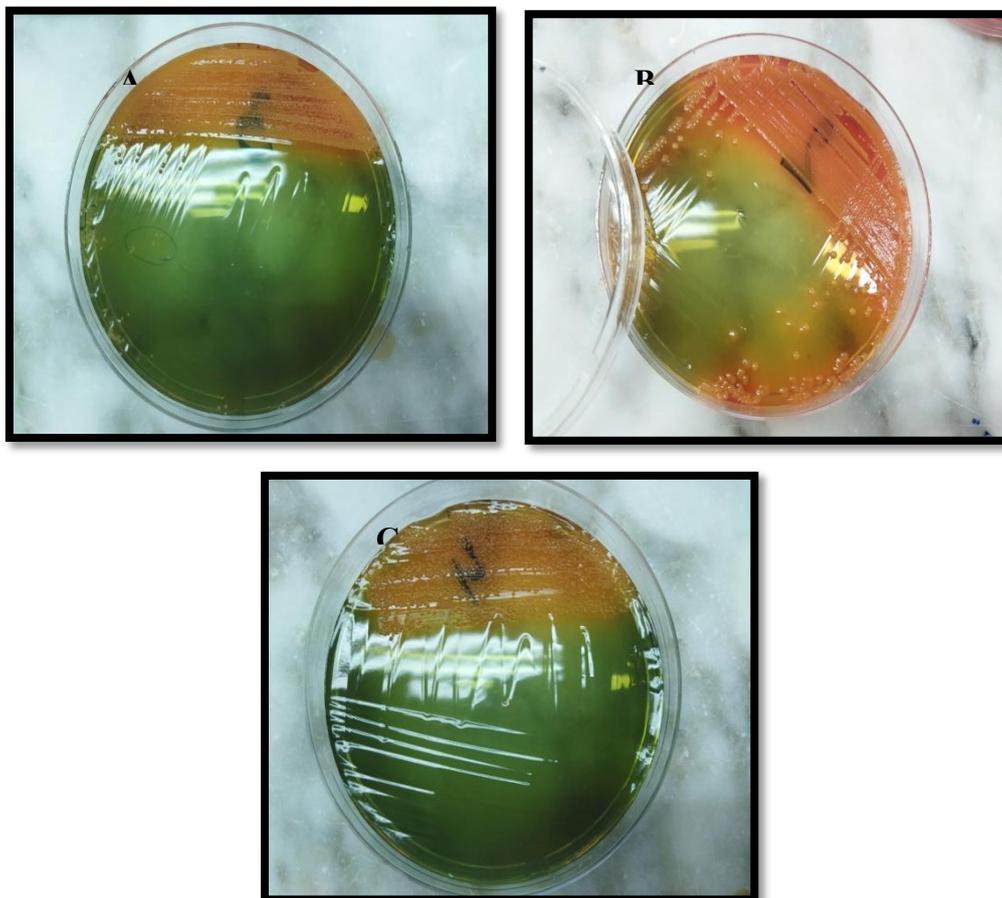


Figure 14. Aspects des colonies sur milieu Héktoèn.

A. le prélèvement N°3, **B.** le prélèvement N°2, **C.** le prélèvement N°1.

Aspects des colonies sur milieu BCP

- ❖ Des colonies blanchâtres (pas de fermentation de lactose = lactose -), brillantes et avec un bord régulier (ex le prélèvement N°10).
- ❖ Des colonies muqueuses, brillantes, avec un bord irrégulier (ex le prélèvement N°14).
- ❖ Un tapis des colonies jaunes (fermentation de lactose = lactose+), bombés et avec un bord régulier (ex le prélèvement N°17).
- ❖ Des colonies jaunes (fermentation de lactose = lactose+), muqueuses, brillantes (ex le prélèvement N°16).

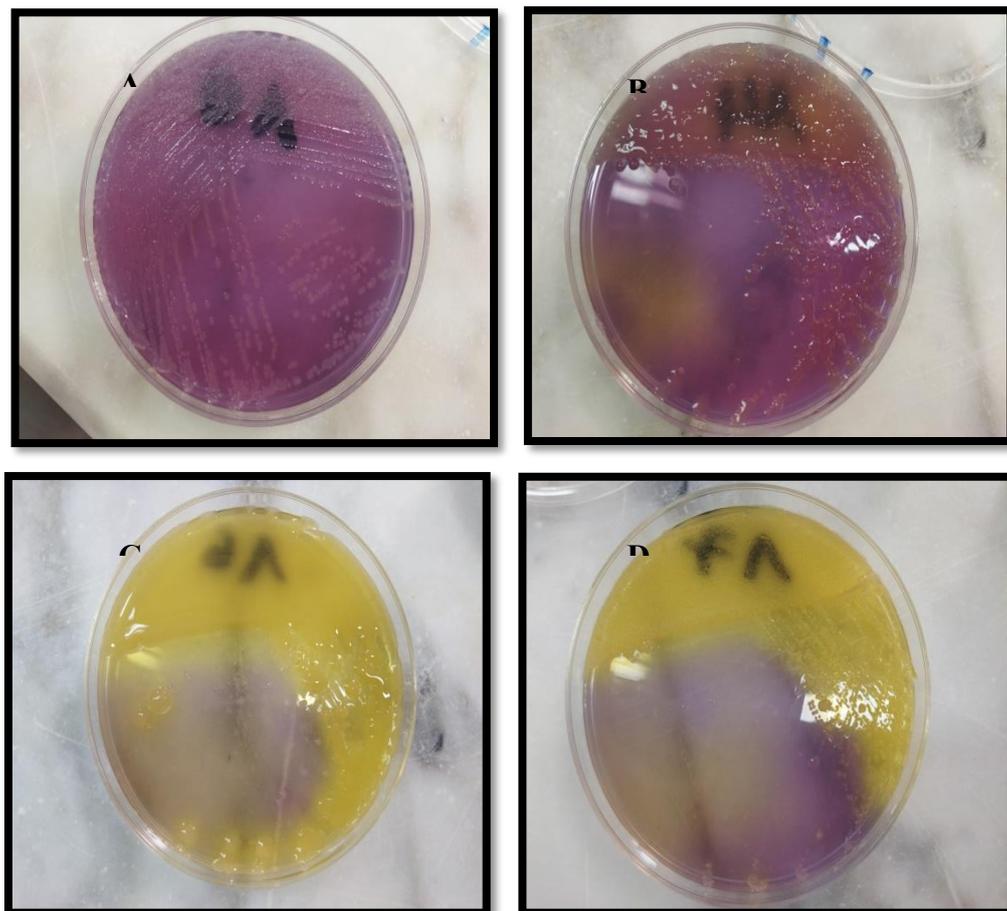


Figure 15. Aspects des colonies sur milieu BCP

A. le prélèvement N°10, B. le prélèvement N°14, C. le prélèvement N°16, D. le prélèvement N°17.

Selon la recherche de **Ghadeer Ary *et al.* (2019)**, la détection colorimétrique de la protéolyse a été obtenue en appliquant une solution de protéase de couleur pourpre bromocrésol (BCP) sur une plate-forme de lecture d'agar-PEG 4000 sur plaque de lait écrémé. Le changement de couleur (jaune à bordeaux) indiquait une lecture positive après 15 minutes d'incubation. La limite la plus basse de détection de *S. aureus* était de 102 UFC mL⁻¹. De plus, la détection directe de la culture de *S. aureus* BHI a été obtenue en détectant le changement de pH en raison de la production de protéase, en utilisant un colorant bleu de bromothymol. Une couleur vert clair représentait une lecture positive. Une relation directe entre la concentration de la culture de *S. aureus* et le changement de couleur a été observée, avec une limite de

détection aussi basse que 10³ UFC mL⁻¹. L'examen d'échantillons d'*Escherichia coli* et de *S. aureus* a montré le potentiel de ce test pour détecter spécifiquement *S. aureus* in situ.

4.1.2. Identification microscopique

Coloration de Gram

- ❖ 1 et 4 et 3 : BGN Extrémités arrondies, 2 à 4 µm, coloration homogène, polymorphe, acapsulé, asporulé.
- ❖ 2 : CGP Ronds, 1 µm, En amas irréguliers et grappes de raisins.

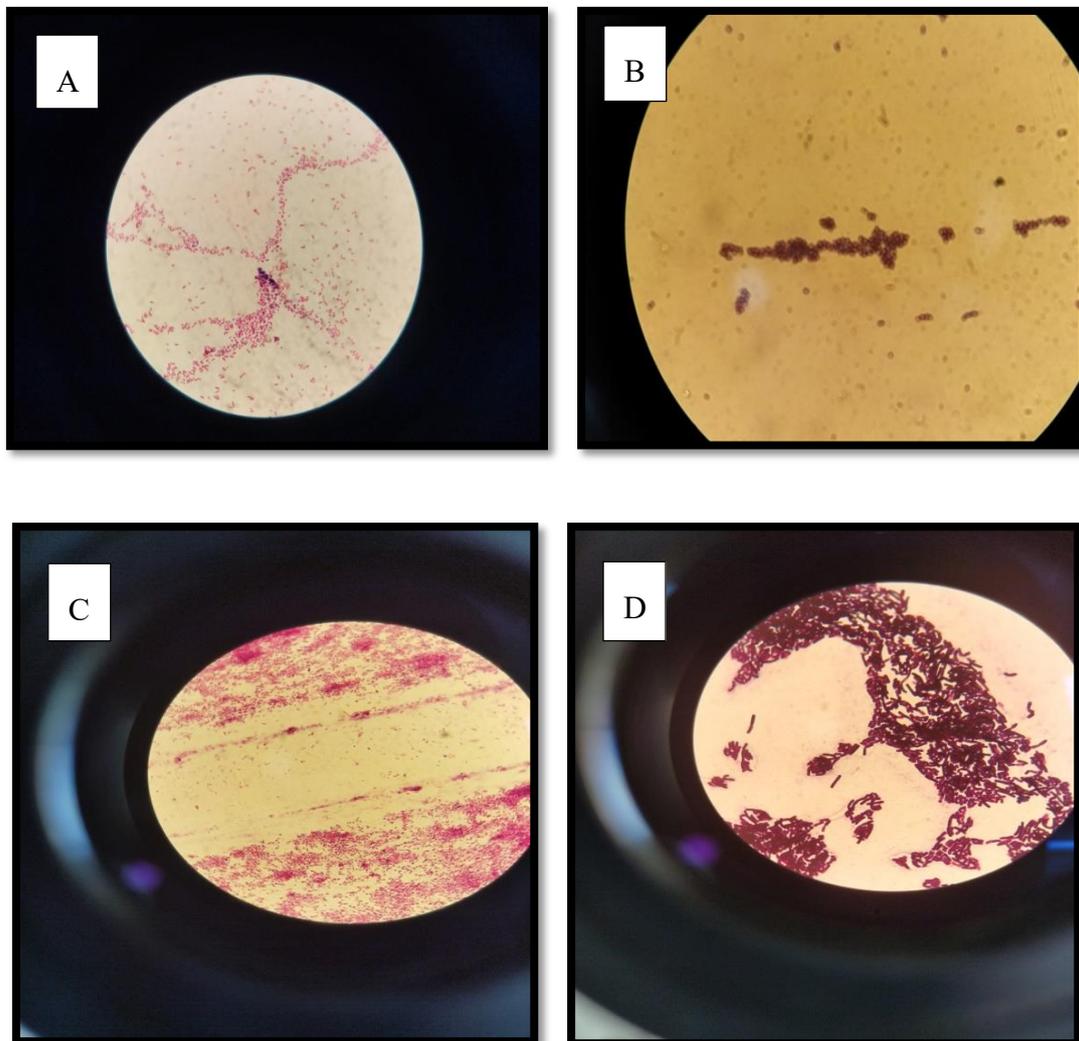


Figure 16. Résultats de coloration de Gram (Grossissement x100).

A. Bacilles G⁻ , **B.** Cocci sphériques en amas G⁺, **C.** Bacilles G⁻ , **D.** Bacille G⁺ .

Les bactéries à Gram+ sont colorées en violet car l'alcool n'a pas pu pénétrer la paroi munie d'une épaisse couche de peptidoglycane ce qui empêche leur coloration en rose par la fushine tandis que les bactéries à Gram- ont pris la couleur rose à cause de la fine couche de peptidoglycane ce qui permet l'élimination du violet de gentiane et la décoloration de la cellule bactérienne par l'alcool, la coloration rose par la fushine est donc visualisée. L'étude de **Moyes *et al.* (2009)** confirme que ce protocole de coloration en plusieurs étapes sépare les bactéries en quatre groupes en fonction de la morphologie cellulaire et de la structure de la paroi cellulaire : cocci Gram positif, cocci Gram négatif, bâtonnets Gram positif et bâtonnets Gram négatifs. La coloration de Gram est utile pour évaluer la contamination bactérienne d'échantillons de culture tissulaire ou pour examiner l'état de la coloration de Gram et les caractéristiques morphologiques des bactéries isolées à partir de cultures bactériennes mixtes ou isolées.

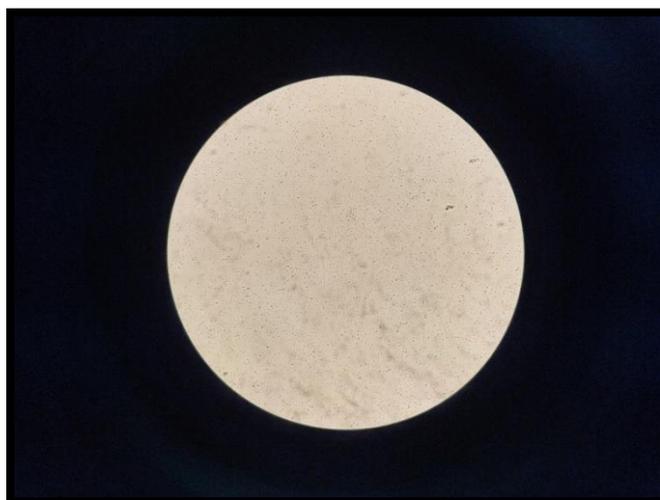


Figure 17. Observation à l'état frais.

4.1.3. Identification biochimique

Test oxydase

- ❖ Les bactéries isolées sur milieu Hektoen ont une oxydase négative.
- ❖ Les bactéries isolées sur milieu BCP ont une oxydase négative.
- ❖ Les bactéries isolées sur milieu gélose ont une oxydase positive (la bactérie possède l'enzyme respiratoire : cytochrome oxydase).

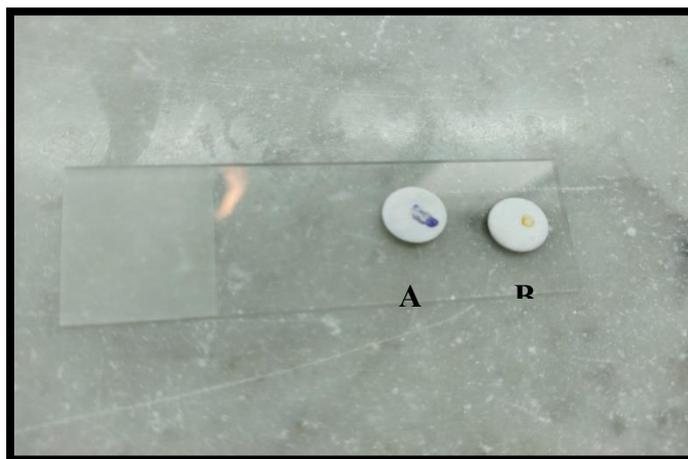


Figure 18. Résultat de test oxydase

A. positive (apparition d'une couleur violette), B. négative

Test catalase

Toutes les bactéries Gram positif, isolées sur milieu Chapman ont une catalase positive

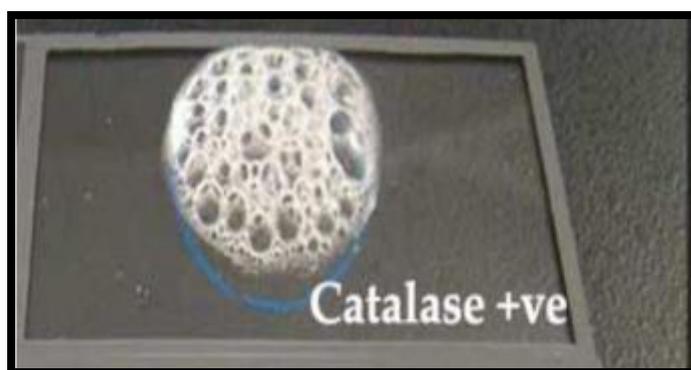


Figure 19. Résultat positive de test catalase (formation de bulles e gaz) (cas de *staphylococcus aureus*) (Halima Khatoon *et al.*, 2022)

Test DNase (pour *S. aureus*)

Pour confirmer la fermentation du mannitol, la croissance de colonies jaunes sur gélose Chapman entourées de zones jaunes après 24 heures d'incubation à 37°C a indiqué un résultat les résultats du test DNase ont donné des zones claires autour des colonies bactériennes ont indiqué des colonies positives à la DNase (l'hydrolyse de l'ADN par les endonucléases extracellulaires engendrant une forte concentration en oligonucléotides). Cela concordait avec d'autres rapports, dans lesquels le test DNase avait une sensibilité de 75% et une spécificité

de 96%, ce qui est comparable à d'autres études dans lesquelles une sensibilité de 75% et une spécificité de 100% ont été rapportées. Dans cette étude, le test DNase était le plus spécifique de tous les tests et avait le moins d'isolats faussement positifs (il n'y avait qu'un seul faux positif) (Kateete *et al.*, 2010)



Figure 20. Résultat de test DNase (Adem Hiko, 2019)

Galleries Api 10s

Les réactions biochimiques observées ont révélées la présence des souches suivantes *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau 3. Résultats de plaque API pour *E. coli*.

ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND
+	+	+	+	+	-	-	-	-	+

- ❖ Les réactions biochimiques révèlent que la bactérie possède l'enzyme β -galactosidase responsable de l'hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside d'après le test **ONPG(+)**, elle possède aussi l'enzyme lysine dicarboxylase responsable de la décarboxylation de l'acide aminé lysine selon le test **LDC +**, l'enzyme ornithine décarboxylase responsable de la décarboxylation de l'acide aminé ornithine (**ODC+**), absence de l'enzyme uréase
- ❖ 32e (**URE-**).
- ❖ La bactérie n'utilise pas du citrate comme seule source de carbone test (**CIT-**).
- ❖ La bactérie est capable de fermenter le glucose test (**GLU+**), et l'arabinose test (**ARA+**).

- ❖ Production de l'indol donc présence de l'enzyme tryptophanase après l'ajout du réactif KOVAC (test **IND** +).
- ❖ Selon le test **TDA-** après l'ajout du réactif Chlorure ferrique la bactérie ne possède pas l'enzyme tryptophane désaminase.
- ❖ La production du **H2S** n'a pas été observée.
- ❖ Les résultats des tests biochimiques pour la bactérie *E.coli* sont identiques à ceux obtenus par la bactérie la bactérie *E.coli* .

Tableau 4. Api 10s pour *K. pneumoniae*.

ONPG	GLU	ARA	LDC	ODC	CIT	H2S	URE	TDA	IND
+	+	+	+	-	+	-	+	-	-

Les réaction biochimiques révèlent que la bactérie est dotée de l'enzyme β -galactosidase responsable de l'hydrolyse du substrat o-nitrophényl-bD-galactopyranoside test **ONPG** (+), elle possède l'enzyme lysine dicarboxylase responsable de la décarboxylation de l'acide aminé lysine selon le test **LDC** (+) , l'enzyme ornithine décarboxylase responsable de la décarboxylation de l'acide aminé ornithine est absente **ODC** (-) , elle est caractérisée aussi par la présence de l'enzyme uréase test **URE** (+). Ces réactions montrent aussi que cette bactérie utilise du citrate comme seul source de carbone test **CIT** (+) et qu'elle fait la fermentation du glucose selon le test **GLU**(+) , la fermentation de l'arabinose test **ARA** (+) et qu'elle ne produit pas de l'indol donc absence de l'enzyme tryptophanase après l'ajout du réactif KOVAC (test IND négatif) .Selon le test **TDA** (-) après l'ajout du réactif Chlorure ferrique la bactérie ne possède pas l'enzyme tryptophane désaminase.

- ❖ La production du **H2S** n'a pas été observée.
- ❖ Les résultats des tests biochimiques pour la bactérie *K.pneumoniae* sont identiques à ceux obtenus par la bactérie *K.pneumoniae* (**Site web 4**).

4.2. Antibiogramme

Après la période d'incubation (24h), des zones d'inhibition de croissance bactérienne sur MH ont été mesurées par un étrier coulissant et interprétées selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (EUCAST).

Tableau 5. Les diamètres des zones d'inhibition des différents antibiotiques.

Les antibiotiques testés	Diamètres des zones d'inhibition (mm)					Interprétation				
	<i>Kp</i>	<i>P.a</i>	<i>E.coli</i>	<i>Ent</i>	<i>S.a</i>	<i>Kp</i>	<i>P.a</i>	<i>E.coli</i>	<i>Ent</i>	<i>S.a</i>
Amikacine	26	8	25	25	/	S	R	S	S	/
Amoxicilline/Acide clavulanique	23	/	12	6	/	SS	/	SS	RR	/
Céfazoline	26	/	6	6	/	S	/	R	R	/
Ceftazidime	30	23	12	27	/	S	S	R	S	/
Colistine	16	23	15	16	/	R	S	R	R	/
Imipénème	26	35	32	35	/	S	S	S	S	/
Ampicilline	6	/	6	6	/	R	/	R	R	/
Aztréonam	34	26	12	28	/	S	I	R	S	/
Céfotaxime	32	12	15	28	/	S	R	R	S	/
Ciprofloxacine	32	38	35	12	18	S	S	S	R	R
Gentamicine	24	26	23	23	25	S	S	S	S	S
Triméthoprim /Sulfaméthoxazole	28	/	6	23	/	S	/	R	S	/
Acide nalidixique	26	/	10	10	/	S	/	R	R	/
Pipéracilline	/	26	/	/	/	/	S	/	/	/
Ticarcilline	6	/	12	/	/	R	/	R	/	/
Fosfomycine	13	/	/	/	/	I	/	/	/	/
Lévofloxacine	/	34	/	/	/	/	S	/	/	/
Acide fusidique	/	/	/	/	32	/	/	/	/	S
Erythromycine	/	/	/	/	30	/	/	/	/	S
Kanamycine	/	/	/	/	8	/	/	/	/	R
Pénicilline G	/	/	/	/	10	/	/	/	/	R
Rifampicine	/	/	/	/	37	/	/	/	/	S
Tétracycline	/	/	/	/	32	/	/	/	/	S
Vancomycine	/	/	/	/	25	/	/	/	/	R
Clindamycine	/	/	/	/	28	/	/	/	/	S
Oxacilline	/	/	/	/	10	/	/	/	/	R
Pristinamycine	/	/	/	/	27	/	/	/	/	R
Teicoplanine	/	/	/	/	20	/	/	/	/	S
Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole	/	/	/	/	30	/	/	/	/	S

Les antibiotiques testés	Diamètres des zones d'inhibition (mm) des ATCC					Interprétation Des ATCC				
	<i>K.p</i>	<i>P.a</i>	<i>E.coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S.a</i>	<i>K.p</i>	<i>P.a</i>	<i>E.coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S.a</i>
Amikacine	21	9	23	25	11	S	R	S	S	/
Amoxicilline/Acide clavulanique	21	/	21	6	/	SS	/	SS	RR	/
Céfazoline	25	/	25	6	/	S	/	R	R	/
Ceftazidime	28	21	12	27	/	S	S	R	S	/
Colistine	15	20	13	14	/	R	S	R	R	/
Imipénème	27	38	23	31	/	S	S	S	S	/
Ampicilline	13	/	8	3	/	R	/	R	R	/
Aztréonam	23	26	14	26	/	I	I	R	S	/
Céfotaxime	23	13	16	27	/	S	R	R	S	/
Ciprofloxacine	32	31	31	12	19	S	S	S	R	R
Gentamicine	22	24	20	23	23	S	S	S	S	S
Triméthoprim /Sulfaméthoxazole	26	/	5	22	/	S	/	R	S	/
Acide nalidixique	24	/	9	10	/	S	/	R	R	/
Pipéracilline	/	28	/	/	/	/	S	/	/	/
Ticarcilline	9	/	12	/	/	R	/	R	/	/
Fosfomycine	13	/	/	/	/	I	/	/	/	/
Lévofloxacine	/	36	/	/	/	/	S	/	/	/
Acide fusidique	/	/	/	/	31	/	/	/	/	S
Erythromycine	/	/	/	/	29	/	/	/	/	S
Kanamycine	/	/	/	/	12	/	/	/	/	R
Pénicilline G	/	/	/	/	13	/	/	/	/	R
Rifampicine	/	/	/	/	34	/	/	/	/	S
Tétracycline	/	/	/	/	30	/	/	/	/	S
Vancomycine	/	/	/	/	21	/	/	/	/	R
Clindamycine	/	/	/	/	24	/	/	/	/	S
Oxacilline	/	/	/	/	8	/	/	/	/	R
Pristinamycine	/	/	/	/	21	/	/	/	/	R
Teicoplanine	/	/	/	/	20	/	/	/	/	S
Triméthoprim/ Sulfaméthoxazole	/	/	/	/	28	/	/	/	/	S

Selon les résultats du tableau 5 on remarque que :

- ❖ *Klebsiella pneumoniae* (*K.p*) est sensible à la plupart des antibiotiques testés, à l'exception qu'elle demeure résistante au colistine, ampicilline, ticarcilline et intermédiaire au Fosfomycine.
- ❖ *Pseudomonas aeruginosa* (*P.a*) est sensible vis-à-vis les antibiotiques suivants : ceftazidime, colistine, imipénème, ciprofloxacine, gentamicine, lévofloxacine, pipéracilline, et intermédiaire à l'aztréonam. Cependant, une résistance a été remarqué vis-à-vis l'amikane et la céfotaxime.
- ❖ Chez *Escherichia coli* (*E.coli*) on remarque une résistance aux ceftazidime, colistine, ampicilline, aztréonam, céfotaxime, céfazoline, triméthoprim /sulfaméthoxazole, acide nalidixique et ticarcilline. Pour les autres antibiotiques ; amikacine, amoxicilline/ acide clavulanique, imipénème , ciprofloxacine, gentamicine, *E.coli* présente une sensibilité.
- ❖ *Staphylococcus aureus* (*S.a*) a révélé une sensibilité vis-à-vis : gentamicine, acide fusidique, erythromycine, rifampicine, tétracycline, teicoplanine, triméthoprim/sulfaméthoxazole, clindamycine, et une résistance aux : ciprofloxacine ,kanamycine, pénicilline G, vancomycine, oxacilline, pristnamycine.
- ❖ Pour *Entérobacter cloacae* (*E.cloacae*) d'une part elle est résistante aux : amoxicilline/ acide clavulanique, céfazoline, ampicilline, colistine, ciprofloxacine, acide nalidixique. D'autre part, elle est sensible aux : amikane, ceftazidime, imipénème , aztréonam, céfotaxime, gentamicine,triméthoprim /sulfaméthoxazole.

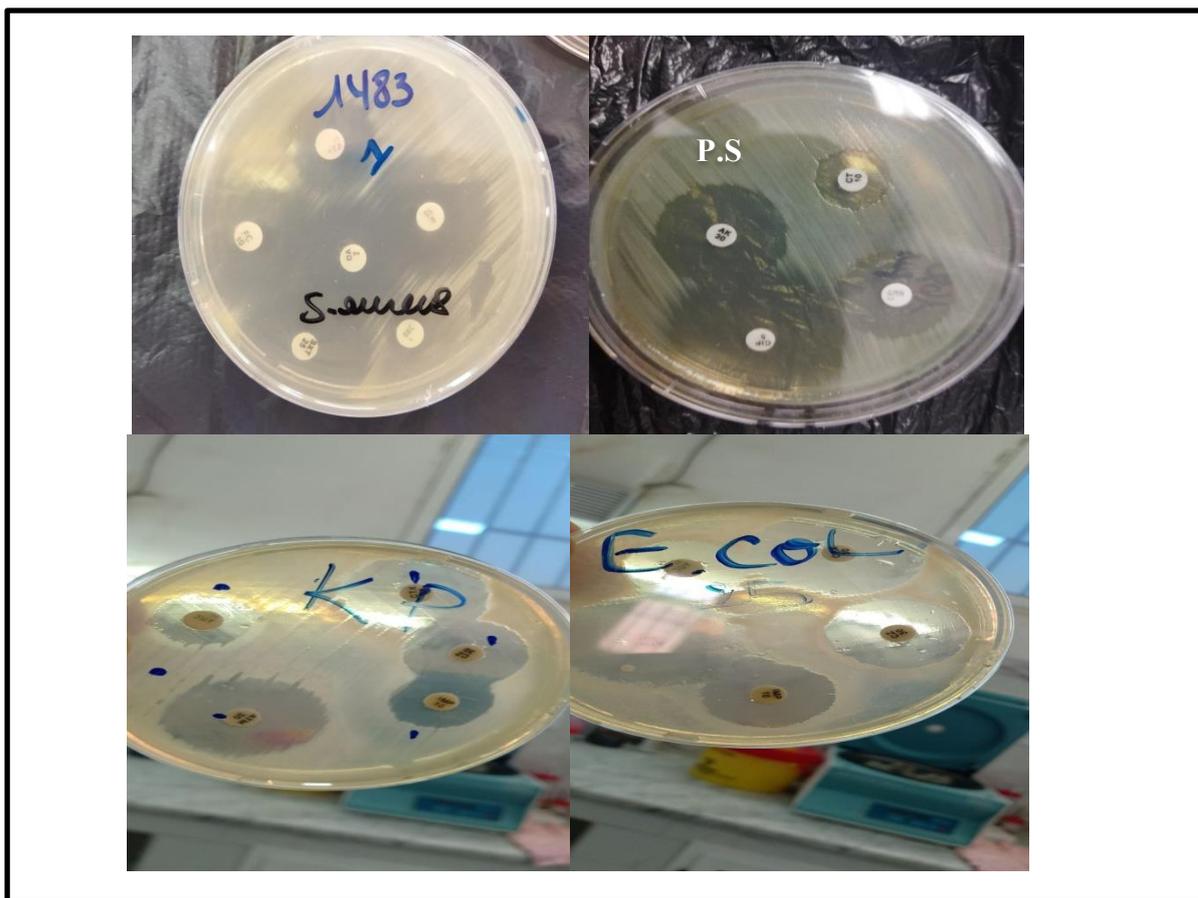


Figure 21. Quelques résultats de l'antibiogramme.

4.3. Aromatogramme

Tableau 6. Les diamètres des zones d'inhibition d'huile essentielle *Thymbra capitata* .

Les Souches des surfaces hospitalières	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation
<i>K.pneumoniae</i>	25	S
<i>P.aeruginosa</i>	6	R
<i>E.coli</i>	25	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	15	S
<i>S.aureus</i>	34	S
Les souches de référence ATCC	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 706003	27	S

<i>P.aeruginosa</i> ATCC 13047	6	R
<i>E.coli</i> ATCC 25922	12	S
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	17	S
<i>S.aureus</i> ATCC 25923	26	S

Selon les résultats du tableau 6 on remarque que la sensibilité des 5 souches vis-à-vis l'extrait d'huile *Thymbra capitata* testé diffère d'une souche à l'autre :

- ❖ l'HE *Thymbra capitata* testée est active sur les souches des surfaces hospitalières *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *E.coli*, *Enterobacter cloacae* et *S.aureus* et des ATCC à savoir *K.pneumoniae* ATCC 706003, *P.aeruginosa* ATCC 13047, *E.coli* ATCC 25922, *Enterobacter cloacae* ATCC 13047 et *S.aureus* ATCC 25923 à la fois car on remarque qu'elles ont une sensibilité accrue avec des diamètres variant entre 15 et 36mm .
- ❖ La résistance n'a été remarquée que pour *P.aeruginosa* pour la souches de surface hospitalière et celle des ATCC *P.aeruginosa* ATCC 13047 l'HE *Thymbra capitata* donc n'y est pas active .

D'autre par l'étude de **Karampoula et al. (2016)** sur l'activité bactéricide de *T.capitata* sur des entérobactéries il a été montré que l'extrait de *T. capitata* est un mélange complexe contenant 24 constituants. Son composé principal est le carvacrol , Les efficacités désinfectantes de l'hydrolat de *T. capitata* ont été testées sur des cellules planctoniques et biofilmées de sérovar de *S. enterica* de 24 h sur des coupons *S. enterica*. l'extrait de *T. capita* s'est avéré avoir une activité bactéricide élevée contre les cellules planctoniques, car $1,2 \pm 0,2$, $2,8 \pm 0,5$ et $4,7 \pm$ réductions logarithmiques ont été obtenues en appliquant respectivement 37,5, 40 et 42% (vol / vol). Sur la base des résultats, l'hydrolat de *T. capitata* a présenté une action antibiofilm significative (éradication complète avec 100% [vol/vol], réduction approximative de 5 log avec 75%).



Figure 22. Quelques résultats de l'aromatogramme

4.4. Détermination des (CMI) de la croissance bactérienne

La concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle *Thymbra capiptata* a été effectuée par la méthode de micro dilution en milieu liquide. Les résultats sont présentés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7. Les concentration minimales inhibitrices (CMI) de croissance bactérienne (%)

Souches bactériennes	CMI
Les souches des surfaces hospitalières	
<i>Escherichia coli</i>	1%
<i>Staphylococcus aureus</i>	2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0.5%
<i>Enterobacter cloacae</i>	0.5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	0.5%
Les souches de références (ATCC)	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	4%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 7063	0.5%
<i>Entérobacter cloacae</i> ATCC 13047	0.5%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	0.5%

D'après les résultats obtenus, on remarque que l'huile essentielle *Thymbra capiptata* testée a un effet inhibiteur significatif sur la croissance des souches étudiées, avec des CMI variant de 0.5% à 4%. En comparant Les CMI des souches des surfaces hospitalières et les souches de références (ATCC), on observe que pour la croissance de la souche *Escherichia coli*, est

inhibée à une CMI de 1% donc *E.coli* la souche de surface hospitalière est plus sensible à l'HE que la souche ATCC qui est inhibée à une CMI 4 fois plus grande (4%).

Tandis que l'activité inhibitrice de l'HE sur la croissance des autres souches a donné une même CMI de 0.5% pour *Klebsiella pneumoniae*, *Entérobacter cloacae*, *Pseudomonas aeruginosa* et de 2% pour *Staphylococcus aureus*, que ce soit pour les ATCC ou pour celles des surfaces hospitalières.



Figure 23. Résultats des CMI sur la plaque de microdilution.

A. CMI des souches des surfaces hospitalières, **B.** CMI des ATCC,

C. CMI de *Pseudomonas aeruginosa*.

4.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la formation des biofilms (CMIBs)

Les résultats ont montré des colorations violettes de différents degrés, en-éliminant le premier puits là où la concentration en l'HE *Thymbra capitata* est très élevée donc elle retient le violet de gentiane ce qui conduit à un faux résultat, on prend celle la plus claire des puits qui

représente la concentration minimale de l'HE *Thymbra capitata* inhibitrice de la formation de biofilms.

Tableau 8. Les concentrations minimales inhibitrices de la formation des biofilms (CMIBs)

Souches bactériennes	CMIB
Les souches des surfaces hospitalières	
<i>Escherichia coli</i>	0.5%
<i>Staphylococcus aureus</i>	2%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2%
<i>Enterobacter cloacae</i>	1%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	2%
Les souches de références (ATCC)	
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	1%
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	0.5%
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 706003	4%
<i>Enterobacter cloacae</i> ATCC 13047	1%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 13047	2%

- On constate d'après ces résultats que *E.coli* souche de la surface hospitalière est plus sensible à l'HE *Thymbra Capitata* que celle des ATCC *E.coli* ATCC 25922 .Et que *S.aureus* ATCC 25923 plus sensible à l'HE que la souche de la surface hospitalière.
- *K.pneumoniae* souche de la surface hospitalière plus sensible à l'HE que *K.pneumoniae* ATCC 706003. Enfin on marque un même degré de sensibilité pour *P.aeruginosa* souche de la surface hospitalière et pour *P.aeruginosa* ATCC 13047, ainsi pour les deux souches d'*Entérobacter cloacae* de la surface hospitalière et *Enterobacter cloacae* ATCC 13047.

D'après l'étude de (Almeida *et al.*, 2022) les biofilms de *S.aureus* ont été incubés avec l'HE *Thymbra.Capitata* au MLC et son potentiel anti-biofilm a été étudié. Une forte activité antimicrobienne a été observée, avec des valeurs de CMI et de CPM (concentration de prévention des mutants résistants) comprises entre 0,32 et 0,64 mg l⁻¹. Cependant, la concentration d'HE nécessaire à l'éradication des cellules planctoniques était insuffisante pour réduire de manière significative la biomasse du biofilm de certains isolats. Néanmoins,

la cultivabilité cellulaire et le métabolisme cellulaire global ont été fortement réduits dans tous les biofilms testés, seulement lorsque l'HE a été testé. Contrairement aux antibiotiques testés, *T. capitata* a montré une activité antimicrobienne significative contre les biofilms de SARM, en réduisant le métabolisme cellulaire et la culture cellulaire.

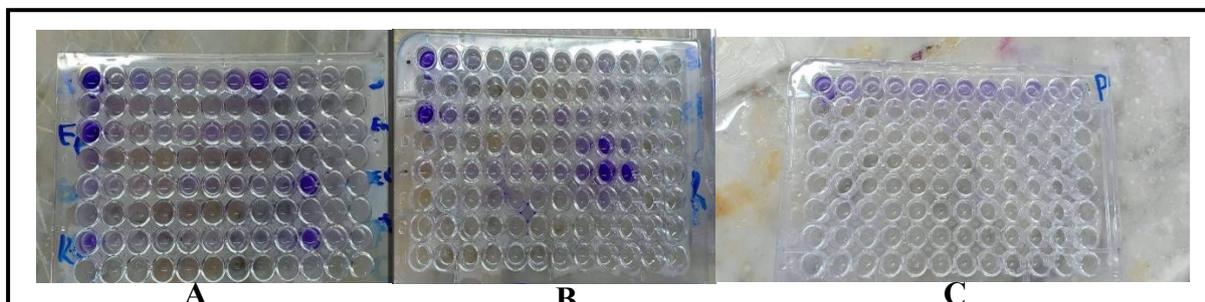


Figure 24. Résultats de CMIB

A. CMIB des souches des surfaces hospitalières, B. CMIB des ATCC, C. CMIB de *Pseudomonas aeruginosa*

Synthèse Bibliographique

Chapitre 5. Méthodes de l'analyse théorique

Dans le présent travail on réalise une synthèse d'article dans le but de rédiger une sorte de revue scientifique après avoir fait le bilan des différentes recherches en se basant sur 20 articles qui ont un lien avec notre projet de fin d'étude. La plupart de ces articles ont été choisis après une recherche sélective sur différents moteurs de recherche principalement PubMed et Google Scholar. La synthèse bibliographique est organisée dans des tableaux pour montrer les principales différences entre ces articles par rapport au lieu de recherche, au type de prélèvement utilisé, au produit naturel testé et aux méthodes réalisées, ainsi que la comparaison entre les résultats trouvés et on termine avec une discussion qui concerne uniquement les résultats de l'activité antibactérienne des produits naturels testés pour mettre en valeur l'objectif de notre sujet.

5.1. Cadre d'étude

Les études sont faites dans des endroits différents, chaque endroit possède son propre environnement et ses propres moyens et conditions qui peuvent conduire à des résultats variés.

Tableau 9. Les lieux des études.

Référence	Lieux d'étude
1/ (Morgad <i>et al.</i> , 2020)	Service d'hémodialyse CHU Tlemcen , Algérie
2/ (Bellifa <i>et al.</i> ,2013)	Différents service CHU Tlemcen , Algérie.
3/ (Ghelati <i>et al.</i> , 2014)	Différents service CHU Tlemcen , Algérie.
4/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	L'unité dentaire CHU Tlemcen
5/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	Laboratoire de microbiologie appliquée de l'université Abou-bekr Bekaid-Tlemcen , Algérie
6/ (Socohou <i>et al.</i> , 2020)	(Centre hospitalier Universitaire d'Abomey-Calvi (Sud Bénin)
7/ (Aissati <i>et al.</i> , 2016)	Sud de l'Algérie
8/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	En Italie
9/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	En Chine
10/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	L'hôpital clinique d'urgence « Pius Branzeu » de Timisoara l'ouest de la Roumanie
11/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	La Chine
12/ (Esmâël <i>et al.</i> , 2019)	L'hôpital universitaire de Benha , Egypte
13/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	Différents services du CHU de Yopougon à Abidjan , Cote

	d'Ivoire
14/ (Santosa <i>et al.</i> , 2019)	En Brésil
15/ (Vrenna <i>et al.</i> , 2021)	L'hôpital pédiatrique Bambino Gesu (OPBG) de Rome, Italie
16/ (Khan <i>et al.</i> , 2017)	Prélèvements de différents échantillons cliniques au niveau du Laboratoire de bactériologie de l'université Abdul Wali Khan, Mardan, Pakistan
17/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	Laboratoire principal de l'hôpital Kasr Alaini, au Caire, en Égypte.
18/ (Brochot <i>et al.</i> , 2016)	Laboratoire de Génie Chimique , faculté des sciences Pharmaceutiques, Université Paul Sabatier, Toulouse, France.
19/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	Département de microbiologie, université des sciences et technologies de Kohat (DREC KUST)
20/ (Charifi <i>et al.</i> , 2021)	Département de pathobiologie, Faculté des sciences vétérinaires, Université Bu-Ali Sina, Hamedan, Iran, et la faculté de médecine vétérinaire, Université de Téhéran, Téhéran, Iran.

5.2. Echantillonnage

Les échantillons ont été prélevé de différents endroits et par des méthodes différentes afin d'obtenir un maximum de diversités des souches.

Tableau 10. Les différents prélèvements collectés.

Référence	Echantillonnage
1/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	Prélèvement des patients hospitalisées après une enquête sur l'âge , le sexe , présence d'une maladie ou d'antécédents.
2/ (Aissati <i>et al.</i> , 2016)	Cathéters retirés des patients et coupé aseptiquement pour isoler les bactéries existantes.
3/ (Socohou <i>et al.</i> , 2020)	Des prélèvements par la méthode d'écouvillonnage sec sur des surfaces et matériels medicotechnique.
4/ (Morgad <i>et al.</i> , 2020)	Prélèvement des échantillons d'eau de la boucle de distribution d'eau osmosée et de l'entrée du générateur de dialyse.
5/ (Belifa <i>et al.</i> , 2013)	Prélevement des sondes urinaires et des sondes endotrachéales .
6/ (Ghelai <i>et al.</i> , 2014)	Cathéters de 4 services différents au CHU
7/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	Unité dentaire du CHU Tlemcen
8/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	Echantillon d'urine d'un patient

9/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	Fournie par le China Medical Culture Collection Center (Pékin, Chine).
10/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	Collectées chez des patients hospitalisés
11/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	Fournie par le Strain Preservation Center
12/ (Esmaël <i>et al.</i> , 2019)	Hommes et femmes à l'âge adolescent de 17 à 25 ans fréquentant la clinique de dermatologie de l'hôpital universitaire de Benha leurs Les lésions d'acné inflammatoires et non inflammatoires ont été ponctionnées avec une aiguille hypodermique et le contenu a été recueilli avec un extracteur de comédons dans des conditions d'asepsie complètes.
13/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	Prélèvements de surfaces de l'environnement hospitalier.
14/ (Charifi <i>et al.</i> , 2021)	Différents échantillons cliniques de patients admis dans les hôpitaux de Hamedan, Iran.
15/ (Vrenna <i>et al.</i> , 2021)	A partir des échantillons respiratoires de 7 patients enfants atteints de mucoviscidose .
16/ (Brochot <i>et al.</i> , 2016)	Quatorze souches bactériennes de l'American Type Culture Collection
17/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	Prélèvement au hasard de dix souches cliniques de KP productrices de biofilms à partir de différents échantillons au laboratoire de l'hôpital.
18/ (Santosa <i>et al.</i> , 2019)	Prélèvements des échantillons de patients au niveau de laboratoire de microbiologie clinique.
19/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	Des patients ayant des infections des voies urinaires et d'autres ayant des infections de plaies admis en soins tertiaires hôpital Peshawar.
20/ (Khan <i>et al.</i> , 2017)	Récupérés du département de microbiologie, KUST

5.3. Souches étudiés

Les études ont été faites sur différentes souches bactériennes la majorité entre elles sont des souches multirésistantes qui causent les problèmes les plus sérieux durant la période de soins.

Tableau 11. Les souches bactériennes étudiées.

Référence	Souche bactérienne
1/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	<i>Staphylocoques spp</i>
2/ (Bellifa <i>et al.</i> , 2013)	<i>K.pneumoniae</i>
3/ (Ghelati <i>et al.</i> , 2014)	<i>Staphylococcus aureus</i>
4/ (Socohou <i>et al.</i> , 2020)	Staphylocoque

5/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	Identifiée dans les résultats.
6/ (Aissat <i>et al.</i> , 2016)	Identifiée dans les résultats.
7/ (Morghad <i>et al.</i> , 2020)	Identifiée dans les résultats.
8/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	<i>K.pneumoniae</i>
9/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	<i>Staphylococcus aureus</i>
10/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	<i>Escherichia coli</i>
11/ (Esmâël <i>et al.</i> , 2019)	Bactéries de l'acné résistantes aux antibiotiques identifiées lors de l'étude
12/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	Identifiée dans les résultats.
13/ (Santosa <i>et al.</i> , 2019)	<i>Staphylococcus aureus</i>
14/ (Vrenna <i>et al.</i> , 2021)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
15/ (Charifi <i>et al.</i> , 2021)	<i>Staphylococcus aureus</i> multirésistante
16/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	<i>K.pneumoniae</i>
17/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	Des souches multirésistantes identifiées lors de l'étude et des ATCC (<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922, <i>Escherichia coli</i> ATCC BAA-196, <i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC 1705, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853, <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923 et <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 43300)
18/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	<i>A. bau manni</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>
19/ (Khan <i>et al.</i> , 2017)	<i>A. bau manni</i> , <i>E. coli</i> , <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>
20/ (Brochot <i>et al.</i> , 2016)	Des ATCC (<i>Streptococcus pyogenes</i> CIP, 5641T, <i>Streptococcus pneumoniae</i> CIP 104471, <i>Listeria monocytogenes</i> CIP 82110T, <i>Staphylococcus aureus</i> MRSA ATCC 33591; <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467, <i>Proteus mirabilis</i> CIP 103181T, <i>Escherichia coli</i> BLSE, <i>Escherichia coli</i> UTI 89, <i>Klebsiella pneumoniae</i> CIP 8291T, <i>Salmonella typhimurium</i> CIP 6062T, <i>Yersinia enterocolitica</i> CIP 8027T, <i>Bacteriodes fragilis</i> ATCC 25285, <i>Haemophilus influenza</i> IP 102514 et <i>Branhamella catarrhalis</i> CIP, 7321T. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467, <i>Staphylococcus aureus</i> 7321T. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 103467, <i>Staphylococcus aureus</i> , MRSA ATCC 3359 et <i>Escherichia coli</i> BLSE).

5. 4. Produits naturels testés

L'étude est basée sur des produits naturels réputés d'avoir une activité antibactérienne dans le but de trouver des alternatives à l'antibiothérapie.

Tableau 12. Les produits naturels testés.

Référence	Le produit naturel testé
1/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	Aucun produit testé
2/ (Bellifa <i>et al.</i> , 2013)	Aucun produit testé
3/ (Ghelai <i>et al.</i> , 2014)	Aucun produit testé
4/ (Socohou <i>et al.</i> , 2020)	Aucun produit testé
5/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	Aucun produit testé
6/ (Aissat <i>et al.</i> , 2016)	Miel du Sahara et propolis du Sahara
7/ (Morghad <i>et al.</i> , 2020)	Aucun produit testé
8/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	Aucun produit testé
9/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	Le carnosol
10/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	<i>Menthe piperita</i> (MP)
11/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	<i>Cinnamomum camphora</i>
12/ (Esmâël <i>et al.</i> , 2019)	Des huiles végétales : Arbre à thé, Cannelle, Romarin, Cactus, Lavande, Basilic, Citron, Thym, Persil, Amande et Lupin.
13/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	Aucun produit testé
14/ (Santosa <i>et al.</i> , 2019)	<i>Syagrus coronate</i> (SC)
15/ (Vrenna <i>et al.</i> , 2021)	<i>Coridothymus capitatus</i> (CC)
16/ (Charifi <i>et al.</i> , 2021)	<i>Cuminum cyminum</i> (<i>L. cumin</i>)
17/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	Huile de carvi (<i>Carum carvi</i>), huile de cannelle (<i>Cinnamum verum</i>), huile de clou de girofle (<i>Syzygium aromaticum</i>), de gingembre (<i>Zingiber officinale</i>), de nigelle (<i>Nigelle sativa</i>), de menthe poivrée (<i>Mentha piperita</i>) et de thym (<i>Thymus vulgaris</i>)
18/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	<i>Alkanna tinctoria</i>
19/ (Khan <i>et al.</i> , 2017)	<i>Punica granatum</i>
20/ (Brochot <i>et al.</i> , 2016)	Mélanges AB1 et AB2 composés à parts égales (3,52 % chacun) d' <i>Eucalyptus globulus</i> CT cineol (feuille) et de <i>Cinnamomum zeylanicum</i> CT cinnamaldehyde (écorce), 3,00 % de <i>Rosmarinus officinalis</i> CT cineol (feuille), 1,04 % de <i>Daucus carota</i> CT carotol (graine), et 88,90% d'huile de <i>Camelina sativa</i> (graine).

5.5. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Il existe diverses méthodes pour extraire les huiles essentielles dans le but de capter et de collecter les produits les plus volatils des plantes sans en altérer la qualité. Parmi ces méthodes on trouve l'hydrodistillation utilisée par **Santosa *et al* (2019)** et **Charifi *et al* (2021)**. La technique consiste à immerger la matière première dans un bain-marie, puis à faire bouillir tout le bouillon. Elle est généralement réalisée à pression atmosphérique et peut être réalisée avec ou sans la symbiose des eaux aromatiques obtenues lors de la décantation. Les conditions d'exploitation, notamment la durée, ont un impact considérable sur le rendement et la composition de l'HE. Une autre méthode qui a été utilisée par **Muntean *et al* (2019)** et **Vrenna *et al* (2021)** c'est la distillation à vapeur qui consiste à soumettre la matière végétale à un courant de vapeur sans imprégnation préalable. Les vapeurs saturées en composés volatils sont condensées puis essentiellement décantées puis séparées en une phase aqueuse (HA) et une phase organique (HE). Cependant, la méthode d'extraction par solvant organique (par ex l'hexane, l'éthanol) a été appliquée dans l'étude de **Khan *et al* (2017)** et l'étude de **Khan *et al* (2015)**. Le solvant choisi doit avoir une certaine stabilité face à la chaleur, à la lumière ou à l'oxygène. Son point d'ébullition est de préférence bas pour faciliter son élimination, et il ne doit pas réagir chimiquement avec l'extrait. L'extraction consiste à placer le solvant volatil et la matière végétale à traiter dans un extracteur. Du fait du lavage en continu, le solvant va être saturé en molécules aromatiques puis envoyé au concentrateur pour être distillé à pression atmosphérique. Pour les autres études, les HEs ont été achetées préparées.

5.5.1. Techniques utilisées dans chaque étude

Chaque recherche se caractérise par ses méthodes d'isolement et d'identifications entre une recherche et une autre on peut trouver des méthodes en commun ces dernières sont généralement les plus classiques.

Tableau 13. Les techniques utilisées.

Référence	Méthodes
1/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	<ul style="list-style-type: none"> - Identification : par des techniques microbiologiques standards par les tests de coloration de Gram, de catalase et de coagulase ainsi que le test API-Staph. - Détection de la production de biofilm : par la méthode sur plaque de culture tissulaire (TCP) et la méthode sur gélose au rouge Congo (CRA) - Détection de la ICA opéron des <i>Staphylocoques spp</i> : par la technique du choc thermique à partir d'une culture fraîche après 18 à 24 h à 37°C sur gélose ordinaire. - Détection des gènes de la toxine staphylococcique : par PCR.
2/ (Ghellati <i>et al.</i> , 2014)	<ul style="list-style-type: none"> - Identification : basé sur des techniques microbiologique standard et conventionnelles, y compris les tests de coloration de Gram, de catalase et de coagulase et la galerie API Staph. - Détection de la production de biofilm : par la méthode des plaques de microtitration - Détermination de la densité optique (DO) : les bactéries adhérentes ont été colorées avec un Absorbance Microplate Reader (modèle EL x 800) à une longueur d'onde de 630 nm
3/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> - Culture microbiologique des dispositifs cardiaques implantables (DCI) - Identification biochimique des isolats de bactéries : par des API API 20E, API 20NE et API Staph, et confirmé par le système Siemens Healthcare Diagnostics WalkAway® 96 plus. - Antibiogramme : par la méthode de diffusion en disque sur gélose Mueller-Hinton selon les recommandations du comité antibiogramme de la Société française de microbiologie (EUCAST). - Détection du biofilm : par la méthode Tissue Culture Plate (TCP) et la méthode Congo Red Agar (CRA).
4/ (Socohou <i>et al.</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> - Isolement de <i>Staphylocoques</i> sur gélose Chapman. - Identification de <i>Staphylocoques</i> à l'aide de méthodes microscopiques et biochimiques (coloration de Gram, test DNase et test catalase) et API®Staph. - Antibiogramme : par la méthode de diffusion sur disque sur milieu Mueller Hinton agar selon les recommandations EUCAST et CLSI.

	- Test de formation de biofilm par la méthode de microplaque..
5/ (Aissat <i>et al.</i> , 2016)	<ul style="list-style-type: none"> - Culture bactérienne sur gélose Chapman, MacConkey et KingA - Evaluation de potentiel antibactérien des échantillons de miel par les tests : la diffusion en puits d'agar (AWD) et le pourcentage d'inhibition du biofilm (PBI). - Détermination de l'activité anti-adhésive bactérienne des SH (miel du Sahara) et P-SH (miels de propolis-Sahara) contre les biofilms en-utilisant des cathéters stériles et de bouillon nutritif + SH ou P-SH.
6/ (Bellifa <i>et al.</i> , 2013)	<ul style="list-style-type: none"> - Identification des isolats de <i>K. pneumoniae</i> par des méthodes biochimiques conventionnelles et complétés avec le kit de test API 20^E. - Antibiogramme sur la gélose Mueller-Hinton décrit par le CLSI. - Détection de la formation des biofilms : sur des plaques de PVC, selon la procédure de O'Toole et Kolter (1998) et dans des microfermenteurs dynamique (développé par JM Ghigo). - Détermination de concentrations minimales inhibitrices (CMI) des trois antibiotiques : la gentamycine, le céfotaxime et la ciprofloxacine par la méthode de microtitrage décrite dans les directives du National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS). - Détermination de la sensibilité des biofilms vis-à-vis des différentes concentrations d'antibiotiques. - Détection du gène codant pour les pili de type3 ent utilisant une matrice d'ADN amplifiée par PCR et réalisée par le système Expand Long Template PCR (Roche, Mannheim, Allemagne).
7/ (Morghad <i>et al.</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> - Identification par : la coloration Gram, test catalase, test oxydase et les galeries API . - Détection de la formation des biofilms par la méthode de la plaque de microtitration au cristal violet.
8/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	<ul style="list-style-type: none"> - Isolement sur Les milieux sélectifs suivants : Chapman pour les <i>Staphylococcus</i>, cétrimine pour <i>Pseudomonas</i> et EMB (Eosine Bleu de Méthylène) pour les Entérobactéries. - Identification des bactéries selon les méthodes de bactériologie classique. - Antibiogramme : par la méthode de diffusion en milieu gélifié avec l'interprétation selon les critères du CA-SFM. - Mise en évidence des Entérobactéries productrices de betalactamase à spectre élargie (BLSE) par un test de synergie (Association d'Amoxicilline-acide clavulanique avec la céphalosporine de troisième génération).

	<ul style="list-style-type: none"> - Recherche de méticilline-résistance des <i>Staphylocoques</i> à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 microgrammes) dans les conditions standards de l'antibiogramme.
9/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	<ul style="list-style-type: none"> - Isolement des 120 souches de <i>k. pneumoniae</i>. - Détermination de l'identification et le profil de résistance aux antibiotiques par le système Vitek2 et interprétation des résultats EUCAST. - Production d'exopolysaccharides par le test sur gélose au rouge congo. - Production des biofilms par la plaque TCP. - Expression des gènes par Test PCR et RT-PCR. - Analyse ultrastructurale des biofilms par FESEM
10/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> - Culture des souches dans un milieu de bouillon de soja tryptique (TSB, Qingdao Hope Bio-Technology Co., Ltd., Qingdao, Shandong, Chine) à 37°C. - Détermination des CMI du carnosol et des antibiotiques utilisés par microdilution dans un bouillon Mueller-Hinton ajusté en cations à l'aide (CLSI). - Analyse de la courbe de croissance bactérienne sous l'effet des CMI de carnosol et control de densité cellulaire par spectrophotométrie toutes les 0,5 h jusqu'à 6 h. - Détermination des propriétés anti-adhérentes du carnosol sur <i>S. aureus</i> selon par la méthode de microplaque - Mesure de la motilité glissante de <i>S. aureus</i> selon les expansions de croissance des colonies enregistrées à partir du point ponctuel après les avoir traité avec du carnosol étalé sur bouillon LB dans de petites boîtes de Pétri. - Test d'inhibition de la formation de biofilm par le carnosol à l'aide du test de violet de cristal modifié. - Détermination de l'activité métabolique du biofilm formé du test XTT avec des modifications mineures. - L'observation de l'effet du carnosol sur la rupture des biofilms préformés par le confocale à balayage laser (CLSM). - Analyse des métabolites intracellulaires avec le logiciel ChemStation et basée sur la bibliothèque de spectres de masse du National Institute of Standards and Technology (NIST)

11/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	<ul style="list-style-type: none"> - Analyse de l'huile essentielle (MP) à l'aide de l'équipement de chromatographie en phase gazeuse avec le spectromètre de masse (GC-MS) Shimadzu QP 2010 Plus et avec une colonne capillaire qui a les caractéristiques suivantes : AT WAX 30 m × 0,32 mm × 1 µm (identification des constituats de MP avec la base de données NIST). - Isolement des souches bactériennes sur gélose au sang de mouton Columbia 5%. - Identification des isolats selon les caractères morphologiques des colonies et les tests biochimiques obtenus à l'aide du système Vitek 2. - Détermination de la CMI des agents antimicrobiens avec le système Vitek 2 et selon les critères du (CLSI) pour tester la sensibilité des souches étudiés. - Confirmation phénotypique de la production de BLSE (bactéries productrice de de bêta-lactamase) avec le test de synergie entre les céphalosporines à spectre étendu et l'acide clavulanique. - Démonstration de La production de carbapénèmase par des méthodes de disques combinés. - Dépistage à la céfoxitine pour les résistants à la méthicilline <i>Staphylococcus aureus</i> (SARM). - Détection de phénotype de résistance inductible à la macrolide - lincosamide-streptogramine B (MLSBi) soit sur les cartes Vitek AST-P592, soit par l'apparition d'une région D autour du disque de clindamycine à proximité de l'érythromycine, associée à la résistance à l'érythromycine par test de diffusion sur disque. - Définition de l'inclusion dans le groupe MDR(les souches qui ont une résistance acquise à au moins un agent dans trois catégories d'antimicrobiens ou plus) proposée par Magiorakos (2012) .La XDR (les souches bactériennes qui restaient sensibles à au plus deux catégories d'antimicrobiens). - La reconstitution a été accomplie en déchargeant les cryobiles sur un milieu de gélose au sang de mouton Columbia + 5 % (Sanimed, Bucarest, Roumanie) et en incubant pendant 24 heures à 37°C. Après reconstitution, la sensibilité des souches à l'huile de menthe poivrée a été testée. - Évaluation de l'activité antimicrobienne del'huile (MP) par la méthode de diffusion sur disque d'agar et la méthode de microdilution. - La corrélation entre les paramètres (coefficients de Pearson) a été obtenue en utilisant le programme « Microsoft Excel 2010 » (analyses statistiques).
12/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	- Dosage de l'activité antibactérienne par l'étalement de la souche <i>E.coli</i> sur le milieu solide LB et le placement des

	<p>quantités égales d'huile essentielle (<i>Cinnamomum camphora</i>), d'ampicilline, d'acétone et d'eau dans 4 puits respectivement (culture à 37 °C, du jour au lendemain).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Analyse de la croissance d'<i>E.coli</i> par : - l'injection de l'eau, de l'acétone et huile essentielle <i>C. camphre</i> respectivement, dans un milieu liquide LB (trois réplicats pour chaque groupe) , incolué la souche <i>E.coli</i> à 37°C et 200 tr/min , pesage de poids humide des bactéries après centrifugation et pesage du poids sec après incubation à 60°C. - Détermination de la CMI (la concentration la plus faible de l'huile essentielle qui inhibe la croissance des bactéries) et la CMB (concentration minimale de l'huile essentielle qui tue les bactéries) de l'HE sur une plaque. - Détermination de l'effet de <i>C. camphre</i> sur la membrane cellulaire et la paroi cellulaire d'<i>E. coli</i> en traitant cette dernière avec de l'acétone et ½ CMI de <i>C. camphre</i> (l'eau comme témoin). -Détection de la β-galactosidase (β-Gal) et la phosphatase alcaline (AKP) par les kits de dosage de l'activité enzymatique de ces derniers. - Analyse ARN-seq pour obtenir les informations de localisation sur le génome de référence d'<i>E.coli</i> et pour avoir des données propres et de haute qualité. - Réalisation de La réaction en chaîne par polymérase en temps réel (RT-PCR) à l'aide du SYBR Green Premix Ex Taq II et du système de PCR en temps réel Applied Biosystems StepOnePlus.
13/ (Esmâël <i>et al.</i> , 2019)	<ul style="list-style-type: none"> - Inoculation des échantillons sur milieu gélose au sang de mouton à 37 °C dans des conditions aérobies et anaérobies pendant 2 à 7 jours. - Identification biochimique. - Séquençage partiel du gène de l'ARNr 16S pour confirmer l'identification biochimique. - Antibiogramme selon la méthode de diffusion sur disque (résultats conclus selon les directives de CLSI). - Évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles végétales choisis par la méthode de diffusion sur puits d'agar. - Détermination de la CMI et la CMB des huiles d'arbre à thé et de romarin à l'aide d'un test en bouillon « Brain Heart Infusion (BHI)» dans des plaques de microtitration à 96 puits. - Analyse par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) des principaux constituants essentiels des huiles d'arbre à thé et de romarin à l'aide du GC Agilent Technologies.

14/ (Vrenna <i>et al.</i> , 2021)	<ul style="list-style-type: none"> - Cultures microbiologiques avec des milieux sélectifs et des systèmes manuels et automatiques (API20NE, Vitek2, spectrométrie de masse MALDI-TOF). - Identification par séquençage de l'ARNr 16S. - Tester la sensibilité aux carbapénèmes (imipénème, méropénème), à la pipéracilline/tazobactam, aux aminoglycosides (tobramycine, amikacine), aux quinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine), au monobactame (aztréonam) et aux céphalosporines (inhibiteur de la ceftépidime) par le E -test selon les critères EUCAST. - Évaluation des valeurs de CMI de la colistine par Broth Microdilution. - Culture des bactéries dans un bouillon Brain Heart Infusion (BHI). - Culture des cultures planctoniques dans des flacons sous agitation vigoureuse (180 rpm) et réalisation de la formation de biofilm dans des conditions statiques à 37 ° C. -Détermination de le CMI de l'huile essentielle <i>coridothymus capitatus</i> (CC) conformément aux directives (CLSI). - Détermination de l'effet du CC au début de la culture (0 h, période de préadhésion) et après la formation du biofilm (24 h de culture bactérienne), sur plaque de microtitration. - Détermination de l'effet du CC sur La production de pyocyanine comme décrit par Pejčić et ses collègues avec modifications. - Test d'inhibition de l'essaimage du CC sur les ATCC et les souches cliniques effectué comme précédemment publié par Yang et ses collègues, avec quelques modifications. - Test d'inhibition de la nage du CC de nage sur les ATCC et les souches cliniques effectué selon les mêmes procédures que celles du test d'essaimage, avec quelques modifications. - Analyse de l'effet du CC par SEM (reconstruction tridimensionnelle réalisée par Hitachi Map 3D Software)
-----------------------------------	---

15/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	<ul style="list-style-type: none"> - Détermination des CMI et CMB des huiles essentielles (HE) et des enzymes contre les cellules planctoniques dans un bouillon de Muller–Hinton en utilisant une méthode de microdilution dans une microplaque de 96 puits. - Évaluation de L'inhibition de la formation de biofilm par la méthode des plaques de culture tissulaire adoptée par Adukwuet coll avec des modifications mineures. - Test de l'éradication du biofilm à l'aide d'une microplaques à 96 puits , et la viabilité des cellules du biofilm 24 h après le traitement d'éradication du biofilm à l'aide d'une plaque de gélose nutritive. - Détermination de l'effet du menthol et du thymol sur les cellules planctoniques et biofilms par la méthode de dilution en bouillon décrite par Nostroet coll avec quelques modifications. - Détermination de l'effet de l'huile de thym, de l'huile de menthe poivrée, du thymol, du menthol et de l'enzyme bromélaïne sur le biofilm KP par la microscopie électronique à balayage (SEM). - Détermination de l'effet synergique des agents antibiofilm et de la CMI de ciprofloxacine par la méthode de microdilution.
16/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	<ul style="list-style-type: none"> - Identification biochimiques. - Antibiogramme sur gélose Mueller-Hinton (MHA) par la méthode de diffusion sur disque (pour tester le sensibilité des isolats cliniques). - Évaluation de l'activité des feuilles d'<i>Alkanna tinctoria</i> des bactéries MDR sélectionnées par la méthode de diffusion en puits. - Détermination des CMI (avec des tubes contenant un bouillon nutritif) et CMB (avec des plaques de gélose nutritive). - L'analyse phytochimique des métabolites secondaires selon les méthodes phytochimiques courantes décrites par Trease et Evans.
17/ (Khan <i>et al.</i> , 2017)	<ul style="list-style-type: none"> - Inoculation des cultures fraîches sur gélose MH. - Activité antimicrobienne des fractions HPLC de <i>P.granatum</i>, sur une plaque. - Analyses des fractions, présentant une activité antimicrobienne LC MS/MS. - Recherche de la structure chimique et d'autres paramètres de chaque composé à l'aide d'un logiciel de base de

	données en ligne (www.chemspider.com).
18/ (Brochot <i>et al.</i> , 2017)	<ul style="list-style-type: none"> - Repiquage des souches sur gélose trypticase soja dans des conditions aérobies à 36°C pour <i>P. aeruginosa</i> CIP 103467, <i>P. mirabilis</i> CIP 103181T, <i>E.coli</i> UTI 89, <i>S.thymhimurium</i> CIP 6062T, <i>Y. enterocolitica</i> CIP 8027T, <i>K. pneumoniae</i> CIP 8291T, <i>S. aureus</i> MRSA ATCC 33591 et <i>E. coli</i> ESBLy. Gélose Columbia à 5% d'érythrocytes de mouton sous CO₂ ou anaérobie à 36°C pour <i>S. pyogenes</i> CIP 5641T, <i>S. pneumoniae</i> CIP 104471, <i>L.monocytogenes</i> CIP82110T, <i>B. fragilis</i> ATCC 25285, <i>H.influenza</i> IP 102514 et <i>B. catarrhalis</i> CIP 7321T. - Test de l'activité antibactérienne de mélange AB1 et AB2 contenaient de <i>Cinnamomum zeylanicum</i>, <i>Daucus carota</i>, <i>Eucalyptus globulus</i> et <i>Rosmarinus officinalis</i> à l'aide des plaques de microtitration. - Test de la sensibilité des bactéries aux amoxicilline. - Détermination de la CMI par la méthode de dilution en série et la CMB par repiquage sur boîtes de gélose MH après incubation.
19/ (Santosa <i>et al.</i> , 2019)	<ul style="list-style-type: none"> - Analyses par chromatographie en phase gazeuse (GC) à l'aide d'un Thermo Fisher Scientific Trace GC. - Identification des composants individuels de HE <i>Syagrus coronata</i> (SC) selon leurs Indices de Rétention (IR), calculés selon l'équation de van Den Dool et Kratz et comparés à la littérature. - Antibiogramme pour tester la sensibilité des isolats cliniques <i>S. aureus</i> aux antibiotiques selon la technique de diffusion sur disque de Kirby- Bauer. - Calcul d'indice de résistance multiple aux antibiotiques (MAR) en utilisant la formule $MAR = x/y$: x est le nombre d'antibiotiques aux quels l'isolat a démontré une résistance y : est le nombre total d'antibiotiques testés - Évaluation et quantification de la formation de biofilm à l'aide d'un test de microplaque de titrage. - Détermination de CMI par la méthode de microdilution avec bouillon MH. - Détermination de la CMB comme le plus bas concentration SC capable a été d'empêcher la croissance bactérienne - Évaluation de la capacité d'éradication du biofilm de SC selon Zimmer <i>et al.</i> - Culture et traitement des biofilm avec du SC dans des plaques de microtitration à 96 puits contenant un morceau de lame Permanox™ dans chaque puits. - Essai de survie des larves de <i>Galleria mellonella</i> infectés par <i>S. aureus</i> UFPEDA-02 (ATCC-6538) et injectés par l'huile essentielle de <i>S. coronata</i>.

	<ul style="list-style-type: none"> - Mesure de l'effet de SC sur la production de mélanine induite par l' infection à <i>S. aureus</i> comme décrit par Scorzoni <i>et al</i> avec modifications. - Évaluation de l'effet de SC sur la charge bactérienne dans l'hémolymphe, en infectant les larves par <i>S. aureus</i> et les traitées avec de l'huile essentielle.
20/ (Charifi <i>et al.</i> , 2021)	<ul style="list-style-type: none"> - Analyse des HE par GC- MS à l'aide d'un détecteur sélectif de masse Hewlett Packard 5972A .. -Détermination de la CMI de l'huile essentielle <i>Cuminum cyminum</i> (<i>L. cumin</i>) : par la méthode de microdilution en bouillon et la CMB à partir des puits sans croissance visible. - Évaluation de l'effet de <i>L. cumin</i> sur la structure et la morphologie des cellules <i>S. aureus</i> ATCC 33591 à l'aide d'images au microscope électronique à balayage (MEB). - Test de dosage d'inhibition d'Efflux EtBr selon Kaatz <i>et al.</i> -Test quantitatif de transcription inverse-réaction en temps réel par PCR à l'aide d'un mélange maître commercial SYBR Green et de paires d'amorces.

Chapitre 6. Résultats de l'analyse théorique

6.1. Résultats des techniques utilisées

Les résultats de chaque recherche se diffèrent de l'autre selon la nature et la composition du produit testé en premier lieu, le type du prélèvement et le matériel utilisé en seconde lieu et la souche bactérienne en dernier lieu.

Tableau 14. Les résultats trouvés.

Référence	Techniques
1/ (Lachachi <i>et al.</i> , 2013)	<p>- Isolement et identification des 31 souches de staphylocoques à coagulase négative comme suit : <i>Staphylococcus warneri</i> (83,87%), <i>Staphylocoque Hominis</i> (12,90%) et <i>Staphylococcus saprophyticus</i> (3,22%).</p> <p>- La méthode TCP pour l'évaluation de la production des biofilms : a montré que 16 isolats (51,61%) étaient de forts producteurs, 10 (32,25%) étaient modérés et 5 (16,12%) étaient de faibles producteurs de biofilm.</p> <p>- La méthode sur plaque CRA pour l'évaluation de la production du mucus : a montré que 20 isolats (64,51 %) sont producteurs du mucus et 11 (35,48 %) non- producteurs.</p> <p>- Test de ICA opéron : la capacité génotypique à former un biofilm a été identifiée chez 14 souches (45,16%) des 30 et un isolats de <i>staphylocoques</i>, parmi 14 souches possèdent la ICA opéron, 10 souches étaient positives pour ICAD , 2 souches étaient positives pour <i>icaB</i> , une souche étaient positifs pour <i>icaBD</i> , et un seul isolat portait le <i>icaADB</i> gènes . Toutes les souches étudiées n'ont pas le <i>icaC</i> gène.</p> <p>- Le Test PCR pour la détection des gènes de toxine individuels (pour 31 souches) : a montré que 5 souches de <i>Staphylococcus warneri</i> portaient des gènes de toxine, 3 (9,67%) étaient positifs pour <i>edinABC</i>, 3 (9,67%) pour <i>seh</i>, 3 (9,67%) pour <i>sem</i> , et un (3,22 %) contenait le gène de Luk M. Parmi ces 5 isolats abritaient les gènes de la toxine, 3 étaient positifs pour ICA opéron, et 4 ont pu produire un biofilm par TCP et du slime par CRA.</p>
2/ (Ghellati <i>et al.</i> , 2014)	<p>- Isolement de 50 souches cliniques de <i>S.aureus</i> des différents services : Néonatalogie (27 /54%), pneumologie (9 /18%), pédiatrie (5 /10%), neurologie (5 /10%) et médecine interne(4 /8%).</p> <p>- Test de formation des biofilms sur la plaque de microtitration : Les isolats cliniques ont été classés en quatre catégories ; souches non adhérentes ($DO \leq 0,2$), faiblement ($0,2 < DO \leq 0,4$), modérément ($0,4 < DO \leq 0,8$) et fortement ($0,8 < DO$) adhérentes . Sur les 50 isolats cliniques étudiés, 16 (32 %) ont été désignés comme non adhérents, 20 (40 %) comme faiblement 10 (20 %) comme modérément et 4 (8 %) comme fortement adhérents.</p>
3/ (Meziani <i>et al.</i> , 2020)	<p>- Le taux d'infection développé sur les DCI retiré chez 17 patients était 54%. Les 17 patients n'ont subi qu'une seule intervention</p>

	<p>chirurgicale, mais un patient a subi deux interventions chirurgicales dans les trois mois en raison d'infections répétées de son DAI.</p> <p>- Six patients (35,3 %) avaient une infection précoce du DAI tandis que 11 patients (64,7 %) avaient une infection tardive. 9 patients avec des infections primaires associées à l'implantation du DCI alors que 8 ont présenté des changements dans les infections des poches du DCI.</p> <p>- Isolement et identification des 54 bactéries : (26 Gram positives et 26 Gram négatives) , les <i>staphylocoques</i> à coagulase négative représentant 46,3 % (25/54) du total des isolats. 27 isolats bactériens ont été récupérés des poches DCI et 27 des fils DCI. Les bactéries entériques les plus fréquemment isolées étaient <i>Pseudomonas spp</i>, <i>Klebsiella spp</i>, <i>Protée spp.</i>, <i>Serratia spp</i>, et <i>Entérobactérie spp</i> identifié dans 9 CIM comprenant 29 des 54 souches (53,7 %).</p> <p>- Des bactéries rarement isolées de certains DCI comprenaient <i>Ochrabactrum antropi</i> , <i>Ewingella americana</i> , et <i>Photobactérie damsela</i>.</p> <p>- L'infection était polymicrobienne chez 15 des 17 patients (88,2 %) avec des combinaisons de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> <i>Staphylococcus sciuri</i>, <i>Vibrio fluvialis</i> et <i>Staphylocoque capitis</i> , et monomicrobienne chez un patient (P4) où la poche du DCI et la sonde ont été colonisées par la même souche <i>Staphylococcus epidermidis</i> et un autre patient (P2) où seule la poche a été colonisée par <i>Staphylococcus xylosus</i>.</p> <p>-Antibiogramme : Les isolats bactériens à Gram négatif montrent un taux de résistance élevé (> 90 %) à l'amoxicilline, à l'acide clavulanique, au céfotaxime et à la gentamycine, avec 3 isolats résistants à l'imipénème. Aucune des souches de <i>staphylocoques</i> n'était résistante à la vancomycine.</p> <p>- les méthodes CRA et TCP pour la détection des biofilms : sur les 54 isolats bactériens, 44 (81,5 %) sont des producteurs de biofilms par la méthode CRA on révèle que 24 entre eux sont de fort producteurs. La méthode TCP a détecté des biofilms dans 48 (88,9 %) des 54 isolats avec différentes intensités ; 30 (55%) isolats sont de forts producteurs, 18 (33,3%) isolats producteurs modérés, 6 (11,1%) isolats sont de faibles producteurs de biofilms, tandis que 10 (18,5%) n'y sont pas producteurs. 37 (68,5 %) des 54 isolats sont positifs à la fois par les méthodes TCP et RCA.</p>
<p>4/ (Socohou <i>et al.</i>, 2020)</p>	<p>- Identification des bactéries : 77 % des échantillons ont été contaminés par 13 espèces de <i>Staphylocoque spp</i> à savoir : <i>S.aureus</i> , <i>S. capite</i> , <i>S. cohnii ssp. cohnii</i> , <i>S. épiderme</i> , <i>S. hémolytique</i> , <i>S. Hominis</i> , <i>S. lentille</i> , <i>S. lugdunensis</i> , <i>S. saprophyte</i> , <i>S. schleiferi</i> , <i>S. sciure</i> , <i>S. xylose</i> , et <i>S. warneri</i> . <i>S. Staphylococcus aureus</i> est le plus prédominant (43 %) suivi de <i>S. xylose</i> (11 %). <i>S.saprophyte</i> et <i>S. warneri</i> (1 %) les moins isolés.</p> <p>- Le service de pédiatrie est le plus contaminé (33%) par les souches de <i>S .aureus</i> suivie de la maternité et la néonatalogie (25%) et la centrale de stérilisation qui est la moins contaminée (7%).</p>

	<p>- Antibiogramme : Les souches <i>S. aureus</i> (coagulase positive) sont résistantes à la céphalothine, la fosfomycine (92,5 %) et à la céfoxitine (87,5 %). La résistance la plus faible de <i>S. aureus</i> est au chloramphénicol (15 %) et à la vancomycine (25 %). Les autres souches de <i>staphylocoques</i> à coagulase négative présentes une résistance élevée à la fosfomycine (94 %) et à la pénicilline (87 %) et une résistance faible aux gentamycine (17 %) et ciprofloxacine (17%).</p> <p>- Le test de formation de biofilm : 37% des isolats sont des formateurs de biofilm. les espèces <i>S. lugdunensis</i> et <i>S. warneri</i> sont 100% des formatrices de biofilm suivies de <i>S. épiderme</i> (60 %). Cependant, aucune formation de biofilm n'a été remarquée avec les espèces <i>S. cohnii sp</i>, <i>S. cohnii</i> , <i>S. hémolytique</i> , et <i>S. saprophytes</i>.</p>
<p>5/ (Aissat <i>et al.</i>, 2016)</p>	<p>- Le pourcentage d'inhibition du biofilm (PBI) par le (SH) : Le PBI pour les bactéries à Gram positif (<i>S. aureus</i>) est de 16 % à 47 %, alors qu'ils ont été de 17 % à 57% pour <i>P. aeruginosa</i> et de 16 % à 65 % pour <i>E. coli</i>. Le PBI le plus élevé (65 %) de SH2 uniquement sur <i>E. coli</i> .</p> <p>- Les tests AWD (pour le SH) montrent que les zones d'inhibition variaient de 11 à 20 mm pour <i>S. aureus</i> , 12–16 mm pour <i>P. aeruginosa</i> et 11–19 mm pour <i>E. coli</i> . L'inhibition la plus élevée (20 mm) a été produite par SH1 uniquement sur <i>S. aureus</i>.</p> <p>- l'effet synergique entre les SH et les P-SH : En combinaison avec les P-SH, le PBI varie de 16 % à 97 % vis-à-vis <i>S. aureus</i> , 31% à 87% vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> et 22% à 67% vis-à-vis <i>E. coli</i>. Le PBI le plus élevé (97%) est celui du SH2 en combinaison avec la propolis sur <i>S. aureus</i>.</p> <p>-Les tests AWD (pour le P-SH) : les zones d'inhibition varient de 22 à 18 mm vis-à-vis <i>S. aureus</i> , 31–87 mm vis-à-vis <i>P. aeruginosa</i> et 22–67 vis-à-vis <i>E. coli</i>. La concentration la plus élevée est de 100 % pour inhiber simultanément toutes les bactéries testées.</p> <p>- L'effet des SH et P- SH sur la croissance bactérienne formant des biofilms : dans une deuxième série d'expériences, une croissance de 48h en absence de SH et P-SH (biofilms préformés) a été additionnée de SH et P-SH à différentes concentrations pendant 48 h. Les SH et P-SH inhibent la formation de biofilm sur les cathéters ,ce qui suggère que les SH, la propolis et les P-SH ont une meilleure capacité à prévenir la formation de biofilm.</p>
<p>6/ (Bellifa <i>et al.</i>, 2013)</p>	<p>- Détermination des CMI et de la sensibilité du biofilm : Les résultats montrent que la concentration de gentamycine nécessaire pour inhiber la forme biofilm est en moyenne 10 fois supérieure à la CMI de la forme planctonique et au moins 25 fois supérieure pour le céfotaxime. Concernant la ciprofloxacine, trois échantillons nécessitent une double quantité d'antibiotique et les échantillons restants exigent presque la même quantité que les précédents.</p> <p>- Détection des gènes codant pour les pili de type 3 : La technique PCR a été appliquée aux 24 isolats cliniques et à une souche de</p>

	référence <i>K.pneumonie</i> Lm 21. Un fragment de 500 bp spécifique du gène codant pour les fimbriae de type 3 mrkD a été détecté dans 22 des 24 souches.
7/ (Morghad <i>et al.</i> , 2020)	<p>- Echantillonnage : Prélèvement des 20 échantillons d'eau dans la boucle de distribution (3 à 5 échantillons par mois) et 10 autres échantillons juste à l'entrée de chaque machine.</p> <p>- Le dénombrement bactérien de l'eau prélevée dans la boucle de distribution variaient de 90 à 150 UFC/mL avec une moyenne de 118 UFC/mL, tandis que le taux de bactéries dans les différents générateurs de dialyse (entrée de la machine de dialyse) est avec une moyenne de 182 ufc/mL. Les taux maximaux trouvés aux machines M9, M5 et M10 étaient respectivement de 220, 202 et 197 UFC/mL.</p> <p>- Les résultats du dénombrement des bactéries adhérent (biofilm) sur 1 cm² sont avec des taux de 4,30 Log UFC/ cm² pour les machines 7 et 6,74 Log UFC/ cm² pour les machines 9.</p> <p>- L'identification bactérienne : Les espèces de bactéries les plus fréquemment retrouvées dans l'eau des deux sites étudiés, sont <i>Bacille</i> et représentent 52% des souches isolées suivis des <i>Enterobacteriaceae</i>, dont <i>Enterobacter cloacae</i> 23, 52% dans l'eau de la boucle est 17,39% dans l'eau arrivant aux générateurs. Les <i>staphylocoques</i> à coagulase positifs et négatifs ont été trouvés dans l'eau de dialyse.</p> <p>- D'autres espèces telles que <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>P.aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i> se trouvent aussi dans l'eau de dialyse, tandis que des espèces de <i>Staphylococcus</i> et du genre <i>Bacille</i> (tel que <i>Bacillus mycoïdes</i>, <i>Bacillus lentus</i>, <i>Bacillus lechiniformis</i> et <i>Bacillus cereus</i>) sont absentes.</p> <p>- Les espèces <i>Bacille pumilis</i> était présente dans la boucle d'eau plus qu'à l'entrée des générateurs (près de 9% plus élevée).</p> <p>- Le pourcentage d'entérobactéries (<i>Enterobacter</i> et <i>Klebsiella</i>) a été diminué et remplacé par une augmentation des bactéries non fermentantes telles que <i>P.aeruginosa</i> et <i>A.baumannii</i>.</p> <p>- Parmi les 52 souches isolées, le genre <i>Bacille</i> (21) était le plus fréquent avec une prédominance de <i>mycoïdes B</i> et <i>B pumilis</i>. <i>Staphylocoques spp</i> étaient plus régulièrement distribués. Les entérobactéries (11) également trouvées et représentées par <i>E.cloaques</i> (07), <i>Klebseilla pneumoniae</i> (02), <i>Klebseilla oxytoca</i> (02) Les autres espèces présentes dans ce biofilm étaient <i>P.aeruginosa</i> (07) et <i>A. baumannii</i> (02).</p> <p>- Détermination de la formation des biofilms: Les canalisations des machines 8 et 9 étaient fortement contaminées et leur biofilm était composé de plusieurs espèces suivies, des machines 10, 3 et 4 où les espèces de <i>B pumilis</i> était le plus représentatif et <i>E cloaques</i>, <i>mycoïdes B</i>, <i>P.aeruginosa</i>, <i>A.baumannii</i>, <i>S. aureus</i> étaient également présents.</p> <p>- Certaines espèces, se trouvent principalement dans le biofilm telle</p>

	<p>que <i>Klebsiella oxytoca</i> .</p> <ul style="list-style-type: none"> - 42 des 52 souches isolées des segments de conduite pouvaient former un biofilm, 29 souches étaient hautement formatrices, 13 de capacité moyenne et 10 étaient faiblement formatrices de biofilm.
8/ (Méité <i>et al.</i> , 2010)	<p>-Isolement des bactéries : 41% (112/264) étaient des bacilles Gram négatif aérobies stricts, 40% (107/264) cocci Gram positif et 19% (51/264) étaient des <i>Entérobactéries</i>.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Les souches liées a une contamination humaine étaient 11,8% (32/270) de <i>Klebsiella pneumoniae</i>, 11,1% (30/270) de <i>Staphylococcus aureus</i> , 5,6% (15/270) du genre <i>Enterobacter sp</i> (8 <i>Enterobacter cloacae</i> et 4 <i>Enterobacter aerogenes</i>) , 0,7% (2/270) d'<i>Escherichia coli</i> , 0,4% (1/270) de Espèces de <i>Salmonella</i> et 0,4% (1/270) de <i>Shigella spp.</i> - Les souches de l'environnement 69% (187/270) étaient de 31,5% (85/270) du genre <i>Acinetobacter</i> , 28,5% (77/270) du genre <i>Staphylococcus</i> à coagulase négative (SCN), 5,6%(15/270) du genre <i>Pseudomonas</i> dont 9 souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i>. <p>-Antibiogramme : 23,5% (12/51) des <i>Entérobactéries</i> produisaient une bêtalactamase à spectre élargie (BLSE) et 13,3% (14/107) de souches <i>Staphylocoque</i> Méricillino-résistantes. 60% (9/15) des souches de <i>Pseudomonas</i> et 11,8%(/85) des souches d' <i>Acinetobacter</i> étaient résistantes à la ceftazidime.</p> <ul style="list-style-type: none"> - 60%(9/15) des <i>Pseudomonas</i> , 21,2%(/85) des <i>Acinetobacter</i> étaient résistants au ciprofloxacine. - Répartition des bactéries résistantes aux envisager dans l'environnement hospitalier : 54,6% des souches de <i>Staphylocoque</i> les méticillo-résistantes ont été retrouvées au niveau des lits et 27,3% au niveau des poignées de portes manipulées par le personnel soignant et les visiteurs. - 54,6% des souches d'<i>entérobactéries</i> BLSE ont été retrouvées au niveau des lavabos. - Concernant les services, 50% des souches de <i>Staphylocoque</i> résistants à la méticilline ont été isolés au service de pédiatrie et les 2/3 des souches d'<i>entérobactéries</i> BLSE étaient isolés dans les services de néonatalogie et d'endocrinologie.
9/ (Vuotto <i>et al.</i> , 2017)	<ul style="list-style-type: none"> - Antibiogramme : 24 souches ont été sensible à tous les antibiotiques testés (isolats S). 40 souches (groupe MDR) et 56 souches (groupe XDR) étaient résistantes à au moins une pénicillines +b-inhibiteur de lactamase (85%), fluoroquinolones (80%), aminoglycosides (70%), aux inhibiteurs de la voie des folates (65%), aux céphalosporines à spectre non étendu (65%), aux céphamycines (60%), aux pénicillines antipseudomonales +b-inhibiteurs de lactamase (57-5%), phénicolos (55%), monobactame (42-5%) et acides phosphoniques (42-5%). - Un petit nombre de souches MDR étaient également résistantes au

	<p>moins à un carbapénème (32-5%), une céphalosporine de quatrième génération (32-5%), des glycylicyclines (22-5%) et des polymyxines. MDR étaient résistantes aux céphalosporines de troisième génération et XDR aux céphalosporines de quatrième génération. Les acides phosphoniques, 42-5% pour MDR et 94,6 % pour XDR.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Résistance aux antibiotiques de <i>K. pneumoniae</i> : 54 des 56 souches XDR avec la CMI de Meropenem $\geq 0-5$ $\mu\text{g/ml}$, ainsi que les 12 des 40 souches MDR, ont été confirmées comme étant <i>bla</i>cpk-producteurs. -Production des biofilms : les (17/24) des isolats S ont été classés comme producteurs de biofilms forts (OD moyennes = 0-9 0-3), (3/24) comme producteurs de biofilm modérés (DO moyenne = 0-5 0-04) et (4/24) comme producteurs de biofilm faibles (DO moyenne = 0-2 0-02), - (27/40) des souches MDR étaient de fortes productrices de biofilms (DO moyennes = 1-6 1-1), (10/40) des productrices modérées de biofilms (DO moyennes = 0-4 0-1) et (3/40) de producteurs de biofilms faibles (DO moyennes = 0-2 0-03). - En ce qui concerne les souches XDR (51/56) des isolats se sont des forts producteurs de biofilm (moyenne des DO = 1-9 1-1), (4/56) des producteurs modérés de biofilm (moyenne DO = 0-4 0-1) et (1/56) producteurs de biofilms faibles (DO moyenne = 0-2 0-01). - Quels que soient les trois groupes, les 66 souches résistantes aux carbapénèmes étaient significativement plus capables de former un biofilm par rapport aux 54 souches sensibles aux médicaments (P = 0-0001).
10/ (Shen <i>et al.</i> , 2020)	<ul style="list-style-type: none"> - Activité de Carnosol Contre <i>S. aureus</i> planctonique : Les souches cibles étaient sensibles à la vancomycine et résistantes à la pénicilline G et à la gentamicine. Cependant, la plupart des souches cliniques étaient résistantes aux tétracyclines et à l'oxacilline à l'exception de MSSA 4611. - La plupart des souches cliniques étaient résistantes à la lévofloxacine et à la ciprofloxacine à l'exception de SARM (<i>S.aureus</i> résistante à la métilicine) 4611 et 4672. - Les CMI du carnosol pour les souches cibles étaient de 32 à 256 $\mu\text{g/ml}$. - La courbe de croissance de SARM a montré que le carnosol provoquait un retard de croissance significatif des cellules bactériennes ; la pente de la courbe de croissance bactérienne a diminué de façon continue avec l'augmentation de la concentration de carnosol au cours des 4 premières heures. Les bactéries se sont à peine développées jusqu'à 6 h à 256 $\mu\text{g/mL}$ (concentration CMI) de carnosol. - Effets de Carnosol sur la formation de biofilm : l'agent le plus dilué ayant une formation de biofilm proche de celle du témoin (biofilm dans le sérum physiologique). Un effet anti-attachement sur <i>S. aureus</i> (ATCC 29213, MRSA et MSSA) par rapport au témoin été

	<p>exercé par des concentrations inférieures à la CMI de carnosol ($1/8 \times$ à $1 \times \text{MIC}$).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le carnosol a diminué la production d'EPS de MRSA 4670 avec une réduction maximale de 78,2 % qui a été mesurée pour $1/2 \times \text{MIC}$ traité. - L'électrophorèse sur gel d'agarose a montré une réduction dépendante de la concentration de la synthèse d'ADNe lors du traitement au carnosol par rapport au contrôle, ce qui indique que le carnosol inhibait la formation de biofilms de Staphylocoque. - La motilité bactérienne : Les résultats montrent que des concentrations inférieures à la CMI de carnosol atténuent le glissement du SARM 4670 par rapport au témoin. - Le diamètre de la zone est diminué avec $128 \mu\text{g/mL}$ de traitement au carnosol par rapport au groupe témoin. Ainsi, l'inhibition de la formation de biofilm par le carnosol est liée à une réduction de la motilité bactérienne. - Perturbation des biofilms préformés : le carnosol ($1/2 \times$ à $4 \times \text{MIC}$) a un effet destructeur sur les biofilms préformés dans lequel il a atténué le biofilm d'ATCC 29213, MRSA 4642, MRSA 4670 et MSSA 4611. - Le carnosol réduisait de manière significative l'activité métabolique des biofilms produits par ATCC29213, MRSA4642, MRSA 4670 et MSSA 4611. - L'observation avec CLSM montre qu'avec le traitement au carnosol, les cellules mortes (rouges) ont montré les plus fortes augmentations, les cellules vivantes (vertes) ont eu les plus grandes diminutions de biofilm, ce qui indique que le carnosol pourrait pénétrer le biofilm et perturber les biofilms préformés. - Effet de carnosol sur le profil métabolique de <i>S. aureus</i> : l'analyse de classification hiérarchique (HCL) ont montré que le carnosol induisait des altérations évidentes des métabolites dans les cellules planctoniques et les biofilms. - les diagrammes de scores bidimensionnels des modèles PCA ont démontré que ces groupes étaient séparés les uns des autres et du groupe témoin lors du traitement au carnosol. - Les résultats de base de données des voies KEGG montrant que lors du traitement au carnosol chez <i>S. aureus</i>, les cellules planctoniques et les biofilms étaient fortement associés à la perturbation du métabolisme du glyoxylate et du dicarboxylate, métabolisme de la glycine, de la sérine et de la thréonine, métabolisme de l'arginine et de la proline, métabolisme de l'alanine, de l'aspartate et du glutamate, biosynthèse de l'arginine et biosynthèse de l'aminoacyl-ARNt, métabolisme du glutathion, ré-glutamine et ré-métabolisme du glutamate.
--	--

11/ (Esmâël <i>et al.</i> , 2019)	<p>. Isolement, caractérisation biochimique et typage ARNr 16S de l'acné vulgaire :</p> <p>-Seulement 35 des 55 patients ont montré une croissance bactérienne sur les prélèvements sélectifs.</p> <p>-Deux groupes différents identifiés d'isolats aérobies qui se sont avérés être des coques à Gram positif, non mobiles.</p> <p>-Les isolats anaérobies étaient des bacilles polymorphes à Gram positif capables de fermenter le glucose avec une production d'acide, le profil biochimique des bactéries anaérobies était cohérent avec ceux de l'ancienne <i>Propionibacteria</i>.</p> <p>- l'Alignements BLASTn et analyse d'arbres phylogénétiques des séquences de gènes d'ARNr 16s assemblés les similitudes les plus élevées sont avec l'ARNr 16S précédemment partiellement séquencé de <i>Staphylococcus aureus</i>, <i>S. epidermidis</i> et <i>Cutibacterium acnes</i> sur le site du NCBI.</p> <p>-Les bactéries ont été désignées comme :</p> <p>-<i>Staphylococcus aureus</i> souche EG-AE1, <i>Staphylococcus epidermidis</i> souche EG-AE2 et <i>Cutibacterium acnes</i> souche EG-AE1 ont été détectées à des fréquences de 21 %, 37 % et 42 % des sujets chez les patients acnéiques respectivement.</p> <p>Test de sensibilité aux antibiotiques :</p> <p>-Les résultats qualitatifs des antibiogrammes ont montré que les deux <i>S. aureus</i> EG-AE1 et <i>S. epidermidis</i> EG-AE2 résistantes à au moins 8 antibiotiques (azithromycine, érythromycine, pénicilline-G, Tétracycline, Clindamycine, Amikacine, Triméthoprime sulfaméthoxazole et rifampicine). <i>C. acnes</i> EG-AE1 s'est avéré résistante à (azithromycine, érythromycine, tétracycline, clindamycine, amikacine et triméthoprime-sulfaméthoxazole).</p> <p>- les trois isolats étaient sensibles au chloramphénicol et à la vancomycine.</p> <p>Activité antibactérienne de certaines huiles végétales contre les bactéries de l'acné :</p> <p>-les résultats ont montré l'efficacité de l'huile d'arbre de thé et l'huile de romarin avec des diamètres d'inhibition allant de $15,5 \pm 0,50$ mm, $21,02 \pm 0,73$ mm et $20,85 \pm 0,76$ mm respectivement.</p> <p>-L'huile d'arbre de thé s'est avérée plus efficace que l'huile de romarin contre <i>S. aureus</i>, <i>S.epidermidis</i> et <i>C. acnes</i>.</p> <p>Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et minimales bactéricides (CMB) :</p> <p>-Rapport CMB/CMI <i>S.aureus/S.Epidermis</i> : 78mg/L</p> <p>-Croissance inhibé à 156mg/L</p> <p>-<i>C.acnes</i> inhibé à 39mg/ML</p>
-----------------------------------	--

	<p>-Cinétique anti-temps des huiles d'arbre de thé et de romarin :</p> <p>-<i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i> et <i>C. acnes</i> : inhibés par l'huile de l'arbre de thé en 4h.</p> <p>- <i>S. aureus</i>, <i>S. epidermidis</i> et <i>C. acnes</i> : inhibé par l'huile de romarin en 6h.</p>
<p>12/ (Charifi <i>et al.</i>, 2021)</p>	<p>Activité antibactérienne de <i>L. cumin</i> :</p> <p>- <i>L. cumin</i> est efficace <i>in vitro</i> vis-à-vis <i>S.aureus</i> avec des CMI entre 1.25 et 5 $\mu\text{L} \cdot \text{MI}$ et des CMB entre 2.5 et 5 $\mu\text{L} \cdot \text{MI}$.</p> <p>Des propriétés bactériostatiques et bactéricides <i>in vitro</i> de <i>L. cumin</i> ont été évalués vis-à-vis les bactéries <i>S. aureus</i> :</p> <p>-Le <i>L. cumin</i> présentent d'excellentes propriétés antibactériennes, ses CMI et ses CMB varient de 1,25 à 5 et de 2,5 à 5 $\mu\text{L} \cdot \text{MI}$ respectivement .</p> <p>Observation au MEB :</p> <p>-Les cellules non traitées <i>S.aureus</i> au <i>L. cumin</i> : structure typique, montrant une paroi lisse.</p> <p>-Les cellules <i>S.aureus</i> traités au <i>L. cumin</i> : des formes déformées, incomplètes et piquées.</p> <p>Activité inhibitrice de la pompe à efflux NorA :</p> <p>-A $\frac{1}{2}$ de la CMI de <i>L. cumin</i> : baisse de la régulation significative des gènes <i>hld</i> et <i>ica</i> (baisse de 0.05 fois des normes) .</p> <p>-Traitement <i>S.aureus</i> avec une CMI <i>L. cumin</i> de 0.625 à 1,25 $\mu\text{L} \cdot \text{MI}$:</p> <p>-Diminution de la régulation des gènes <i>hld</i> 3,13 fois moins que les normes.</p> <p>- Diminution de la régulation des gènes <i>ica</i> 2,33fois moins que les normes .</p> <p>-La diminution de l'expression de la pompe à efflux <i>norA</i> sous l'effet de <i>L. cumin</i> est de 1.8 fois moins que les normes.</p>
<p>13/ (Santosa <i>et al.</i>, 2019)</p>	<p>-Composition chimique du SC :</p> <p>- L'hydrodistillation des graines de <i>Syagrus coronata</i> (<i>S. coronata</i>) a permis d'obtenir l'huile essentielle avec un rendement de $0,41 \pm 0,1$ %.</p> <p>- 11 constituants volatils identifiés (98,63 % de l'huile totale) : des acides gras (89,79 %) et des sesquiterpènes (8,5 %) dont les plus abondants sont : l'acide octanoïque, l'acide dodécanoïque, l'acide décanoïque et le beta-eudesmol.</p> <p>-Caractéristiques phénotypiques des isolats de <i>S. aureus</i> :</p> <p>-13 souches résistantes à l'oxacilline et classées comme SARM .</p> <p>-Le test de microplaque a révélé que 13 isolats cliniques sont de forts producteurs de biofilm, 6 souches productrices modérées de biofilm, tandis qu'une souche était une faible productrice de biofilm.</p>

	<p>SC est un agent bactéricide contre <i>S. aureus</i> :</p> <p>SC a montré une efficacité antimicrobienne contre tous les isolats sélectionnés de <i>S. aureus</i>, y compris ceux présentant des phénotypes de formation de biofilm et de résistance multiple aux médicaments.</p> <p>-SC est efficace vis-à-vis tous les isolats de <i>S.aureus</i> avec des CMI entre 156 g/mL à 625 g/mL.</p> <p>-Les CMB sont égales ou 2 fois supérieures à chacune des CMI respectivement, allant de 312 à 1250 g/MI.</p> <p>-Les CMI50 et CMI90 correspondaient respectivement à 312 et 625 g/mL.</p> <p>-Les huiles essentielles de plantes telles que <i>Caryophyllus aromaticus</i>, <i>Cinnamomum zeylanicum</i>, <i>Eugenia uniflora</i>, <i>Ros marinus officinalis</i>, <i>Vernonia polyanthes</i> et <i>Baccharis dracunculifolia</i> se sont avérées efficaces contre les isolats cliniques de SARM, avec une CMI entre 0,25 à 56 mg/MI..</p> <p>-SC affecte la viabilité et éradique le biofilm de <i>S. aureus</i> avec des CMI entre 312 et 624 g/mL .</p> <p>-L'analyse SEM a révélé un biofilm de <i>S. aureus</i> non traité sous forme d'agrégats composés de cellules à structure préservée</p> <p>-Aucune altération remarquable n'a été observée dans le biofilm traité à la vancomycine (témoin) .</p> <p>-Les traitements SC avec des concentrations de CMI, 312 g/mL et supra-CMI,624 g/mL ont diminué le nombre de cellules vivantes dans les biofilms et ont entraîné une perte de rugosité dans les multiples couches de la structure tridimensionnelle du biofilm bactérien.</p> <p>-SC à 312 g/mL a provoqué une altération de la structure cellulaire de <i>S. aureus</i>.</p> <p>-Un autre effet induit par SC dans les biofilms de <i>S. aureus</i> était la surproduction de matrice polymérique</p>
14/ (Muntean <i>et al.</i> , 2019)	<p>La composition chimique du MP :</p> <p>-Les 17 composés de MP (plus de 0,08 %) ont été identifiés, comprenant 99,896 % de la composition totale de MP.</p> <p>- Les hydrocarbures monoterpéniques (MH) représentent 34,229%, les oxygénés monoterpéniques (MO) 60,826%, les hydrocarbures sesquiterpéniques (SH) 4,635% et sesquiterpène oxygéné (SO) 0,206% du total des composés.</p> <p>-Le profil GC-MS a mis en évidence les principaux composés du MPEO : (p-Mentha-6,8-diène-2-one (57,920 %) et p-Mentha-1,8-diène (29,576 %)) .</p> <p>-L'activité antibactérienne :</p> <p>-L'huile de menthe poivrée est active vis-à-vis 21 souches testées.</p> <p>-La CMI de l'huile testée <20 mg/ml pour <i>Staphylococcus aureus</i>,</p>

	<p><i>E.coli</i> et <i>Proteus mirabilis</i> et >40 mg/ml pour <i>Klebsiella pneumoniae</i>, <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i> .</p> <p>-La CMB = la CMI , à l'exception de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , où la CMB était le double de la CMI.</p>
<p>15/ (Vrenna <i>et al.</i>, 2021)</p>	<p>Caractérisation phénotypique des souches cliniques et PA14 :</p> <p>-La sélection <i>P. aeruginosa</i> présente des facteurs de virulence spécifiques, tels que la formation de biofilm, la production de pyocyanine et la motilité d'essaimage et de nage.</p> <p>-Effet de l'HE CC sur la formation de biofilm :</p> <p>-Les résultats sont exprimés en pourcentage de biofilm formé en présence de CC par rapport à l'échantillon non traité.</p> <p>- CCE a une activité anti-adhésion sur environ ½ des souches testées, formation de biofilms inhibée de 40 à 60%.</p> <p>- L'inhibition la plus forte (95,7 %) obtenue contre l'isolat 29P, tandis que la souche 26P a été stimulée vers la croissance</p> <p>- De plus, le CC a également montré une activité inhibitrice contre la souche virulente de référence PA14.</p> <p>-Biofilms réduit de 27 à 52% après addition du CC à 5 des 12 souches.</p> <p>-Effet du CC sur la production de pyocyanine :</p> <p>-Tous les isolats testés dans cette étude étaient des producteurs de pyocyanine.</p> <p>- L'HE CC a fortement réduit la pyocyanine en- inhibant complètement la production du pigment dans 8 des 12 souches.</p>
<p>16/ (Khan <i>et al.</i>, 2017)</p>	<p>-L'activité antibactérienne des fractions HPLC :</p> <p>- Seulement 4/30 fractions HPLC qui ont montré une activité antibactérienne.</p> <p>- La fraction 1 de l'extrait aqueux (F1) a montré une activité inhibitrice contre <i>P. aeruginosa</i> (15 ± 0,1 mm) et <i>E. coli</i> (13 ± 0,2 mm).</p> <p>-La fraction d'extrait aqueux 4 (F4) a inhibé <i>A. baumannii</i> (15 ± 0,5 mm) et <i>P. aeruginosa</i> (14 ± 0,6 mm).</p> <p>-Des fractions HPLC (F1, F2, F3 et F4) d'extrait à l'hexane ont été soumises à une activité anti-MDR vis-à-vis <i>A. baumannii</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>S. aureus</i> et <i>E. coli</i></p> <p>-Seule la fraction 2 (F2) a montré une activité vis-à-vis <i>E. coli</i>, <i>S. aureus</i> (11 ± 0,3 mm) et <i>P. aeruginosa</i> (10 ± 0 mm).</p> <p>- Les fractions de chloroforme n'ont montré aucune activité antibactérienne ; cependant, le F4 de l'extrait d'éthanol a montré une activité contre <i>A. baumannii</i> (14 ± 0,5).</p> <p>-Les fractions qui ont une activité antibactérienne ont été traitées pour l'identification des composés bioactifs en utilisant l'analyse LCMS/MS.</p>

	<p>-F1 et F4 de l'extrait aqueux de <i>Punica granatum</i> ont été identifiés comme de la dilactone d'acide valonéique.</p> <p>-Le F4 de l'extrait d'éthanol de la plante <i>P. granatum</i> a été exploré sous forme de monogalloyl-hexoside et d'hexahydroxydiphényloxy hexoside (HHDP-hexoside).</p>
17/ (Mohamed <i>et al.</i> , 2018)	<p>-L'activité antimicrobienne de sept HEs et trois enzymes biologiques, et leur capacité à inhiber et à éradiquer les biofilms de souches <i>K. pneumoniae</i> productrices de biofilms puissants :</p> <p>-L'huile de cannelle a la meilleure activité antibactérienne contre les cellules planctoniques avec des valeurs de CMI allant de 0,06 à 0,25% (v/V), suivie de l'huile de girofle avec des valeurs de CMI (0,12% à 0,25%v/V). dans toutes les souches <i>K. pneumoniae</i> testées.</p> <p>- Aucune activité antibactérienne observable n'a pu être enregistrée pour les huiles de gingembre, de nigelle et de menthe poivrée dans toutes les concentrations testées jusqu'à 4 % (v/V), ce qui a été considéré comme ½ de la CMI pour les expériences d'inhibition de biofilm suivantes.</p> <p>-L'huile de menthe poivrée a montré une capacité significative d'inhibition du biofilm à 1/16 et 1/8 de la CMI, avec un pourcentage d'inhibition de 2-98% c'est le pourcentage d'inhibition le plus élevé atteint pour toutes les souches <i>K. pneumoniae</i> testées.</p> <p>-Une nouvelle augmentation de la concentration de menthe poivrée (¼,½ CMI) n'a montré aucune différence significative.</p> <p>-L'huile de thym a montré un effet inhibiteur à une concentration sous-inhibitrice (2-95%)suivie de l'huile de nigelle (2-77%).</p> <p>- Aucun effet inhibiteur significatif n'a été enregistré pour les huiles de carvi, de cannelle, de clou de girofle et de gingembre.</p> <p>-L'huile de thym s'est avérée avoir la meilleure capacité d'éradication du biofilm à des concentrations de 1, 2 et 4 % (v/V), entraînant un pourcentage d'éradication allant de 1-80% et à 0</p> <p>-98%, suivi des huiles de menthe poivrée et de cannelle vis à vis toutes les souches testées.</p> <p>-Une capacité relative d'antibiofilm a été enregistrée pour les enzymes biologiques, induisant une inhibition allant de 1,4 à 85,5% et une éradication allant de 1,3 à 74,6%.</p> <p>-La bromélaïne a été enregistrée comme la meilleure enzyme éliminatrice de biofilm, suivie de a-amylase et b-amylase.</p> <p>-L'analyse par chromatographie en phase gazeuse/spectrométrie de masse (GC/MS) des deux huiles montre l'efficacité de 40 identifiés dans l'huile de menthe poivrée, représentant 99,9 % de l'huile :</p> <p>-Le menthol (6-41%) était prédominant suivi de l'eucalyptol (2-12%) et de l'isomenthone (0-10%).</p>

-Le menthol a été étudié pour sa capacité antimicrobienne et inhibitrice du biofilm, montrant qu'aucune activité antimicrobienne n'a été détectée même à des concentrations élevées, tandis qu'une forte activité inhibitrice du biofilm a été détectée provoquant une inhibition du biofilm de 5 à 97%.

-le Thymol avec des concentrations relativement faibles : L'huile de thym s'est révélée qualitative mais peu riche, avec 19 composés identifiés, représentant 99,9 % de l'huile.

-Il est principalement composé de thymol (8-51%), p-Cymène (1-29%) et linalol (2-5%) qui a été étudiée pour sa capacité d'éradication du biofilm et la viabilité des cellules du biofilm.

- Les résultats ont montré une capacité élevée d'éradication du biofilm à en provoquant une éradication de 1 à 97% mais aucune activité contre la viabilité des cellules du biofilm n'a été enregistrée.

- Le SEM a été utilisé pour déterminer les effets inhibiteurs et d'éradication des meilleurs composés testés sur les biofilms.

-Les micrographies SEM

-Cellules *K.pneumoniae* non traitées : nombreuses cellules étroitement emballées dans une matrice épaisse, ainsi qu'un nombre réduit de cellules libres régulières avec une forme de bâtonnet bien définie et des surfaces lisses normales.

-Les cellules *K.pneumoniae* traitées avec de l'huile de menthe poivrée à 0,5% ont montré la libération prédominante de cellules à partir de biofilms avec un changement significatif de la morphologie des cellules.

-Un rétrécissement remarquable des cellules traitées au menthol a été observé.

-Des éradications significatives dans le biofilm établi des cellules *K.pneumoniae* ont également été trouvées par rapport au témoin non traité.

-Les biofilms traités à l'huile de thym et au thymol se sont avérés complètement dispersés.

-Une éradication partielle dans le biofilm traité à la bromélaïne.

-Afin de tester leur activité antibactérienne et antibiofilm, le thymol pur et le menthol ont été testés en association avec la ciprofloxacine.

- De fortes activités synergiques avec la ciprofloxacine qui affectent la viabilité des cellules du biofilm, mais un effet limité a été enregistré pour l'huile de menthe poivrée et le menthol sur la ciprofloxacine.

-La concentration d'antibiofilm de thymol diminuait la dose efficace de ciprofloxacine de 1 à 6 fois doubles vis à vis les cellules planctoniques et de 1 à 4 fois doubles vis à vis les cellules du biofilm (sauf *K.pneumoniae* 2 et *K.pneumoniae* 3), suivis par l'huile de thym qui causé une diminution de 1 à 5 fois et une autre de 2 fois de la dose

	de ciprofloxacine vis-à-vis les cellules planctoniques et les biofilms respectivement (sauf <i>K.pneumoniae</i> 2, <i>K.pneumoniae</i> 3 et <i>K.pneumoniae</i> 9).
18/ (Khan <i>et al.</i> , 2015)	<p>-La sensibilité aux antibiotiques :</p> <p>-Des isolats bactériens pathogènes qui se sont révélés résistants à près de 19 antibiotiques alors que <i>S. aureus</i> était résistant à 22 antibiotiques dont la vancomycine.</p> <p>-La zone moyenne d'inhibition a été enregistrée pour toutes les expériences réalisées trois fois.</p> <p>- les feuilles de <i>Tinctoria</i> ont été évaluées in vitro contre <i>A. baumannii</i>, <i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>.</p> <p>- La concentration de tous les extraits de plantes a été fixée à 25 mg/ml. Environ 13 antibiotiques largement utilisés dont <i>E. coli</i> était résistant à une dizaine d'antibiotiques par rapport aux 3 autres bactéries.</p> <p>-La détermination des extraits chloroformiques, éthanoliques et hexaniques d'Alkanna :</p> <p>-<i>A. baumannii</i> a été résistante à <i>Alkanna tinctoria</i> qui a montré un potentiel médicinal maximal après confirmation des pathogènes multirésistants, aqueux des extraits chloroformiques, éthanoliques et hexaniques d'<i>Alkanna</i> les feuilles de <i>Tinctoria</i> ont été évaluées in vitro contre <i>A. baumannii</i>, <i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i> et <i>S. aureus</i>.</p> <p>-La concentration de tous les extraits de plantes a été fixée à 25 mg/ml.</p> <p>- <i>Alkanna tinctoria</i> a un potentiel médicinal maximal contre <i>S. aureus</i> par rapport aux trois autres bactéries.</p> <p>-Les extraits au chloroforme et à l'éthanol ont montré la zone d'inhibition la plus élevée (19 mm) et les extraits aqueux ont montré une zone inhibitrice de 14 mm vis-à-vis <i>S. aureus</i>.</p> <p>-Les zones d'inhibitions des extraits aqueux, chloroformique, éthanolique et hexanique des feuilles d'<i>Alkanna tinctoria</i> vis à vis <i>A. baumannii</i>, <i>E. coli</i>, <i>P. aeruginosa</i> sont apparues dans la gamme de 9 à 14 mm.</p> <p>-Les CMI ont été calculées pour vérifier le pouvoir bactériostatique des extraits de plantes.</p> <p>-La gamme de CMI des quatre extraits de plantes contre les isolats MDR sélectionnés étaient entre 6,25 mg/ml et 25 mg/ml.</p> <p>-L'extrait aqueux a inhibé <i>A. baumannii</i> et <i>S. aureus</i> à une concentration minimale de 12,5 mg/ml, tandis que <i>E. coli</i> et <i>P. aeruginosa</i> ont été inhibés à une concentration plus faible de 25 mg/ml.</p>

	<ul style="list-style-type: none"> - Les bactéries MDR ont été enregistrées à 25 mg/ml. -Les CMB ont été calculés pour vérifier le pouvoir bactéricide effet des extraits de plantes contre les agents pathogènes MDR. -La CMB de la plupart des extraits de plante s'est avérée supérieur à 100 mg/ml qui est la concentration maximale utilisée pour l'expérience. -Après vérification de la mesure qualitative et quantitative de l'activité antibactérienne des feuilles d'<i>Alkanna tinctoria</i>. <p>Les contenus phytochimiques ont été analysés.</p> <ul style="list-style-type: none"> -Les alcaloïdes ont été détectés dans les quatre extraits d'<i>Alkanna tinctoria</i> feuilles mais les extraits aqueux et éthanoliques sont plus élevée que les extraits de chloroforme et d'hexane -Les flavonoïdes et Les gallotanins n'ont été présents respectivement que dans l'hexane et les extraits aqueux. - Les glucides, les composés phénoliques et les Triterpenoides n'ont été détectés dans aucun des quatre extraits. -Les protéines et les tanins se sont avérés en plus faible concentration. -Les stéroïdes et les pseudotanins sont apparus en plus et volumes modérés sauf éthanol et extraits aqueux qui abaissent au montant indétectable respectivement. -Les saponines de tous les extraits de cette plante sont en volume inférieur.
19/ (Yu <i>et al.</i> , 2021)	<p>L'activité antibactérienne :</p> <ul style="list-style-type: none"> -Par rapport à l'eau et au solvant acétone, qui n'ont pas de phénomène bactériostatique, la solution d'huile essentielle et d'ampicilline présente une activité bactériostatique plus forte. -L'activité antibactérienne de la solution d'ampicilline était légèrement supérieure à celle de l'huile essentielle, mais il n'y avait pas de différence significative et la taille de la zone d'inhibiton était comprise entre 11 et 11,5 mm . -Ce résultat suggère que l'huile essentielle (concentration à 100 %) a un effet antibactérien sur <i>E. coli</i>, et une activité antibactérienne similaire à celle d'une solution d'ampicilline à 0,1 mg/ml . -En comparant le témoin et l'acétone, les poids sec et humide de <i>E. coli</i> sont réduits significativement après traitement à l'HE. -Les poids sec et humide de <i>E. Coli</i> traités à l'acétone et le solvant de l'huile essentielle, étaient également inférieurs à ceux traité avec de l'eau. - Cela indiquait que l'HE exerçait un fort effet antibactérien sur <i>E. coli</i>, et l'acétone a également eu un certain effet inhibiteur sur la croissance de <i>E. coli</i>. -Par conséquent, différentes concentrations d'acétone ont été

	<p>appliquées à <i>E. coli</i>, et l'effet inhibiteur des différentes concentrations d'acétone sur la croissance des <i>E. coli</i> a été déterminée en fonction de la croissance de la colonie sur plaque et de la turbidité du milieu de culture.</p> <p>-Les résultats ont montré que l'acétone n'exerçait pas un fort effet bactériostatique.</p> <p>-Le CMI et CMB de l'HE indiquent que l'HE exerçait un fort effet bactériostatique sur <i>E. coli</i>, et la valeur de CMI était de 0,625 %. La CMB du pétrole contre <i>E.coli</i> était de 2,5 %.</p> <p>-Par conséquent, pour explorer le mécanisme antibactérien de l'HE sur <i>E. coli</i>, un ½ de CMI de la concentration en HE a été pris pour traiter <i>E. coli</i>.</p> <p>- Dans ce cas, la colonie de <i>E. coli</i> sur plaque a montré une croissance, mais le taux cette croissance était bien inférieur à celui du témoin.</p> <p>Effets de la concentration sous-inhibitrice de l'huile essentielle sur la membrane cellulaire et la paroi cellulaire de <i>E. coli</i> :</p> <p>-La bêta-galactosidase est une enzyme intracellulaire qui n'a pas pu être détectée dans le surnageant à cause de sa faible concentration.</p> <p>-La cohérence se produit en trois traitements. Cela indiquait que ½ de la CMI de l'HE et de l'acétone n'inhibaient pas la croissance de <i>E. coli</i> en détruisant les membranes cellulaires.</p> <p>- La phosphatase alcaline (AKP) est une protéase qui existe entre les membranes cellulaires et les parois cellulaires.</p> <p>-Il est presque impossible pour l'AKP de traverser la paroi cellulaire d'une bactérie saine.</p> <p>-De plus, l'activité AKP était plus élevée dans le groupe témoin que dans l'acétone et l'huile essentielle.</p> <p>-Par conséquent, l'acétone et le ½ de la CMI de l'HE n'ont pas détruit la paroi cellulaire de <i>E. coli</i> et ils ont même empêché la paroi cellulaire d'être détruite.</p>
20/ (Brochot <i>et al.</i> , 2016)	<p>-L'activité bactériostatique et bactéricide des mélanges AB1 et AB2 :</p> <p>-AB1 et AB1 présent des effet bactériostatiques et bactéricide à des CMI entre 0.01% et 3%.</p> <p>-CMB AB1 et AB2 = 6%.</p>

Discussion

7. Discussion

L'étude de **Esmâël et al. (2019)** sur l'activité antibactérienne de certaines huiles végétales contre les bactéries de l'acné parmi les huiles testées, seules les huiles d'arbre de thé et de romarin étaient efficaces contre les bactéries de l'acné et d'après l'aromatogramme des huiles testées l'huile d'arbre de thé s'est avérée plus efficace et plus active que l'huile de romarin vis-à-vis tous les isolats qui ont été inhibées par l'huile d'arbre de thé en une courte durée par rapport à l'huile de romarin.

Bien que **Brochot et al. (2016)** ont fait une autre recherche sur deux mélanges nommées AB1 et AB2 afin d'étudier leur activité bactériostatique et bactéricide en tant que mélanges. Les mélanges AB1 et AB2 présentaient à la fois des propriétés bactériostatiques et bactéricides vis à vis toutes les bactéries testées à Gram-positif et à Gram-négatif, ces mêmes mélanges ont montré une efficacité contre les souches résistantes aux antibiotiques tel que *P.aeruginosa* CIP 103467, *Staphylococcus aureus* SARM, ATCC 3359 et *E.coli* Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) , cependant, *P. aeruginosa* CIP 103467 était la moins sensible aux mélanges testés grâce à sa résistance naturelle qui se consiste en sa membrane externe qui est particulièrement imperméable aux médicaments et qui a des mécanismes d'inhibition et d'efflux dépendants des porines d'où *P. aeruginosa* utilise un efflux multidrogue ; un système qui extrude des composés tels que le 1,8-cinéole, un monoterpène présents à des taux élevés dans ces mélanges .

Une autre recherche de **Charifi et al. (2021)** dans laquelle ils ont mis en évidence l'activité antibactérienne de l'HE *Cuminum cyminum* ils ont trouvé que l'HE CC présentaient d'excellentes propriétés antibactériennes, le mécanisme de cette activité antibactérienne est confirmé après l'observation au MEB qui a montré que les cellules non traitées avaient la structure typique, montrant une paroi lisse pour *S. aureus*. En revanche des effets nocifs évidents sur la morphologie des membranes cellulaires ont été présentés lorsque des souches ont été traitées avec l'HE CC ; des formes déformées, incomplètes et piquées ont été observées dans les cellules traitées aussi en controlant l'activité inhibitrice de la pompe à efflux NorA par le biais du test d'inhibition de l'efflux EtBr, la pompe à efflux NorA de *S. aureus* était phénotypiquement affectée par le traitement l'HE CC ce qui inhibait significativement cette pompe à efflux l'HE CC avait un impact aussi sur l'activité des gènes de virulence ou la moitié de CMI du l'HE CC a causé une baisse de régulation significative de deux sur trois des gènes étudiés (hld et ica)

D'autre part **Santosa et al. (2019)** ont étudié l'activité bactéricide SCEO vis-à-vis *S. aureus* l'HE SC a montré une efficacité antimicrobienne contre tous les isolats sélectionnés de *S. aureus*, y compris ceux présentant des phénotypes de formation de biofilm et de résistance multiple aux médicaments où les huiles essentielles de plantes telles que *Caryophyllus aromaticus*, *Cinnamomum zeylanicum*, *Eugenia uniflora*, *Ros marinus officinalis*, *Vernonia polyanthes* et *Baccharis dracunculifolia* se sont avérées efficaces contre les isolats cliniques de *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) grâce aux principaux constituants bioactifs de l'HE SC qui sont les acides gras à chaîne moyenne plus actifs vis-à-vis les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif prenons à titre d'exemple, l'acide octanoïque, le composant principal de l'HE SC, a des propriétés antibactériennes contre une gamme d'agents pathogènes gram-positifs et gram-négatifs ; les acides dodécanoïque et décanoïque ont également été signalés comme agents antimicrobiens en-agissant sur la biomasse et la viabilité du biofilm préformé .

En outre **Muntean et al. (2019)** qui ont fait leur étude sur l'activité antibactérienne de l'huile de menthe poivrée sur des souches de référence et des souches multirésistantes cliniques où cette huile a montré son effet bactéricide sur toutes les souches Gram-positives et Gram-négatives testées MDR (multirésistantes) ou XDR (extrem drug resistant tuberculosis) :*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii*.

Par ailleurs **Vrenna et al. (2021)** ont mis en évidence l'effet de l'HE *Coridothymus capitatus* la formation de biofilm à travers une étude dans laquelle l'HE *Coridothymus capitatus* a montré une activité anti-adhésive sur environ la moitié des souches testées en inhibant la formation de biofilm où la plus forte inhibition a été marqué vis-à-vis l'isolat 29P, tandis que la souche 26P a été stimulée vers la croissance. D'un autre coté, *Coridothymus capitatus* a également montré une activité inhibitrice contre la souche de référence PA14, qui est une souche très virulente caractérisée par une formation d'hyperbiofilm due à une mutation spécifique dans le rtSgène. Cependant, le *Coridothymus capitatus* semblait favoriser l'accumulation de biofilm sur certaines souches, comme déjà mis en évidence pour d'autres HE (par exemple les HEs de mandarine, de patchouli et de fruits de cèdre) l'effet du *Coridothymus capitatus* s'est révélé important contre les facteurs de virulence des souches testé en réduisant la pyocyanine dans la plupart des souches testées et en minimisant motilité d'essaimage et de nage des isolats de *P. aeruginosa* cliniques.

Quant à **Khan et al (2017)** son étude a été basée sur l'effet des fractions (HPLC) d'extraits du produit naturel *Punica granatum* (aqueux, chloroforme, éthanol et hexane) contre des agents pathogènes bactériens multirésistants (*Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*) et l'analyse des composés bioactifs de ces fractions par LC MS /MS . Il a été observé que les fractions HPLC des extraits aqueux, hexane et éthanol ont montré une activité inhibitrice contre les bactéries multirésistantes (MDR), sauf les fractions de chloroforme qui n'ont pas montré une activité antibactérienne. Cependant, plusieurs composés bioactifs ont été identifiés à partir de ces fractions HPLC et qui ont une relation avec leurs efficacité.

Ajoutant à cela **Khan et al (2015)** qui ont évalué l'effet d'extraits de feuilles d'*Alkanna tinctoria* contre les bactéries pathogènes humaines multirésistantes y compris *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Selon les résultats trouvés, les extraits aqueux, chloroformiques et éthanoliques peuvent inhiber ou tuer les bactéries MDR, notamment *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *S. aureus*. Cette dernière est semblé être la plus sensible. L'extrait d'hexane n'a pas montré autant d'activité antibactérienne contre tous les pathogènes MDR. Dans les résultats phytochimiques, il a été observé que les extraits qui ont un grand nombre de composés phytochimiques (les extraits aqueux et éthanoliques) présentaient une activité antibactérienne potentielle.

Ensuite **Mohamed et al. (2018)** ont étudié l'activité des huiles essentielles (Huile de carvi, huile de cannelle, huile de clou de girofle, huile de gingembre, huile de nigelle, huile de menthe poivrée et l'huile de thym) seuls ou en association des deux derniers avec la ciprofloxacine pour inhiber /éradiquer les biofilms de *Klebsiella pneumoniae*. D'après les résultats, l'huile de cannelle était l'huile la plus efficace suivie de l'huile de girofle, du carvi puis de l'huile de thym, tandis que aucune activité n'a été détectée pour les huiles de nigelle, de gingembre et de menthe poivrée et pour les enzymes aussi. Ceci suggère qu'il existe un niveau basal de résistance apporté par l'EPS de *K.pneumoniae*. En association avec la ciprofloxacine, l'huile de thym, l'huile de menthe poivrée ont montrent une activité antibiofilm. L'utilisation de ces combinaisons est une application potentielle suggérée contre les infections nosocomiales causées par *K.pneumoniae*, pour minimiser le coût de la dose efficace de ciprofloxacine et les effets secondaires toxiques potentiels qui l'accompagnent.

De même, l'étude de **Yu et al (2021)** portée sur l'efficacité antimicrobienne de l'HE de *Cinnamomum camphora* contre *Escherichia coli* a montré que la *C. Camphora* a exercé un fort effet antibactérien et l'efficacité inhibitrice augmentait avec l'augmentation de sa concentration. Tandis que, l'acétone n'exerçait pas un fort effet bactériostatique. *C. Camphora* n'endommage pas la membrane cellulaire et la paroi de *E. coli* et protège même la paroi cellulaire contre les dommages.

Egalement les chercheurs **Aissat et al (2016)** ont évalué l'effet antibactérien de miels du Sahara (SH) et le miel de propolis-Sahara (P-SH) contre les biofilms formés sur les cathéters urinaires. D'après les résultats, De fortes activités antibactériennes du SH et de P-SH contre les bactéries Gram-positives (*Staphylococcus aureus*) et Gram-négatives (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*) ont été rapportées. *S.aureus* était la plus sensible vis –à-vis le SH. Concernant les biofilms, le SH et le P-SH ont une meilleure capacité d'inhiber la formation des biofilms sur les cathéters urinaires.

Enfin l'étude de **Shen et al. (2020)** s'intéresse aux propriétés antibactériennes et antibiofilm du carnosol vis-à-vis *Staphylococcus aureus*. Les auteurs ont conclu que le carnosol montre un effet inhibiteur sur les cellules planctoniques et aussi sur les biofilms qui est lié à la réduction de la motilité bactérienne, dans lequel il a la capacité de pénétrer et perturber les biofilms préformés. De plus, le carnosol altère également les voies métaboliques des cellules planctoniques et des biofilms de *S. aureus*. Le carnosol peut également être modifié pour développer de nouveaux composés avec une meilleure activité antibactérienne, ce qui fournira des stratégies alternatives pour surmonter la résistance aux antibiotiques de *S. aureus*.

Conclusion

Conclusion

Les propositions thérapeutiques de la médecine officielle contre les infections nosocomiales peuvent être complétées par des solutions naturelles en-exploitant des produits naturels tel que les huiles essentielles. C'est pour cela, qu'on a opté pour ce sujet de manière à tester l'effet de ces produits in vitro et comparer avec les résultats des études antérieures.

Dans ce travail, les articles choisis sont basés sur l'évaluation de l'efficacité des produits naturels vis-à-vis les bactéries responsables des infections nosocomiales. Pour atteindre ce but, les chercheurs ont utilisés de différentes méthodes et étapes principalement l'étape de l'aromatogramme.

La comparaison des résultats a montré que les produits naturels particulièrement les huiles essentielles ont une activité inhibitrice vis-à-vis les bactéries des milieux hospitaliers et bien précisément contre la formation des biofilms. Relativement à notre propre travail ou l'on a testé l'HE de « *Thymbra capitata* », les résultats ont prouvé l'effet antibactérien de cet HE vis-à-vis les souches bactériennes testés (*Staphylococcus aureus*, *Entérobacter sp*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*).

Suivant ces résultats on constate que l'utilisation des huiles essentielles extraites des plantes aromatiques contre les biofilms formés par les bactéries responsables des infections nosocomiales représente une thérapie alternative prometteuse et contribue à la valorisation de la médecine traditionnelle locale.

Au terme de notre travail, nous proposons les recommandations suivantes :

- La mise en oeuvre d'un programme de lutte contre les infections nosocomiales au sein des établissements de santé en abordant tous les aspects de la maîtrise de ces infections.
- Elaborer et diffuser des documents de normes et des procédures en matière de prévention des infections en général et nosocomiales en particulier.
- L'utilisation des huiles essentielles dans le traitement contre les infections nosocomiales d'origine bactérienne.
- Faire des études sur d'autres huiles essentielles qui n'ont pas été testés auparavant.

Références

Références

1. Adem Hiko.2019. Isolation DNase-cross-Coagulase test and antimicrobial resistance test on *Staphylococcus* along beef abattoir line in Addis Ababa Ethiopia. Ethiopian Veterinary Journal. 23 (1): 90-110
2. Agnès Roux et Jean-Marc Ghigo. 2006. Les biofilms bactériens. 261-268.
3. Ahmed Esmâël., Mervat G.Hassanb., Mahmoud M Amerb., Soheir Abdelrahman., Ahmed M. Hamedré., Hagar A. Abd-rabohb. 2019. Antimicrobial activity of certain natural-based plant oils against the antibiotic-resistant acne bacteria. Saudi Journal of Biological Sciences. 27 : 448-455.
4. Akim Socohou., Haziz Sina., Cyriaque Degbey., Chimène Nanoukon., Kamirou Chabi-Sika., Hélène Ahouandjinou. 2020. Antibiotics resistance and biofilm formation capacity of *Staphylococcus spp* Strains isolated from surfaces and medicotechnical materials. International Journal of Microbiology. 6 p.
5. Al-Hajje., M. Ezedine., H. Hammoud., S. Awada., S. Rachidi., S. Zein. 2011. Aspects actuels des infections nosocomiales au centre hospitalier Libanais de Beyrouth. Eastern mediterranean health journal. Vol 18 : 495-500.
6. Amandine Brochot., Angèle Guilbot., Laïla Haddioui., Christine Roques. 2017. Antibacterial, antifungal, and antiviral effects of three essential oil blends .Wiley microbiology open. 1-6.
7. Amélie Albrecht. 2015. Les infections nosocomiales d'origine bactérienne, ce que doit savoir le pharmacien d'officine. Thèse de diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Lorraine ,France, 127p .
8. Aminetou Bent Mohamed et Aicha mint Sidi Baba. 2007. Manuel de travaux pratiques de microbiologie, université de Nouakchott, la Mauritanie, 27 p.
9. Anne-Sophie Gaudy., Géraldine Senon., Karine Norbert., Philippe Bertrand., François Labarthe. 2011. Évaluation quantitative et qualitative des infections sur cathéter veineux central chez les nouveau-nés de moins de 1500 grammes à la naissance dans les services de réanimation et de médecine néonatales. Pharmactuel . Vol. 44 N° 4 : 247-260.
10. Annie Chalfine et Jean Carlet. 2002. Que sont les infections liées aux soins ?. 24-26.

11. [API 10 S- 08052 - G - 10100.pdf \(biologiemarine.com\)](#), 23/04/2022, 14:30
12. Aram Charifi., Abdolmajid Mohammadzadeh., Taghi Zahraei Saleh., Pezhman Mahmoodi et Alireza Nourian. 2021. *Cuminum cyminum* L. essential oil: a promising antibacterial and antivirulence agent against multidrug-resistant *Staphylococcus aureus*. *Frontiers in microbiology*. 667-833.
13. Arfaoui Chedia., Hamza Ridha., Attia Annabi Thourya., Kammoun Hayet., Bouzouia Nourreddine., Mrabet Tanazefi Kawther. 2008. Hygiène hospitalière et lutte contre les infections associées aux soins. Volume 1. Tunisie. 106 p.
14. Barbara Bessermann., M. Jacques Blot., Emmanuel Foulon., Michel Germond., Frédéric Guibout., Catherine Marot. 2014. Les infections nosocomiales aspects médico-juridiques. 4ème édition. Association pour l'étude de la réparation du dommage corporel. Paris. 91 p.
15. Benabdelhafid Soumia. 2020. Isolement et pré-identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique. Mémoire de master académique, université Kasdi Merbah , Ouargla, 87 p.
16. Bernard Lobel et Claude-James Soussy. 2007. Les infections urinaires, Springer-verlag France, Paris, 241 p.
17. Bio-Rad. 2011. Milieu d'isolement et de différenciation des Staphylocoques. France. 2 p.
18. Boussena Sabrina. 2020. Manuel des travaux pratiques de bactériologie, université des Frères Mentouri, Constantine, 61 p.
19. Brahim oubihi. Epidémiologie des infections nosocomiales en milieu de réanimation. Thèse de doctorat en médecine, université Cadi Ayyad faculté de médecine et de pharmacie Marrakech, Maroc , 166p.
20. Bruno., Souza dos Santosa., Clovis Macedo., Bezerra Filhoa., José Adelson., Alves do Nascimento. 2019. Anti-staphylococcal activity of *Syagrus coronata* essential oil: Biofilm eradication and in vivo action on *Galleria mellonella*. *Microbial Pathogenesis*. 131 : 150–157.
21. C Legeay., C Bourigault., D Lepelletier., J R Zahar. 2015. Prevention of healthcare-associated infections in neonates: room for improvement. *Journal of Hospital Infection*. 89(4):319-23.

22. C. Vuotto., F. Longo., C. Pascolini., G. Donelli., député Balice., MF Libori. 2017. Biofilm formation and antibiotic resistance in *Klebsiella pneumoniae* urinary strains. *Journal of Applied Microbiology*. 123 :1003-1018.
23. C.D. Owens et K. Stoessel. 2008. Surgical site infections: epidemiology, microbiology and prevention. *Journal of hospital infection*. 70(S2): 3–10.
24. Céline Matuszewski. 2009. Evaluation de la carte Vitek® 2 ANC pour l'identification des bactéries anaérobies et des corynébactéries d'intérêt médical. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université de Lorraine, France, 112p.
25. Chaibdraa A et Bentakouk M.C. 2008. Etude bactériologique sur 30 mois dans un service de brûlés. *Annals of Burns and Fire Disasters* - vol. XXI - n. 1.
26. Clément Louis François Baudin. 2012. Prévention des infections nosocomiales au centre hospitalier université vétérinaire d'Alfort : Étude bibliographique, évaluation expérimentale de l'hygiène des mains et rédaction de recommandations concernant l'hygiène des mains. Thèse pour le doctorat vétérinaire, université de Créteil, France, 131 p.
27. C-Y Yeung., C-C Liu., Y-T Tseng., K-C Tsai., M-A Hsieh., W-T Chan. 2013. Rapid identification of *Salmonella* using Hektoen enteric agar and 16s ribosomal DNA probe-gold nanoparticle immunochromatography assay in clinical faecal specimens. *Appl Microbiol*. 58(4):311-7.
28. D Leaper., P Wilson., Assadian., C Edmiston., M Kiernan., A Miller. 2017. The role of antimicrobial sutures in preventing surgical site infection. *Royal college of surgeons* 99: 439–443.
29. Dachy., O. Battisti. 2014. Comment j'explore ... les infections nosocomiales en néonatalogie. *Rev Med Liège*. 69 : 7-8 : 454-459.
30. Daniela Lo Giudice., Giuseppe Trimarchi., Vincenza La Fauci., Raffaele Squeri., Sebastiano Calimeri. 2019. Hospital infection control and behaviour of operating room staff. *Cent Eur J Public Health*. 27 (4): 292–295.
31. David Lebeaux et Jean-Marc Ghigo. 2012. Infections associées aux biofilms. *Medecine/science* 28 : 727-39.
32. David P Kateete., Cyrus N Kimani., Fred A Katabazi., Alfred Okeng., Moses S Okee., Ann Nanteza. 2010. Identification of *Staphylococcus aureus* DNase and Mannitol salt

- agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*. 9:23.
33. Délia Muntean., Monica Licker., Ersilia Alexa., Iuliana Popescu., Calin Jianu., Valentina Buda. 2019. Evaluation of essential oil obtained from *Mentha×piperita* L. against multidrug-resistant strains. *Infection and Drug Resistance*. 12 : 2905–2914.
 34. É. Castel-Kremer et T.Vogel. 2002. Les infections urinaires nosocomiales en gériatrie : revue de la littérature. *Médecine et maladies infectieuses* 33 : 275–283.
 35. Fengge Shen., Chunpo Ge., et Peng Yuan. 2020. Metabolomics study reveals an inhibition and a metabolic degradation in *Staphylococcus aureus* plactonic cells and biofilms induced by Carnosol. *Frontiers in microbiology*. 11 : 1 -14.
 36. François Denis., Marie-Cécile Ploy., Christian Martin., Édouard Bingen., Roland Quentin. 201. *Bactériologie médicale techniques usuelles*. Elsevier Masson SAS, Paris, 615 p.
 37. Frédéric Da Silva . 2010. Utilisation des huiles essentielles en infectiologie ORL. Thèse d’obtention diplôme d’état de docteur en pharmacie , université Henri Poincaré, Nancy 1 faculté de pharmacie, France, 160p.
 38. Fribourg- Blanc, 1978. Les vaginites *Campylobacter*. *Medecine et maladies infectieuses*. 4:163-165.
 39. G. DuceL., J. Fabry., L. Nicolle. 2001. Prévention des infections nosocomiales. 2ème édition. Organisation mondiale de la santé. Suisse. 80 p.
 40. [Galerie biochimique API | Préparation | Lecture | Principe | Protocole pdf | API 20E | API NE | API Staph \(microbiologie-clinique.com\)](#), 23 /04/2022, 15 :00
 41. Ghadeer A R Y Suaifan., Samah W A Al Nobani., Mayadah B Shehadeh., Rula M Darwish. 2019. Engineered colorimetric detection of *Staphylococcus aureus* extracellular proteases. *Talanta*. 198(1) :30-38.
 42. Ghellati Lotfi., Hassaine Hafida., Klouche Nihel., Khadir Abdelmonaïm., Aissaoui Nadia., Nas Fatima. 2014. Detection of biofilm formation of a collection of fifty strains of *Staphylococcus aureus* isolated in Algeria at the university hospital of Tlemcen. *Journal of Bacteriology Research*. Vol. 6(1) : 1-6.
 43. Gianluca Vrenna., Marco Artini., Rino Ragno., Michela Relucenti., Ersilia Vita Fiscarelli., Vanessa Tuccio Guarna Assanti. 2021. Anti-virulence properties of

- Coridothymus capitatus* essential oil against *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolates from cystic fibrosis patients. *Microorganisms*. 9 : 1-17.
44. H Saloojee, A Steenh off. 2000. The health professional's role in preventing nosocomial infections. *Postgrad Med J*. 16:16–19.
 45. Halima Khatoun., Archana Anokhe., and Vinay Kalia. 2022. Catalase test: A biochemical protocol for bacterial identification. *AgriCos e-Newsletter*. Vol 3. 53-55.
 46. Hans P. Blasche., Hua H. Wang., Meredith E. Agle. 2007. *Biofilms in the Food Environment*. Blackwell publishing and the institute of food technologists. 1ère édition. USA, 198 p.
 47. Hans-Curt Flemming., Jost Wingender., Ulrich Szewzyk. 2011. *Biofilm highlights*. Vol 5. Springer-verlag berlin heidelberg. Germany, 256 p.
 48. Hervé Dupont., Arnaud Friggeri., Elie Zogheib. 2008. Asepsie et cathéters veineux périphériques. pp. 550-555.
 49. <http://stlbiotekanglet.fr/wp-content/uploads/2016/12/Fiche-CTP06-Etat-Frais.pdf>, 19/04/2022, 21 :15.
 50. <https://microbiologiemedicale.fr/gelose-bcp> , 12/05/2022, 16:30
 51. Ilyas Khan., Hazir Rahman., Nasser M., Abd El-Salam., Abdoul Tawab., Abdallah Jalal. 2017. *Punica granatum* peel extracts: HPLC fractionation and LC MS analysis to quest compounds having activity against multidrug resistant bacteria. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 17:247.
 52. Ivana Cirkovic., Srdjan Stepanovic., Robert Skov., Jasmina Trajkovic., Anita Grgurevic., Anders Rhod Larsen. 2015. Carriage and Genetic Diversity of Methicillin Resistant *Staphylococcus aureus* among Patients and Healthcare Workers in a Serbian University Hospital. *PLoS One*. 10(5) .
 53. J.P.Marcel. 2005. L'antibiogramme et son impact médical des tests de sensibilité aux antibiotiques. *Antibiotiques*.7 :53-58.
 54. K. Amazian., J. Rossello., A. Castella., Sekkat., Terzaki., Dhidah. 2010. Prévalence des infections nosocomiales dans 27 hôpitaux de la région méditerranéenne. *Eastern Mediterranean Health Journal*. Vol. 16 .
 55. Karen Reiner. 2010 . Catalase Test Protocol. American Society for Microbiology © 2016.

56. L Almeida., N Lopes., V Gaio., C Cavaleiro., L Salgueiro., V Silva. 2022 .*Thymbra capitata* essential oil has a significant antimicrobial activity against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* pre-formed biofilms. Letters in Applied Microbiology. 74(5):787-795
57. Mathieu Nicolas., Bruno Beito ., Marta Oliveira., Maria Tudela Martins., Bruno Gallas., Michèle Salmain. 2021. Strategies for antimicrobial peptides immobilization on surfaces to prevent biofilm growth on biomedical devices. Antibiotics.1-32.
58. Meirong Song., Ying Liu., Tingting Li., Xiaojia Liu., Zhihui Hao., Shuangyang Ding. 2021. Plant natural flavonoids against multidrug resistant pathogens advanced science 8, 2100749.
59. Meriem Lachachi., Hafida Hassane., Kaotar Naymè., Samia Bellifa., Imène M'hamedi., Ibtissem Kara Terki. 2013. Detection of biofilm formation, icaADBC gene and investigation of toxin genes in *Staphylococcus spp.* Strain from dental unit waterlines, university Hospital Center (UHC) Tlemcen Algeria. African journal of microbiology research. Vol. 8(6) : 559-565.
60. Meryem Lemsanni. 2016. Les infections nosocomiales en réanimation pédiatrique. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, 170 p .
61. Métié S., Boni-Cissé C., Monémo P., Milan Tanoa AP., Faye-Kettié., Doso H. 2010. Surveillance microbiologiques des surfaces au niveau d'un établissement hospitalières de niveau tertiaire : exemple du CHU de Yopougon, Abidjan, Cote d'ivoire . J. sci. pharmacie biol. Vol 11 :73-81.
62. Meziani Z., Hassaine H et Belhachemi F.2021. Infections of implantable cardiac devices by biofilm forming bacteria in western Algeria hospitals. African Journal of Clinical and Experimental Microbiology. 21 (4): 290-303.
63. Mina Er-Rahmany. 2010. Les infections liées aux cathéters veineux centraux en réanimation. Thèse pour l'obtention du doctorat en médecine, université Cadi Ayyad, Marrakech, Maroc, 84 p.
64. Mohini Bhattacharya., Daniel J Wozniak., Paul Stoodley., Luanne Hall-Stoodley. 2015. Prevention and treatment of *Staphylococcus aureus* biofilms. Anti Infective Therapy. 13(12): 1499–1516.

65. Morel Anne-Sophie. 2017. Fosfomycine et lincomycine sur *Staphylococcus aureus* et non aureus. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, université d'Aix-Marseille – Faculté de Pharmacie, France 129p.
66. Muhammad Qasim., Usman Ali Khan., Zakir Khan., Anouar Hussain., Muhammad Anees et Muhammad Adnan. 2015. *Alkanna tinctoria* leaves extracts: a prospective remedy against multidrug resistant human pathogenic bacteria. BMC Complementary and Alternative Medicine. 15:127.
67. Naomi Balaban. 2008. Control of biofilm infections by signal manipulation, Vol 2, Springer-verlag berlin heidelberg, Germany, 186 p.
68. Ogame Engonga Louis Clément. 2009. Etude phytochimique, Activités antimicrobiennes et antioxydantes de quelques plantes aromatiques et médicinales africaines. Thèse de doctorat, université de Ouagadougou, Burkina Faso, 277 p.
69. P Astagneau. et G Bruker. 1998. Cout des infections nosocomiales. Pédiatrie et Puériculture 11 :348-353.
70. P M Olaechea., J Insausti., Un Blanco., P Luque. 2010. Epidemiology and impact of nosocomial infections. Med Intensiva. 34(4):256-67.
71. P. Riegel. 2002. Bacteriological aspects of nosocomial urinary tract infections. Médecine et maladies infectieuses. 33 : 255–265.
72. Ph. Tarodo de la Fuente. 1999. Les pneumopathies nosocomiales. Vol. II - n° 3 : 99-103.
73. Rachid Razine., Abderrahim Azzouzi., Amina Barkat., Ibtissam Khoudri., Fadil Hassouni., Almontacer Charif Chefchaouni. 2012. Prevalence of hospital-acquired infections in the university medical center of Rabat, Morocco. International Archives of Medicine. 5:26.
74. Ranita Roy., Monalisa Tiwaria., Gianfranco Donellib., Vishvanath Tiwari. 2018. Strategies for combating bacterial biofilms A focus on anti-biofilm agents and their mechanisms of action. Taylor & Francis Group.1:522–554.
75. Rita B Moyes., Jackie Reynolds., Donald P Breakwell. 2009. Differential staining of bacteria gram stain. Curr Protoc Microbiol. Vol 15.
76. Rokiatou Bassirou Niangado. 2021. Infection liées aux cathéters veineux centraux dans les CHU de Bamako. Mémoire pour obtenir le diplôme d'études spécialisées en

- anesthésié-réanimation (diplôme d'état), université des sciences des techniques et des technologies de Bamako, Mali, 63 p.
77. S Joshi. 2010. AntibioGramme hospitalier une nécessité. Indian journal of medical microbiology. 28(4):277-80.
 78. S Stepanovic., D Vukovic., I Dakic., B Savic., M Svabic-Vlahovic. 2000. A modified microtiter-plate test for quantification of staphylococcal biofilm formation. Microbiol Methods. 40(2):175-9.
 79. Saad Aissat., Moussa Ahmed., Nouredine Djebli. 2016. Propolis-Sahara honeys preparation exhibits antibacterial and anti-biofilm activity against bacterial biofilms formed on urinary catheters. Asian Pacific Journal of Tropical Disease. 6(11) :931-934.
 80. Samia Bellifa., Hafida Hassane., Damien Balestrino., Nicolas Charbonnel., Imane M'hamedi., Ibtissem Kara Terki. 2013. Evaluation of biofilm formation of *Klebsiella pneumoniae* isolated from medical devices at the University Hospital of Tlemcen, Algeria. African Journal of Microbiology Research. Vol. 7(49) : 5558-5564.
 81. SH Mohamed., MSM Mohamed., MS Khalil., M. Azmy et MI Mabrouk. 2018. Combination of essential oil and ciprofloxacin to inhibit/eradicate biofilms in multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. Journal of Applied Microbiology. 125 : 84-95.
 82. Siah S., Belefqih R., Elouennass M., Fouadi F.E., Ihray I. 2009. L'infection nosocomiale en reanimation des brulés. Annals of Burns and Fire Disasters - vol. XXII - n. 2.
 83. Suzanne Leroux. 2018. Notions de base en prévention et contrôle des infections : équipements de protection individuelle, Institut national de santé publique du Québec, Canada, 6 p.
 84. Thomas Bjarnsholt., Claus Moser., Peter strup Jensen., Niels Høiby. 2011. Biofilm infections. Springer science+Business media. Berlin. Germany, 330 p.
 85. Toufik Amairi. 2021. Résistance aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés des abattoirs et élevages de poulet de chair au Nord-Est d'Algérie. Thèse de doctorat en science, université Mohamed Khider de Biskra, Algérie, 123p.
 86. Touhami Morghad., Samia Bellifa., Zahera Meziani., Hafida Hassane., Zakaria Boutarfi., Sarah Gaouar. 2020. Bacteriological water quality and biofilm formation in the treatment system of the hemodialysis unit in Tlemcen, Algeria. Wiley Périodiques LLC. 00 :1-8.

87. Traore Damouso Kone. 2011. Etude des infections nosocomiales dans le service de traumatologie et dans le service et de chirurgie orthopédique au CHU Gabriel Tour. Thèse pour obtenir le grade de docteur en pharmacie, université de Bamako, Mali, 69p
88. Víctor Vásquez., David Ampuero., Belén Padilla. 2017. Urinary tract infections in inpatients: that challenge. *Revista española de quimioterapia* . 30:39-41.
89. Vincent Templier. 2017. Exploration de méthodes alternatives pour la détection de bactéries dans le sang. Thèse pour obtenir le grade de docteur de la communauté, université de Grenoble Alpes, France, 161p.
90. Yannick D.N. Tremblay, Skander Hathroubi, Mario Jacques. 2014. Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique. *The Canadian Journal of Veterinary Research* 8:110–116.
91. Yapo Thomas ABA., Éric Adhoss., Hélène Astier., Khadidiatou M. BÂ Fall., Bernadette Baldin. 2016. *Maladies infectieuses tropicales*. CMT et Alinéa Plus. Paris, 976 p.
92. Yutian Yu., Jie Dong., Yanlu Wang et Xi Gong. 2021. RNA-seq analysis of antibacterial mechanism of *Cinnamomum camphora* essential oil against *Escherichia coli*. *PeerJ* : 2-18.
93. Zeroual Zouhair. 2012. Profil épidémiologique et bactériologique des infections nosocomiales (à propos d'une Enquête de prévalence des infections nosocomiales du CHU Ibn Sina de Rabat Janvier-2010). Thèse pour l'obtention de doctorat en pharmacie, université Mohammed - V, Rabat, Maroc, 171 p.

ملخص

في السنوات الأخيرة ، كان ظهور البكتيريا المقاومة للمضادات الحيوية يمثل مشكلة صحية عامة. كلما تم استخدام المضادات الحيوية ، كلما طورت البكتيريا المقاومة لها من خلال آليات مختلفة ، بما في ذلك تكوين الأغشية الحيوية. يمكن أن تسبب هذه البكتيريا التهابات شديدة أو حتى مميتة ، خاصة في مؤسسات الرعاية الصحية ، والمعروفة باسم عدوى المستشفيات. حاول الباحثون إيجاد حلول باستخدام المنتجات الطبيعية ضد البكتيريا المسؤولة عن عدوى المستشفيات بسبب عدم قدرتها على تطوير مقاومة لجميع مكونات منتج طبيعي معين. الهدف من هذا العمل هو تحليل النتائج التي تم العثور عليها من الدراسات السابقة المختلفة ودراساتنا من أجل تأكيد التأثير التثبيطي لهذه المنتجات الطبيعية

الكلمات المفتاحية : المضادات الحيوية، الأغشية الحيوية، عدوى المستشفيات، البكتيريا المقاومة، المنتجات الطبيعية.

Résumé

Ces dernières années, l'émergence des bactéries résistantes aux antibiotiques constitue un vrai problème de santé publique. Plus on utilise des antibiotiques à large spectre, plus les bactéries y développent une résistance par de différents mécanismes, y compris la formation de biofilms. Ces bactéries peuvent provoquer des infections sévères voire mortelles surtout au niveau des établissements de soins, ce qu'on appelle les infections nosocomiales. Les chercheurs ont essayé de trouver des solutions en-exploitant des produits naturels vis-à-vis les bactéries responsables des infections nosocomiales en raison de leur incapacité de développer une résistance à tous les composants du produit naturel. L'objectif de ce travail est d'analyser les résultats trouvés des différentes études antérieures et ainsi que les nôtres afin de confirmer l'effet inhibiteur de ces produits naturels.

Mots clés : les antibiotiques, les biofilms, les infections nosocomiales, les bactéries résistantes, produits naturels

Abstract

Recently, the rise of antibiotic-resistant bacteria has been a public health problem. The more antibiotics are used, the more bacteria develop resistance through various mechanisms, including the formation of biofilms. These bacteria can cause severe or even fatal infections, especially in healthcare establishments, known as nosocomial infections. Researchers have tried to find solutions using natural products against bacteria responsible of nosocomial infections due to their inability to develop resistance to all components of the natural product. The objective of this work is to analyze the results found from the various previous studies and ours in order to confirm the inhibitory effect of these natural products.

Keywords: antibiotics, biofilms, nosocomial infections, resistant bacteria, natural products.