



République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique



Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Science de la Terre et de l'Univers

Département d'agronomie

Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à
L'Environnement «LAMAABE»

MEMOIRE ACADEMIQUE

Présenté par :

MATALLAH Dahbia et SOUFI Marwa

En vue de l'obtention du

Diplôme de Master en Sciences Alimentaire

Option : Nutrition et pathologie

Thème

Effets des huiles essentielles extraites de quelques plantes
aromatiques sur des souches bactériennes d'origine hospitalière.

Soutenue le 29/06/2025, devant le jury composé de

Présidente	BOUALI Waffa	MCA	Université de Tlemcen
Examinatrice	ZERHOUNI Khadîdja	MCB	Université de Tlemcen
Encadreur	ZENATI Fatima	MCB	Université de Tlemcen

Année Universitaire : 2024 – 2025



REMERCIEMENTS

Avant tout, je rends grâce à ALLAH Tout-Puissant qui m'a donné la force, la patience et la volonté nécessaires pour mener à bien ce travail.

*Je tiens à exprimer ma profonde gratitude à **Dr Zenati Fatima Maitre de conférences classe B** enseignante à l'université Abou-Bekr Belkaïd Tlemcen, ma directrice de mémoire, pour sa disponibilité, son encadrement rigoureux, ses conseils judicieux, ainsi que pour la confiance qu'elle m'a accordée tout au long de ce travail.*

*Mes remerciements s'adressent aussi à **Dr Bouali Waffa Maitre de conférences classe A** enseignante à l'université Abou-Bekr Belkaïd Tlemcen pour l'honneur qu'elle m'a fait en acceptant d'évaluer et de présider ce mémoire, ainsi que pour ses observations pertinentes et enrichissantes.*

*Je remercie également **Dr Zerhouni Khadidja Maitre de conférences classe B** enseignante l'université Abou-Bekr Belkaïd Tlemcen pour avoir accepté de faire partie du jury, pour son temps précieux, ses remarques constructives et son évaluation bienveillante de ce travail.*

Je remercie tous les enseignants du département de sciences de la vie et de nature pour la qualité de l'enseignement qu'ils m'ont dispensé tout au long de mon parcours universitaire.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance à toute l'équipe du laboratoire LAMAABE pour leur accueil chaleureux, leur accompagnement et leur assistance technique tout au long de mes travaux pratiques.

Toute ma gratitude va à ma famille, en particulier à mes parents, pour leur soutien inconditionnel, leurs encouragements constants et leur amour inestimable.

Enfin, je remercie sincèrement mes camarades et amis pour leur soutien moral, leur aide, ainsi que pour les moments d'entraide et de partage durant tout ce parcours.

Dédicace

À celui dont le front s'est couvert de sueur, qui a illuminé mon chemin par ses sacrifices,
et qui a tout donné pour moi... **Mon père.**

À celle qui a apaisé les épreuves par ses prières, au cœur tendre, à la femme admirable...
Ma mère.

À celles qui ont été ma force et mon refuge... Mes chères sœurs (**Islah et Fatima**) .

À mon pilier, la sécurité de mes jours, mon jumeau bien-aimé... (**Mohamed Sadek**) .

À ceux qui ont été un soutien fidèle sur ce chemin... Mes amis sincères, compagnons des
épreuves et des tempêtes.

À celui qui m'a entourée de ses émotions sincères et de ses précieux conseils... À vous,
ma famille.

À ceux qui ont dessiné leurs rêves sur les murs des universités,

Aux étudiants de Gaza partis avant qu'on n'appelle leurs noms le jour de la remise des
diplômes...

Paix à vos âmes pures.

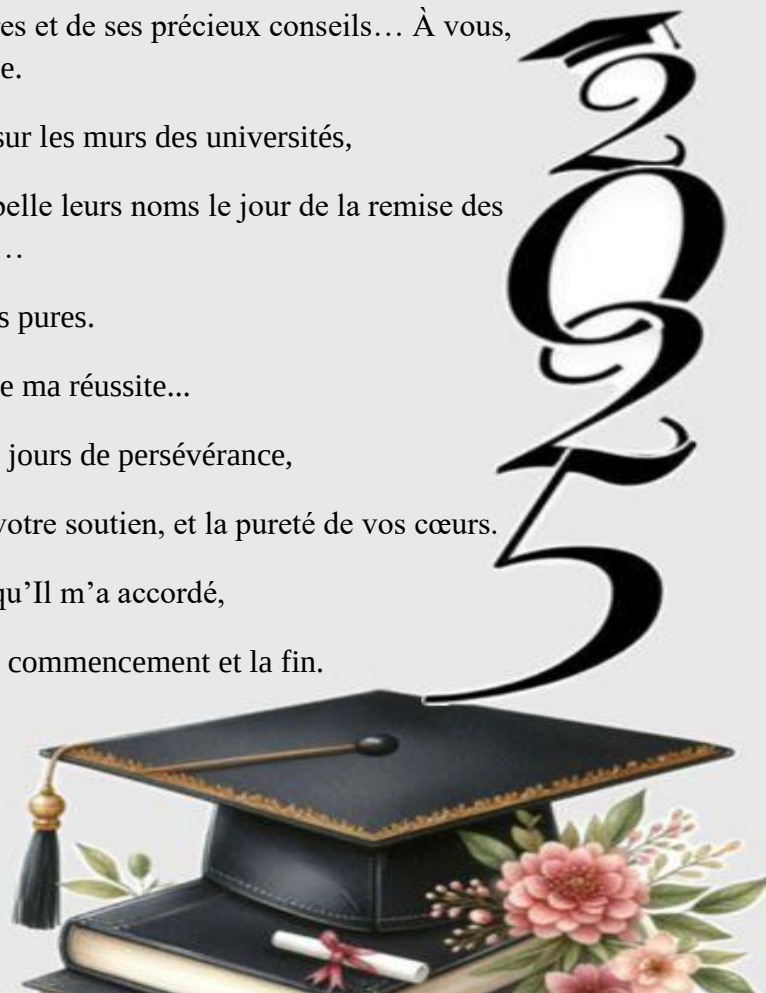
Je vous dédie le fruit de ma réussite...

Le fruit de nuits blanches et de jours de persévérance,

Le fruit d'un labeur couronné par vos prières, votre soutien, et la pureté de vos cœurs.

Louange à Dieu pour ce qu'Il m'a accordé,

Merci, amour et gratitude pour le commencement et la fin.



Dédicace

Je dédie ce modeste travail :

À mon cher père Matallah Mohamed, source de sagesse et de soutien
inestimable.

À ma tendre mère Ben Mostefa Hassiba, dont l'amour et les prières
m'ont toujours accompagnée.

À ma petite sœur Asma, lumière de ma vie

À mes frères Rachad et Anes, pour leur affection et leur
encouragement.

À ma tante bien-aimée Matallah Khadidja, pour sa tendresse et sa
présence réconfortante.

À toute ma famille, sans exception, pour leur amour inconditionnel

À mes chères amies Assia, Radjaa et Hadjer, pour leur amitié sincère,
leur présence précieuse et leur soutien constant.

À vous tous, je vous remercie du fond du cœur.

Ce travail est aussi le vôtre.



Résumé

Une grande partie de l'intérêt de cette étude porte sur l'efficacité des huiles essentielles extraites de deux plantes aromatiques et médicinales de la région de Tlemcen (*Tetraclinis articulata* et *Lavandula dentata*) contre des souches bactériennes d'origine hospitalière (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*) notamment isolées à partir de dispositifs médicaux (sondes urinaire) ,prélevées auprès des patients hospitalisés à la réanimation et à la chirurgie aux CHU de Tlemcen,, représentent les agents les plus fréquents, Ces souches montrent une réduction de sensibilité aux antibiotiques classiques, ce qui renforce l'intérêt de tester ces alternatives naturelles..

Les huiles essentielles ont été obtenues par hydrodistillation, avec un rendement de 0,41 % pour *Tetraclinis articulata* et 0,23 % pour *Lavandula dentata*.

Les tests d'activité antibactérienne ont démontré que l'huile essentielle de *T. articulata* présente une activité importante contre les bactéries à Gram positif, en particulier *S. aureus*, avec des zones d'inhibition atteignant 40 mm et une concentration minimale inhibitrice (CMI) de 1 %. Par contre, l'huile de *L. dentata* est moins active.

Ces résultats suggèrent que ces huiles essentielles pourraient constituer une alternative naturelle prometteuse aux antibiotiques, bien que des études supplémentaires soient nécessaires pour confirmer leur potentiel en milieu clinique.

Mots clés : Huiles essentielles, *Tetraclinis articulata*, *Lavandula dentata*, résistance bactérienne, activité antibactérienne, CMI, infections nosocomiales.

.

Abstract

A large part of the interest in this study lies in the effectiveness of essential oils extracted from two aromatic and medicinal plants from the Tlemcen region (*Tetraclinis articulata* and *Lavandula dentata*) against hospital-acquired bacterial strains (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, and *Pseudomonas aeruginosa*), particularly those isolated from medical devices (urinary catheters) taken from patients hospitalized in intensive care and surgical departments at the University Hospital Centers (CHU) of Tlemcen. These bacteria are among the most frequently encountered pathogens and show reduced sensitivity to conventional antibiotics, which strengthens the relevance of testing these natural alternatives.

The essential oils were obtained by hydrodistillation, with a yield of 0.41% for *Tetraclinis articulata* and 0.23% for *Lavandula dentata*. Antibacterial activity tests demonstrated that the essential oil of *T. articulata* exhibits significant activity against Gram-positive bacteria, particularly *S. aureus*, with inhibition zones reaching 40 mm and a minimum inhibitory concentration (MIC) of 1%. In contrast, the oil of *L. dentata* is less active.

These results suggest that these essential oils could be a promising natural alternative to antibiotics, although further studies are needed to confirm their potential in clinical settings.

Keywords: Essential oils, *Tetraclinis articulata*, *Lavandula dentata*, bacterial resistance, antibacterial activity, MIC, nosocomial infections.

الملخص

يرتكز جزء كبير من أهمية هذه الدراسة على فعالية الزيوت الأساسية المستخلصة من نباتي *Tetraclini* *Lavandula dentata* و *articulata* ضد سلالات بكتيرية مكتسبة من المستشفى (*Staphylococcus aureus* (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*), خصوصا تلك المعزولة من الأجهزة الطبية (مثل القسطر البولية) المأخوذة من المرضى المقيمين في أقسام الإنعاش والجراحة في المستشفيات الجامعية لولاية تلمسان. وتعد هذه السلالات من بين أكثر العوامل الممرضة شيوعا, كما تظهر انخفاضا في الحساسية تجاه المضادات الحيوية التقليدية, مما يعزز أهمية اختبار هذه البدائل الطبيعية. تم الحصول على الزيوت الأساسية بطريقة التقطير بالماء (الهيدرو تقطير) بنسبة مردود بلغت 0,41% لنبات *Tetraclinis articulata* و 0,23% لنبات *lavandula dentata*.. أظهرت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا ان زيت *Tetraclinis articulata* يتميز بنشاط كبير ضد البكتيريا موجبة الغرام, خاصة *S. aureus* حيث وصلت مناطق تثبيت الى 40ملم, و بتركيز مثبط ادنى (CMI) قدره 1% اما زيت *L. dentata* فكان نشاطه اقل. تشير هذه النتائج الى ان هذه الزيوت الأساسية قد تشكل بديلا طبيعيا واعدة للمضادات الحيوية رغم الحاجة الى المزيد من الدراسات لتأكيد فعاليتها في البيئة السريرية. **الكلمات المفتاحية:** الزيوت الأساسية, *Lavandula dentata*, *Tetraclinis articulata*, مقاومة بكتيرية, نشاط مضاد للبكتيريا, CMI, عدوى مكتسبة في المستشفى.

SOMMAIRE

Remerciements

Dédicace

Résumé / Abstract

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction générale.....1

Partie I : Synthèse bibliographique.....3

Chapitre I : Les bactéries d'origine hospitalière.....3

I.1.Définition des bactéries d'origine hospitalières3

I.2.Les principales bactéries d'origine hospitalières3

I.3.Les principaux types des infections nosocomiales.....5

I.4.Les facteurs de risques des infections nosocomiales.....8

I.5.Modes de transmission des infections nosocomiales.....9

I.6.Traitement des infections nosocomiales..... 9

I.7.Résistance bactérienne aux antibiotiques:.....10

I.8.Prévention des infections nosocomiales et l'antibiorésistance.....12

Chapitre II : Les huiles essentielles et leur activité antibactérienne.....14

II.1. Généralités.....14

II.2.Définition les plantes médicinales et aromatiques.....14

II.3. Généralités sur les huiles essentielles.....14

II.3.1.Définition des huiles essentielles.....14

II.3.2.Répartition et localisation.....15

II.3.3.Composition chimique des huiles essentielles.....15

II.3.4.Méthode d'extraction des huiles essentielles.....16

II.3.5.Activité antimicrobienne et mécanisme d'action des huiles essentielles.....17

II.3.6.Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne.....18

II.3.7.Méthodes de détermination de la concentration minimale inhibitrice.....19

II.3.8.Domains d'utilisation des huiles essentielles.....	19
II.3.9.Place des plantes dans la lutte contre la résistance.....	20
II.3.10.Les voies d'administration des huiles essentielles.....	20
II.4. Présentations des plantes étudiées.....	21
1. <i>Tetralinis articulata</i>	21
2. <i>Lavandula dentata</i>	23
Partie II : Matériel et méthodes.....	26
1. Lieu d'étude.....	26
2. Matériel.....	26
2.1. Matériel de laboratoire.....	26
2.2. Matériel végétale.....	27
2.3. Matériel biologique.....	27
3. Méthode.....	28
3.1. Extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation).....	28
3.2. Détermination du rendement.....	29
3.3. Préparation de la suspension bactérienne.....	29
3.4. Technique en milieux solide : la méthode de Vincent (aromatogramme)	34
3.5Détermination de la concentration minimale inhibitrice«CMI» des antibiotiques.....	35
3.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI ».....	36
3.7. Détermination de CMB en milieu solide.....	38
Partie III: Résultats et discussion.....	39
1. Prélèvement et les germes isolées.....	39
2. Résultats bactériologique des souches hospitalières isolée.....	39
3. Choix des souches bactériennes utilisées	40
4Etude de la résistance des bactéries d'origine hospitalière isolées aux antibiotique.....	41
5. Déterminations de CMI et des ATB.....	45
6. Effet des huiles HE des plantes aromatiques utilisées sur les souches bactériennes d'origine hospitalières.....	46
6.1. Résultats des extractions.....	46
6.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne..	47
Conclusion générale.....	57

Références bibliographiques.....	59
Annexes.....	64

Liste des abréviations

Abréviation	Signification
HE	Huile Essentielle
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
ATB	Antibiotique
SARM	Staphylococcus aureus Résistant à la Méthicilline
BLSE	Bêta-Lactamases à Spectre Étendu
IPM	Imipénème
CIP	Ciprofloxacine
GEN	Gentamicine
AML	Amoxicilline
FOX	Céfoxitine
CTX	Céfotaxime
CAZ	Ceftazidime
EX	Extraction
OX	Oxacilline
VA	Vancomycine
P	Pénicilline G
API	Analytical Profile Index
ATCC	American Type Culture Collection
BGN	Bacilles à Gram Négatif
BHIB	Brain Heart Infusion Broth
CMH	Cation-Adjusted Mueller-Hinton
IAS	Infections Associées aux Soins
IN	Infection Nosocomiale
ISO	Infection du Site Opératoire
PBP	Penicillin-Binding Protein

Liste des Figures

Figure 01 : Exemple d'huiles essentielles et de leur constituant majoritaire.....	15
Figure02 : les methodes d'extraction des huiles essentielles.....	16
Figure 03 : Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation.....	17
Figure 04: Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien.....	18
Figure 05: les différents organes du <i>Tétraclinis</i> , Articulata.....	22
Figure 06: morphologie de <i>Lavandula Dentata</i>	24
Figure 07: <i>Lavandula Dentata</i>	24
Figure 08: Méthode d'aromatogramme.....	35
Figure 09: Préparation des dilutions des huiles essentielles.....	37
Figure10: Préparation de micro plaque.....	37
Figures 11: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches d' <i>E. Coli</i> d'origine hospitalière.....	42
Figure 12: Résultats d'antibiogramme de souche <i>Escherichia coli</i> 01.....	42
Figure 13: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches d' <i>k.pneumoniae</i> d'origine.....	43
Figure 14: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> d'origine hospitalière.....	44
Figure 15: Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de <i>Staphylococcus aureus</i> d'origine hospitalière.....	45
Figure 16: résultats des diamètres, des zones d'inhibition de <i>Tetrachinis articulata</i>	51
Figure 17: résultats des diamètres, des zones d'inhibition de <i>lavandela dentata</i>	51
Figure 18: la zone d'inhibition d'HE de <i>T. Articulata</i> vis-à-vis <i>E coli</i>	52
Figure 19: la zone d'inhibition d'HE <i>L. Dantata</i> vis-à-vis <i>E coli</i>	52
Figure20: la zone d'inhibition d'HE de <i>T Articulata</i> vis-à-vis <i>S.auries</i>	53
Figure 21: la zone d'inhibition d'HE de <i>L Dantato</i> vis-à-vis <i>S.auries</i>	53

Figure 22: la zone d'inhibition d'HE de *T. Articulata* vis-à-vis *P.aeruginosa*.....54

Figure 23: la zone d'inhibition d'HE de *L.Dentara* vis-à-vis *P.aeruginosa*.....54

Liste des Tableaux

Tableau01: compositions chimique de certaine essence de <i>T articulata</i>	23
Tableau02: liste des matériels et produits utilisés pour ce travail.....	26
Tableau03 : les espèces végétales étudiées.....	27
Tableau04: Les souches bactériennes utilisées pour les tests.....	28
Tableau05: Antibiotique testé sur <i>Staphylococcus auries</i>	33
Tableau06: Antibiotique testé sur <i>Escherichia coli</i> et <i>Klebsiella pneumona</i>	34
Tableau07: Antibiotique testé sur <i>Pseudomonas auries</i>	34
Tableau08: Concentrations minimales inhibitrices ($\mu\text{g/ml}$) de gentamicine contre les bactéries isolée.....	45
Tableaux09: Rendements en HE et caractéristiques organoleptiques.....	47
Tableau10: Rendements en HE rapportés dans la littérature.....	47
Tableau11: Résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm).....	49
Tableau12: Concentrations minimales inhibitrices (CMI en % v/v) et bactericides (CMB en % v/v) des Hes.....	55

INTRODUCTION GENERALE

La résistance bactérienne est un phénomène où certaines bactéries deviennent capables de survivre à l'action des antibiotiques. Cela rend les infections plus difficiles à traiter. Ce problème est souvent causé par une mauvaise utilisation des antibiotiques, comme l'arrêt du traitement trop tôt ou l'usage excessif. La résistance peut se transmettre entre bactéries, ce qui complique la prise en charge, surtout en milieu hospitalier. C'est un défi mondial pour la santé publique (**Laxminarayan et al., 2013**).

Face à ce problème, des recherches récentes s'intéressent aux alternatives naturelles, comme les huiles essentielles, qui montrent une activité antibactérienne prometteuse contre certaines souches résistantes (**Burt, 2004**).

Les huiles essentielles sont des extraits naturels utilisées depuis le temps ancien pour se soigner et pour lutter contre les infections (**Bakkali et al., 2008**). Les huiles essentielles possèdent une activité antimicrobienne notable. Elles sont généralement plus efficaces contre les bactéries à Gram positif (comme *Staphylococcus aureus*), car celles-ci ont une paroi cellulaire plus simple (**Burt, 2004**). En revanche, les bactéries à Gram négatif (comme *Escherichia coli*) sont plus résistantes en raison de la présence d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides (**Bakkali et al., 2008**).

Des études antérieures ont montré que de nombreuses plantes possèdent une activité antimicrobienne significative. Tels que l'huile essentielle de *Lavandula angustifolia* ont démontré une efficacité contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (**Andrade et al., 2014**). Ainsi que, les extraits de *Thymus vulgaris* ont présenté une forte activité inhibitrice contre *Pseudomonas aeruginosa* (**Soković et al., 2010**). D'autres recherches ont révélé le pouvoir antibactérien de l'extrait de ***Rosmarinus officinalis*** notamment contre des souches multirésistantes (**Celiktas et al., 2007**). Ces résultats suggèrent que les plantes aromatiques pourraient constituer une source prometteuse de nouveaux agents antimicrobiens naturels.

Dans le même axe de recherche de molécule bioactifs issue des plantes aromatiques et médicinales et la valorisation des produits naturels nous sommes intéressées à l'étude de l'effet des huiles essentielles de deux plantes de la région de Tlemcen *Tetraclinis articulata* (**Arar**) et *lavandula dentata* (**Zir**).

L'objectif de ce travail d'évaluer l'activité antimicrobienne de ces deux huiles essentielles sur des bactéries d'origine hospitalière. et de comparer leurs efficacités respectives afin de déterminer laquelle présente la meilleure activité.

Le travail est organisé selon la structure suivante :

- ❖ La première partie concernant la synthèse bibliographique comprend deux chapitres :
 - Chapitre I : Généralités sur les bactéries d'origine hospitalières
 - Chapitre II : Généralités sur les huiles essentielles et leur activité antibactérienne
- ❖ La deuxième partie consiste à la présentation du matériel et les méthodes utilisés dans ce travail.
- ❖ Et enfin, la troisième partie, sera consacrée à la présentation des résultats et à leurs discussions

SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1. Définition des bactéries hospitalières

Les hôpitaux sont des milieux qui regroupent de diverses maladies, et forment un environnement favorable à la propagation des bactéries résistante aux antibiotiques, lorsque les normes d'hygiène et environnementales ne sont pas respectées (**Glenn et al., 2014**).

Les bactéries hospitalières sont des bactéries qui se distinguent des bactéries communautaires par leur résistance à plusieurs ATB en raison de leur utilisation intensive et parfois inadéquate. Ces bactéries sont responsables de 90 % des infections hospitalières (infections nosocomiales) (**Inia, 2021**) qui sont touchées, particulièrement les patients passent au moins trois jours dans l'hôpital (**Etienne et al., 2016**).

Selon l'OMS, il est estimé qu'environ 15 % des patients hospitalisés sont affectés par les infections nosocomiales (**Khan et al., 2017**). En Algérie, environ 30 % de ces infections touchent des patients hospitalisés dans les centres hospitaliers. Dans de nombreux cas, les patients ne meurent pas directement à leur maladie, mais aux infections largement répandues en milieu hospitalier (**Mahdia et Ouamer, 2019**).

I.2. Principales bactéries d'origine hospitalière

Les infections nosocomiales aussi appelées « infections hospitalières » sont définies par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) comme des infections acquises pendant un séjour à l'hôpital et qui n'étaient ni présentes ni en incubation au moment de l'admission du patient « lorsque la situation précise à l'admission n'est pas connue, un délai d'au moins 48 heures après admission (ou un délai supérieur à la période d'incubation lorsque celle-ci est connue) est communément accepté pour distinguer une infection d'acquisition nosocomiale d'une infection communautaire » (**OMS, 2002**).

Les infections hospitalières peuvent être causées par différents types de bactéries. Cependant, les plus fréquemment impliquées, responsables de 50 % des cas des infections hospitalières sont : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Aodhan, 2016**). Ces bactéries sont multirésistantes, caractérisées par leur capacité d'adaptation face à un environnement ubiquitaire ou hostile et même en absence d'exigences nutritionnelles et leur pouvoir pathogènes (**Glenn et al., 2014**).

I.2.1. *Escherichia coli*

C'est une bactérie qui se trouve dans le système digestif de l'homme ou dans les excréments des animaux. Elle a une forme de bâtonnet, mesure entre 1 et 3 micromètres, et elle est Gram négatif. Elle se multiplie rapidement à 37 °C. Elle produit une quantité de CO₂ égale à celle de l'acide lactique, ce qui rend le lait acide et le fait cailler. Elle peut aussi causer plusieurs maladies comme les infections respiratoires, l'appendicite, l'inflammation du cœur, les diarrhées causées par des parasites, et si elle passe dans le sang, elle provoque une forte fièvre (**Anthony et al., 2007 ; Mellies et al., 2007**) .

I.2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

C'est une bactérie gram+, mobile, aérobie et elle a une forme de bâtonnets droits avec des flagelles à l'extrémité. Cette bactérie est l'une des plus résistantes naturellement aux antibiotiques, grâce à une combinaison de mécanismes de défense efficaces. Cette bactérie peut être isolée - retrouvée dans du tube digestif humain, de l'eau ou du sol. Elle provoque une détérioration en surface des aliments réfrigérés et décompose les graisses contenues dans le lait, ce qui change sa couleur et son goût. Cette bactérie est aussi liée aux infections nosocomiales, surtout dans les blocs opératoires. Elle peut se développer dans une large plage de températures, entre 34 °C et 43 °C. Sa largeur est d'environ 0,5 µm et sa longueur varie entre 1–1,5 µm jusqu'à 4 µm. Elle est pathogène pour l'homme et les animaux, et peut causer des infections oculaires, des infections de brûlures et de plaies, ainsi que des maladies des poumons et des méninges (**Joffin et Schuter, 2003 ; Poole, 2001**).

I.2.3. *Klebsiella pneumoniae*

Les bactéries appartenant à l'espèce *K. pneumoniae* sont des bacilles à Gram négatif toujours immobiles, non sporulés (**Benmesmoudie, 2015**), en forme de tige (**Squeglia et al., 2020**). Elles mesurent environ 2 µm de long et 0,5 µm de large (**Victoire, 2019**). Cette espèce appartient à la famille des entérobactéries (**El Khoury, 2019**). Cette espèce est une bactérie commensale qui peut être responsable d'infections communautaires et d'infections opportunistes graves chez les malades hospitalisés (**Aissani, 2008**). Son pouvoir pathogène est conditionné par divers facteurs de virulence comme les adhésines, la capsule polysaccharidique, le lipopolysaccharide et les sidérophores (**Atmani et al., 2016**). La mortalité et la morbidité dues à cette bactérie ont dramatiquement évolué et sont

directement liées à son pouvoir pathogène et sa multi résistance aux antibiotiques (**Aïssani-El Fertas, 2017**).

I.2.5. Les staphylocoques

Le staphylocoque se présente sous la forme de cocci à Gram positif disposés en paires, en chaînes courtes ou en grappes irrégulières, mesurant 0,5 à 1,5 µm de diamètre (**Santos et al., 2015**). *S. aureus*, l'espèce emblématique du genre *Staphylococcus*, également nommée *staphylocoque doré*, sécrète une variété de toxines (**ANSES, 2011**). Bien que souvent inoffensive à l'état commensal, *S. aureus* peut provoquer de nombreuses infections chez l'être humain, incluant des affections cutanées (impétigos, folliculites, furoncles, panaris) ainsi que des infections des muqueuses et des septicémies (conjonctivites, otites, salpingites, endométrites, pneumonies) (**Couderc, 2015**). Les constituants de la paroi des *staphylocoques*, les substances enzymatiques et toxiques produites, hydrolysant différents constituants cellulaires contribuent à la pathogénie des staphylocoques (**Arvidson, 2000**).

I.2.6. Autre agents pathogènes des infections hospitalières

Les virus et les champignons peuvent être aussi la cause des infections hospitalières comme Les virus grippaux et les candidats (**Widad, 2016**).

I.3. Principaux types des infections nosocomiales

En Algérie, les infections nosocomiales (IN) constituent un problème majeur de santé publique, avec une diversité de types et de taux de prévalence rapportés à travers plusieurs études. Au Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine, le taux d'infections nosocomiales a été estimé à 12 %, avec une prédominance des pneumonies (34 %), des infections urinaires (33 %) et des septicémies (33 %) (**Harzallah et al., 2022**). Par ailleurs, une autre étude réalisée au CHU de El Oued a révélé un taux de prévalence de 16,2 %, les infections du site opératoire (35,4 %) (**Bezzaoucha et al., 1994**).

I.3.1. Infections du site opératoire (ISO)

L'infection du site opératoire (ISO) est une infection qui survient au niveau de la zone où une incision chirurgicale a été réalisée. Elle apparaît généralement dans les 30 jours suivant l'intervention, ou dans l'année si une prothèse est implantée. Elle peut toucher la peau, les tissus sous-cutanés, ou s'étendre plus profondément aux muscles, fascias, voire aux organes ou espaces manipulés durant la chirurgie (OMS, 2016).

Selon Mangram *et al.*, (1999), ces infections représentent une cause importante de morbidité post-opératoire et nécessitent une surveillance rigoureuse pour prévenir les complications.

Les germes les plus fréquemment isolés dans les infections du site opératoire sont les bactéries à Gram positif, principalement *Staphylococcus aureus*, et les bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* (Beye *et al.*, 2024).

I.3.2. Infections urinaires

Une infection urinaire est une infection qui atteint une ou plusieurs structures du système urinaire, comme les reins, les uretères, la vessie ou l'urètre. Elle peut se manifester à tout âge et pour les deux sexes. (Dupont *et al.*, 2015). Ces infections touchent particulièrement les patientes porteuses de sondes urinaires, ou ayant un séjour de longue durée ainsi que les patients âgés atteints souffrant de maladies chroniques. Les microorganismes responsables de ces complications proviennent généralement de la flore intestinale du patient (Lazrak *et al.*, 2014).

Les germes les plus fréquents sont : *E. coli*, *Enterococcus spp*, *P. aeruginosa*, *Enterobacter .spp*, *Klebsiella*, *Staphylococcus* ; il est possible de trouver des levures *Candida* dans les urines des malades hospitalisés et sondés (Has, 2008).

I.3.3. Infections respiratoires

Les infections respiratoires sont parmi les maladies les plus fréquentes. Elles affectent le système respiratoire, qui comprend le nez, la gorge, la trachée et les poumons. On les classe en deux types : les infections respiratoires hautes, comme le rhume et l'angine, et les infections respiratoires basses, comme la bronchite et la pneumonie. Elles sont souvent

causées par des virus, mais peuvent aussi être dues à des bactéries. La transmission se fait par l'air ou par contact avec des surfaces contaminées. Les symptômes les plus courants sont la toux, l'écoulement nasal, la fièvre, et parfois des difficultés à respirer. Le traitement repose sur le repos, une bonne hydratation, et des médicaments pour soulager les symptômes. Les antibiotiques ne sont utilisés que si l'infection est d'origine bactérienne (OMS, 2023).

Les principaux micro-organismes responsables sont : *Streptococcus pneumoniae*, *staphylococcus aureus*, les bacilles à Gram négatif (BGN) telles que *Pseudomonas aeruginosa* et *Haemophilus influenzae* (Sanjay, 2019).

I.3.4. Bactériémies et Septicémies

La bactériémie est le passage bref et transitoire des bactéries dans le sang ne donnant lieu à aucune manifestation clinique, et la septicémie est une infection générale due à des décharges microbiennes massives et répétées, issues d'un foyer septique. La bactériémie ne donne en principe pas lieu à des signes cliniques, par contre la septicémie se caractérise par un tableau clinique grave : fièvre élevée, altération rapide de l'état général, ... (Bezzaoucha, 2004).

La bactériémie et la septicémie sont considérées comme nosocomiales lorsque la porte d'entrée ou le foyer d'infection responsable n'existait pas lors de l'admission à l'hôpital. (Nauciel et Vilde, 2005). Le taux de bactériémies nosocomiales est estimé à un cas pour cent patients hospitalisés, ce taux est plus élevé en réanimation, en hématologie et dans les services d'hémodialyse. Les portes d'entrées sont nombreuses : veineuses (cathéter infecté), chirurgicales (intervention sur les voies digestives..), médicales (investigation à l'aide de sondes), cutanées (surinfections de plaies, ...).

Tous les germes pyogènes peuvent être en cause, mais aussi certaines espèces saprophytes tel que *Staphylococcus epidermidis* à l'occasion d'une effraction cutanée ou d'une déficience des défenses immunitaires. (Tortora et al, 2003)

I.3.5. Autre infection

Il existe d'autres types d'infections nosocomiales, qui sont moins fréquentes ou moins graves. Parmi elles, on trouve : les infections du cœur et des vaisseaux sanguins, la méningite ou la ventriculite, les infections de la peau et des tissus mous, ainsi que les infections du système digestif et hépatique, comme la gastro-entérite (surtout chez les enfants) ou l'hépatite virale. On peut aussi rencontrer des Infections oto-rhino-laryngologiques comme la sinusite ou la conjonctivite, des infections génitales après l'accouchement, ainsi que certaines infections généralisées qui touchent tout le corps **(Madi et Djema, 2019)**.

I.4. Facteurs de risque des infections hospitalières

Les risques d'infections dans les hôpitaux se répartissent en trois grandes catégories :

a. Facteurs de risque liés au patient

Les caractéristiques cliniques individuelles peuvent prédisposer certains patients à un risque accru d'infections nosocomiales

Comorbidités : Des maladies chroniques telles que le diabète sucré et les affections cardiovasculaires augmentent considérablement la vulnérabilité aux infections nosocomiales **(Deng et al., 2024)**.

Durée prolongée d'hospitalisation : Un séjour hospitalier long, notamment chez les patients alités, est fortement associé à une hausse de l'incidence des infections nosocomiales **(Yuhui et al., 2020)**.

Utilisation des antibiotiques : L'administration fréquente ou antérieure d'antibiotiques, surtout chez les patients ayant des antécédents infectieux, représente un facteur de risque important de survenue des infections nosocomiales **(Deng et al., 2024 ; Djordjevic et al., 2016)**.

b. Facteurs de risque procéduraux

Les interventions médicales invasives et les pratiques cliniques jouent un rôle déterminant dans l'apparition des infections nosocomiales.

Procédures invasives : L'utilisation de dispositifs médicaux comme les cathéters veineux centraux et les appareils de ventilation mécanique est reconnue comme un facteur de risque majeur d'infections nosocomiales (**Djordjevic et al., 2016**).

Protocoles de prévention : Les établissements disposant de protocoles structurés de prévention et de systèmes de surveillance réguliers présentent généralement des taux d'INs plus faibles (**Garlasco et al., 2021**).

c. Facteurs de risque structurelles

Conception des infrastructures hospitalières : Des éléments architecturaux tels que la configuration des chambres, les systèmes de ventilation et les matériaux de construction peuvent influencer de manière significative la transmission des agents infectieux (**Saran et al., 2021**).

I.5. Mode de transmission des infections nosocomiales

La transmission des INs peut se faire par voie endogène (auto-infection) lorsque le malade s'infecte par ses propres germes soit in situ, soit à partir de l'environnement immédiat comme la surface de la peau, les vêtements et les lits. Ces infections sont dues généralement aux germes saprophytes qui deviennent pathogènes à la suite d'une antibiothérapie itérative ou d'un traitement immunosuppresseur (**Kone, 2010**). La transmission peut également se faire par voie exogène, la plus fréquente étant l'infection croisée ou l'hétéro-infection, dans ce cas, le germe responsable de l'IN provient d'un autre malade, la transmission étant de plus souvent manu porté, par le personnel soignant intervenant au près de plusieurs patients (**Bachina et al., 2014**).

La contamination des patients peut être également causée par des germes importés au sein de la structure de soins par l'admission de nouveaux malades, rarement du personnel ou des visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse. Ce type d'infection est appelé xéno-

infection, elle peut être fatale pour les patients fragiles (**Samou, 2005**). Enfin, un autre mode de transmission est appelé éxo-infection qui résulte d'une défaillance de type erreur ou à une insuffisance dans les procédures d'asepsie (**Haddadi, 2013**).

I.6. Traitement des infections nosocomiales

Le traitement des infections nosocomiales repose principalement sur une antibiothérapie adaptée, guidée par les résultats de l'antibiogramme. Dans un premier temps, un traitement probabiliste est initié en fonction du site de l'infection, du terrain du patient (immunodépression, âge, comorbidités) et des données locales de résistance bactérienne (**Vincent, 2005**). Ce traitement est ensuite ajusté dès que les résultats microbiologiques sont disponibles.

Les infections causées par des bactéries multirésistantes telles que les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) ou les *Pseudomonas aeruginosa* résistants nécessitent souvent l'utilisation d'antibiotiques de dernier recours comme les carbapénèmes, la vancomycine ou la colistine (**Andremont, 2010 ; HAS, 2022**). Dans certains cas, une bithérapie peut être recommandée pour optimiser l'efficacité et limiter l'apparition de nouvelles résistances.

Par ailleurs, des mesures complémentaires doivent être mises en œuvre, telles que le drainage des foyers infectieux, le retrait ou le remplacement des dispositifs invasifs (sondes, cathéters) et la stabilisation de l'état général du patient (**Barbut et Brun-Buisson, 2007**). Une hygiène stricte et le respect des protocoles de prévention sont également indispensables pour limiter la transmission croisée et éviter les récives.

I.7. Résistance bactérienne aux antibiotiques

I.7.1 Définition d'antibiotiques

Il s'agit de composés chimiques organiques produits par les réactions métaboliques de certains micro-organismes. Ces substances présentent une activité sélective à l'égard des agents pathogènes microbiens, même à de faibles concentrations. Elles sont capables

d'inhiber la croissance et la multiplication de ces agents, et sont désignées sous le terme de bactériostatiques. De nos jours, les antibiotiques sont utilisés comme des agents thérapeutiques d'origine naturelle pour le traitement de nombreuses maladies infectieuses d'origine microbienne (Zhang, 2003; Solensky *et al.*, 2002; Corvaglia, 2006)

I.7.2. Cibles bactériennes des antibiotiques

Les cibles des antibiotiques sont impliquées dans les fonctions physiologiques ou métaboliques de la bactérie. Les antibiotiques peuvent inhiber la biosynthèse des acides nucléiques (ADN et ARN), Interférer avec les voies métaboliques de synthèse de l'ADN mais leurs cibles principales sont la paroi cellulaire et les ribosomes bactériens. La complexité des motifs structuraux et la grande variabilité des groupements fonctionnels, qui entrent dans la constitution des antibiotiques, leur permettent d'établir des interactions spécifiques avec leurs cibles bactériennes. Cette haute spécificité, associée à l'exceptionnelle capacité d'adaptation des bactéries, participe, entre autres facteurs, à la sélection de bactéries résistantes aux antibiotiques (Singh et Barrett, 2006).

I.7.3. Résistance bactérienne

a. Définition de la résistance

La résistance bactérienne est apparue dès les débuts de l'utilisation des antibiotiques contre les maladies infectieuses. Elle constitue désormais un véritable défi pour les médecins en raison de son évolution constante. On parle de bactéries résistantes lorsqu'elles sont capables de croître et de se multiplier en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à la dose habituelle (Courvalin, 2005)

b .Les types de la résistance

- **Résistance naturelle**

C'est une résistance intrinsèque qui signifie un caractère présent chez toutes les bactéries du même genre bactérien. Cette résistance est stable, alors la transmission verticale à la descendance lors de la division cellulaire. La résistance naturelle est permanente et d'origine chromosomique et aussi peut être due à l'inaccessibilité de la cible

pour l'antibiotique. Par exemple, la résistance des BGN à la vancomycine est naturelle (Carle, 2009).

- **Résistance acquises**

La résistance acquise se manifeste lorsqu'une ou plusieurs souches d'une espèce bactérienne naturellement sensible à un antibiotique développent une résistance à cet antibiotique. Les mécanismes de résistance acquise impliquent des altérations de l'ADN de la bactérie, résultant en des mutations ou des transferts de gènes résistants d'une bactérie résistante vers une bactérie sensible, souvent via des éléments génétiques mobiles tels que les plasmides. Ces derniers sont des molécules d'ADN autonomes et distinctes de l'ADN chromosomique, capables de se répliquer indépendamment et non essentielles à la survie de la cellule (Veyssiere, 2019).

- **Multi- résistance**

Une bactérie multirésistante aux antibiotiques (BMR) est définie comme une bactérie qui, en raison de l'accumulation de résistances naturelles et acquises, n'est sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques généralement utilisés en thérapeutique. Ces bactéries ne répondent plus qu'à un nombre limité d'antibiotiques, ayant développé des résistances à plus de trois familles différentes d'antibiotiques. Les BMR les plus fréquemment détectées en microbiologie sont, par ordre de fréquence, les entérobactéries avec les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), et l'entérocoque résistant à la vancomycine (VRE), qui sont moins courants en milieu urbain. Un autre exemple est celui des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) (Perez, 2013 ; Veyssiere, 2019)

I.8. Prévention des infections hospitalières et l'antibiorésistance

L'antibiorésistance est une des principales menaces pour la santé publique dans le monde, car elle limite les possibilités de traitement des infections communautaires et est de nature à faire régresser les progrès de la médecine moderne rendus possibles par la

prévention ou le traitement des infection nosocomiales **(Coignard, 2019)**. La prévention des infections nosocomiales constitue un enjeu majeur pour garantir la sécurité des patients et maîtriser les coûts de santé. Les stratégies les plus efficaces reposent sur une approche intégrée combinant plusieurs mesures complémentaires. L'hygiène des mains, notamment le lavage régulier et rigoureux, demeure l'un des moyens les plus simples et les plus efficaces pour limiter la transmission des agents pathogènes entre patients **(Harikrishnan et al., 2021)**. Par ailleurs, l'application stricte des techniques d'asepsie au cours des actes médicaux réduit considérablement les risques infectieux **(Harikrishnan et al., 2021)**. Sur le plan environnemental, la mise en œuvre de protocoles de nettoyage et de désinfection systématiques dans les établissements de santé est essentielle pour diminuer la charge microbienne présente dans les milieux hospitaliers **(K et al., 2023)**. De plus, l'utilisation de substances innovantes capables d'inhiber la formation de biofilms sur les surfaces constitue une avancée prometteuse dans la prévention de la colonisation bactérienne **(Reches, 2018)**. La surveillance épidémiologique continue permet, quant à elle, de détecter rapidement les foyers d'infection et de réagir de manière ciblée **(Sullivan et al., 2023)**. Enfin, la formation continue du personnel soignant aux pratiques de prévention et de contrôle des infections est indispensable pour maintenir un niveau élevé de qualité et de sécurité des soins **(Harikrishnan et al., 2021)**. Toutefois, malgré l'efficacité de ces mesures, la montée en puissance des bactéries multirésistantes demeure un défi majeur, appelant à une adaptation constante et à l'innovation continue dans les stratégies de lutte contre les IAS **(K et al., 2023 ; Sullivan et al., 2023)**.

II.1. Généralité

L'augmentation de la résistance des bactéries aux antibiotiques est un problème mondial sérieux qui a orienté la recherche pour l'identification de nouvelles biomolécules avec une large activité antibactérienne. Les plantes et leurs dérivés, tel que les huiles essentielles, sont souvent utilisés dans la médecine populaire. Dans la nature, les HEs jouent un rôle important dans la protection des plantes. elles contiennent une grande variété de métabolites secondaires capables d'inhiber ou de ralentir la croissance des bactéries (bouyahya *et al.*, 2018

II.2. Définition des plantes médicinales aromatique

Les plantes médicinales et aromatiques désignent une catégorie de plantes utilisées traditionnellement depuis l'Antiquité à des fins thérapeutiques, et qui possèdent généralement une odeur agréable (Willis, 2017). Cette classification repose sur un usage traditionnel, sans fondement scientifique strict, car certaines plantes non aromatiques peuvent être médicinales, tandis que certaines plantes aromatiques n'ont pas de propriétés thérapeutiques (Willis, 2017). Ces plantes sont aussi appelées matières premières végétales ou drogues végétales, utilisées à des fins médicinales, aromatiques, alimentaires, ou dans les produits cosmétiques et de santé, notamment pour la fabrication d'huiles essentielles, d'extraits végétaux ou d'oléorésines (Anton *et al.*, 2005).

II.3. Généralités sur les huiles essentielles

II.3.1. Définition de l'huile essentielle

Les huiles essentielles sont des mélanges complexes de composés organiques volatils produits par le métabolisme secondaire des plantes. Ce sont des liquides odorants, lipophiles, peu solubles dans l'eau mais solubles dans l'alcool et d'autres solvants organiques. Elles sont généralement incolores à jaune pâle, inflammables, et sensibles à l'oxydation et à la lumière, ce qui peut entraîner leur dégradation au contact de l'air (Tisserand et Young, 2014).

II.3.2. Répartition et Localisation

Les huiles essentielles sont présentes dans tout le règne végétal. Elles sont plus concentrées chez certaines familles comme les Rutacées, Lamiacées, Poacées et les agrumes (**Marouf et Tremblin, 2015**).

Elles sont produites dans le cytoplasme des cellules sécrétrices. Elles se stockent dans des structures spécifiques comme les poils glandulaires, les poches ou les canaux, situées à la surface des tissus végétaux. Leur composition dépend de l'organe végétal concerné (racines, écorces, feuilles, fruits, fleurs, tiges) (**Bouras, 2018**).

II.3.3. Composition chimique des huiles essentielles

Chaque huile essentielle comprend plusieurs composés organiques possédant des structures et des fonctions chimiques très différentes. Les deux principales familles chimiques rencontrées sont les composés terpéniques (les molécules les plus répandues) et les composés aromatiques dérivés du phénylpropane (les phénylpropanoïdes). Une huile essentielle peut contenir plusieurs centaines de constituants ou au contraire être fortement dominée par une seule molécule, comme c'est le cas de l'huile essentielle de clou de girofle, très riche en eugénol. Le plus souvent, les huiles essentielles contiennent quelques constituants principaux, représentant des proportions comprises entre 10 et 50 %, et des constituants à l'état de traces. Les huiles essentielles sont donc un cocktail de molécules actives (**Kfoury et Fourmentin, 2024**).

La Figure montre quelques exemples d'huiles essentielles les plus utilisées, leur constituant principal et sa structure chimique.

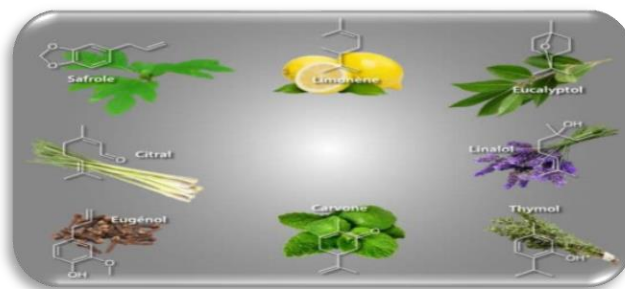


Figure 01. Exemple d'huiles essentielles et de leur constituant majoritaire (**Kfoury et Fourmentin, 2024**)

II.3.4. Méthodes d'extraction des huiles essentielles

Plusieurs techniques sont mises en œuvre pour l'extraction des huiles essentielles (**Figure 2**) (**Herman *et al*, 2019**).

La méthode d'extraction des huiles essentielles est déterminée en fonction de la quantité, de la composition et de l'emplacement des huiles au sein de la plante (**Boukhatem *et al.*, 2019**).

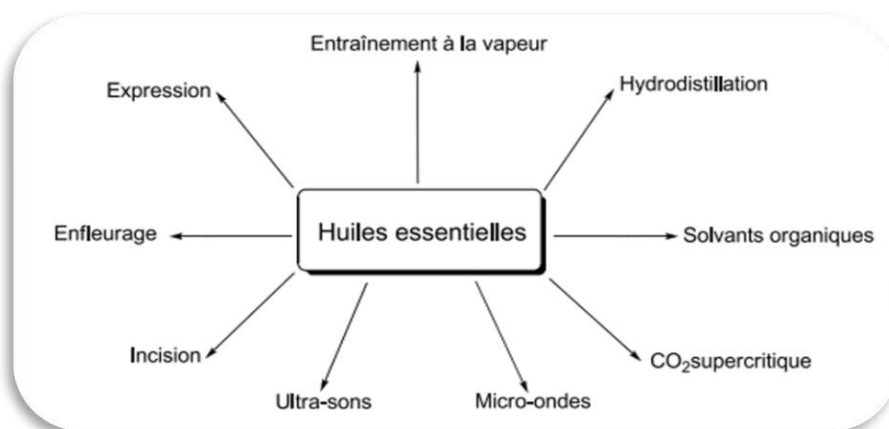


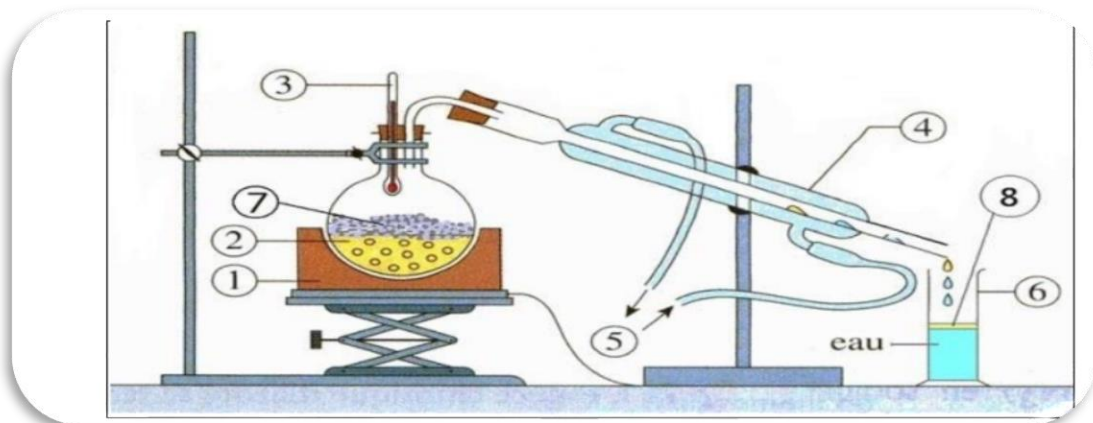
Figure 02. Les méthodes d'extraction des huiles essentielles (**Ouis, 2015**).

❖ Hydrodistillation

La technique d'extraction par hydrodistillation est la plus répandue et populaire pour l'obtention des huiles essentielles, car elle s'adapte à la majorité des végétaux (**Figure 03**) (**Bourahla *et al.*, 2020**).

La substance végétale à purifier sera combinée avec de l'eau et le tout sera exposé à une chaleur intense jusqu'à parvenir à ébullition (**Boukhatem *et al.*, 2019**).

L'explosion des cellules qui contiennent les molécules aromatiques due à la chaleur, entraîne leur libération. Un mélange est créé par les molécules aromatiques libérées et la vapeur d'eau. Ainsi, dans une pièce pour se rafraîchir, ils se dissocient mutuellement en raison de la différence de densité. Ensuite, l'huile est extraite par décantation (**Bourahla *et al.*, 2020**).



1- Chauffe ballon ; 2- Ballon ; 3- Thermomètre ; 4- Réfrigérant ; 5- Entrée et sortie d'eau ; 6- Erlenmeyer ; 7- Matière à extraire l'essence ; 8- Couche d'huile essentielle.

Figure 03. Schéma du principe de la technique d'hydrodistillation (Abdelli, 2018)

II.3.5. Activité antimicrobienne et mécanisme d'action des huiles essentielles

Les bactéries sont des organismes unicellulaires procaryotes, largement répandus dans divers milieux. Invisibles à l'œil nu, elles présentent des formes variées : coques, bacilles ou spirales (**Dellarase, 2014**). Les huiles essentielles sont reconnues pour leur large activité antibactérienne, agissant sur les bactéries Gram positif et négatif, y compris les souches résistantes aux antibiotiques (**Toure, 2015**).

Leur mode d'action, encore mal élucidé en raison de la complexité de leur composition, implique plusieurs mécanismes cellulaires :

- Altération de la paroi cellulaire (précipitation des protéines et acides nucléiques).
- Inhibition de la synthèse des macromolécules (modification des protéines membranaires).
- Dégradation de la membrane cytoplasmique (perte de perméabilité sélective).
- Fuite du contenu cellulaire (liée au caractère hydrophobe des composés).
- Coagulation du cytoplasme.
- Diminution de la force proton-motrice.
- Altération de la morphologie bactérienne (inhibition des fonctions vitales) (**Goetz et Ghedira, 2012 ; Gaborieau, 2014**)

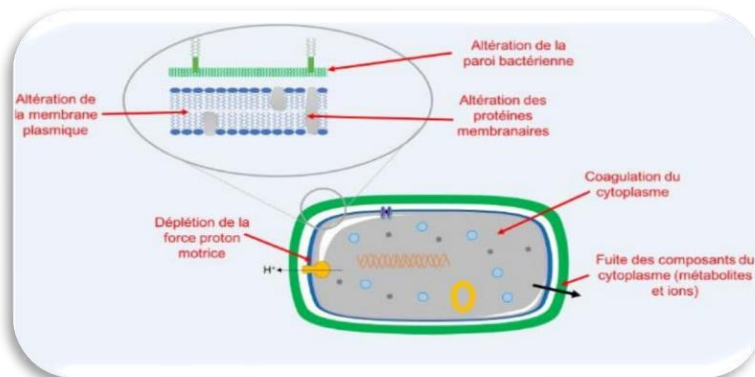


Figure 04. Mécanisme d'action des huiles essentielles au niveau microbien (**Boumhamdi et al., 2018**).

II.3.6. Méthodes d'évaluation de l'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne des huiles essentielles est évaluée par différentes méthodes, adaptées à leur faible solubilité et volatilité. Les plus utilisées sont la diffusion sur disque, la dilution en agar et en bouillon (**Burt, 2004**), car elles sont simples et peu coûteuses, malgré certaines limites (**Wilkinson, 2006**).

a. Méthode de diffusion dans l'agar ou aromatoگرامme

L'aromatoگرامme évalue *in vitro* l'effet antibactérien des huiles essentielles en remplaçant les antibiotiques par des composés aromatiques (**Belaiche, 1979**). La méthode repose sur la diffusion d'huiles via des disques sur géloseensemencée. Après incubation, le diamètre des zones d'inhibition indique l'activité antibactérienne, mesurée en mm ou par un code en croix (**Guerin et Carret, 1999**).

b. Méthode de diffusion en puits

La méthode de Cooper et Woodman (1946), reprise par Shroeder et Messing (1949), consiste à verser une solution d'huile essentielle dans un puits creusé dans une géloseensemencée. L'huile diffuse radialement, formant une zone d'inhibition circulaire claire, facile à mesurer, indiquant son activité antibactérienne (**Eymard, 2003**).

c. Méthode de dilution

La méthode de dilution consiste à mélanger l'huile essentielle à une concentration connue dans un milieu de culture, solide ou liquide, avec un émulsifiant pour assurer une dispersion homogène. Le milieu est ensuiteensemencé avec une quantité précise de microorganismes. Après incubation, la croissance est évaluée visuellement ou par spectrophotométrie, en fonction de la turbidité du milieu, indiquant le degré d'inhibition **(Robert-Demuet, 1995)**.

II.3.7.Méthodes de détermination de la concentration minimale inhibitrice

Parmi les techniques de détermination de la CMI on cite La méthode de dilution en milieu liquide qui peut se décliner en 2 techniques distinctes : soit en tube, appelée « macro méthode en milieu liquide » ; soit en plaque à 96 puits (fond en « U »), appelée « micro méthode en milieu liquide k. La gamme de concentrations est réalisée par dilution .Après cette dilution, l'inoculum bactérien est ajouté dans les tubes/puits correspondants pour les incuber. La croissance bactérienne, si elle a lieu, se traduit par l'apparition d'un trouble. L'interprétation est la suivante : s'il y a un trouble, cela signifie que l'antibiotique, aux concentrations testées, n'a pas d'activité antibactérienne ; à l'inverse, s'il y a absence de ce trouble, cela signifie que l'ATB à la concentration correspondante possède une activité antibactérienne **(Stéphane et al., 2015) ; (KaranSyal et al., 2017) .**

II.3.8. Domaines d'utilisation des huiles essentielles

a. En médecine

L'aromathérapie utilise les huiles essentielles pour leurs effets thérapeutiques. Elles sont intégrées dans plusieurs domaines médicaux et paramédicaux comme la kinésithérapie, l'ostéopathie, la rhumatologie et l'esthétique **(Ouis, 2015)**.

b. En cosmétologie

Les huiles essentielles sont utilisées en cosmétique pour leurs propriétés parfumantes et conservatrices. Malgré leur coût élevé, elles restent présentes dans de nombreux produits, à la frontière entre hygiène et usage pharmaceutique **(Bekhechi, 2010)**.

c. Dans les industries agroalimentaires

Les huiles essentielles, grâce à leurs propriétés antiseptiques et antioxydantes, sont utilisées en cuisine, dans les boissons aromatisées et la confiserie. Elles aident aussi à conserver les aliments en limitant la croissance des moisissures (**Ouis, 2015**).

II.3.9.Place des plantes dans la lutte contre la résistance

Les plantes médicinales représentent une source prometteuse de composés antimicrobiens et d'agents capables de bloquer les mécanismes de résistance. Certains agissent directement en altérant les membranes, inhibant les protéines ou empêchant l'adhésion microbienne. D'autres renforcent l'efficacité des antibiotiques en bloquant les pompes à efflux, les PBP 2a (Penicillin-Binding Proteins) ou les bêtalactamases, grâce à des molécules comme les flavonoïdes, terpénoïdes ou alkyls gallates (**Toure, 2015**).

II.3.10. Les voies d'administration des huiles essentielles

Connaître les voies et modes d'administration des HEs, ainsi que les posologies recommandées est essentiel pour un usage approprié en toute sécurité (**Couic-Marinier, 2018**).

a. Voie orale

Les huiles essentielles ne doivent jamais être prises pures par voie orale sans avis médical. Elles peuvent provoquer des brûlures digestives, surtout celles contenant du phénol. Elles doivent être diluées dans une huile végétale, du miel, un sirop, un sucre, un comprimé neutre ou du pain. On peut aussi en mettre une goutte sur du dentifrice. Des capsules prêtes à l'emploi existent, déjà dosées et mélangées à des huiles végétales (**Couic-Marinier, 2018**).

b. Voie cutanée

La voie cutanée est la plus sûre et la mieux tolérée. Elle permet une intervention rapide en cas de réaction. Les huiles essentielles doivent être diluées dans une huile végétale pour éviter les irritations. Chez l'adulte sain, la dose varie de 1 à 6 gouttes, jusqu'à trois fois par jour, selon la zone à traiter. Chez l'enfant, la dose est réduite. La durée du

traitement dépend de la pathologie, mais peut se prolonger si les pauses thérapeutiques sont respectées (**Touboul, 2021**).

c. Diffusion

Certaines huiles essentielles conviennent à la diffusion atmosphérique, notamment les HE désinfectantes ORL (comme le Ravintsara, Niaouli, Eucalyptus radié), les HE assainissantes (Citron, Géranium, Lemon grass) et celles favorisant la détente (Lavande vraie, Orange douce, Ylang-ylang). D'autres sont contre-indiquées en diffusion, surtout celles riches en phénols, comme l'Ajowan, Origan compact, Thym à thymol, Girofle ou Sarriette (**Couic-Marinier, 2018**).

d. voie rectale

Les huiles essentielles peuvent également être utilisées par voie rectale sous forme de suppositoires. Cette méthode nécessite toutefois une grande prudence, car une mauvaise utilisation ou un surdosage peut entraîner des irritations de la muqueuse. Il est donc essentiel de suivre les posologies avec rigueur (**Couic-Marinier, 2018**).

e. Bain

L'utilisation des huiles essentielles dans le bain est rare mais appréciée pour ses effets relaxants. Elles ne se mélangent pas à l'eau et doivent être diluées dans une base neutre, un gel douche ou un shampoing (10 gouttes pour un adulte). Versées pures, elles peuvent provoquer des irritations ou des brûlures (**Touboul, 2021**).

II.4. Présentations des plantes étudiées

II.4.1. *Tetraclinis articulata*

Le *Thuya de Berbérie* (*Tetraclinis articulata*) est une espèce unique dans le bassin méditerranéen, caractérisée par ses feuilles squamiformes aromatiques et ses petits cônes ligneux. Cet arbre à feuillage persistant pousse dans les zones montagneuses arides et peut atteindre 15 mètres de haut, avec un tronc droit et une écorce brun-rougeâtre fissurée. Il joue un rôle écologique important dans la prévention de l'érosion des sols et est traditionnellement utilisé en médecine populaire pour ses propriétés thérapeutiques (**Zerkani et al., 2019**).



Figure 05. les différents organes du *Tétracelinis Articulata* (Hadjadj *et al.*, 2017)

II.4.1.1. Systématique de *Tetrclinis articulata*

D'après Quézel et Santa (1962), Le *thuya* fait partie de :

- ❖ Embranchement : Spermaphytes
- ❖ Sous-Embranchement : Gymnospermes Classe : Conifères
- ❖ Ordre : Coniférales
- ❖ Famille : *Cupressacées*
- ❖ Genre : *Tetrclinis*
- ❖ Espèce : *Tetrclinis articulata*

II.4.1.2. Domaine d'utilisation de *Tetrclinis articulata*

Tetrclinis articulata joue un rôle essentiel dans l'activité artisanale économique, et médicinale.

- **Economique**

Cet arbre a une importance socio-économique significative dans le domaine de l'artisanat, grâce à son bois précieux utilisé en ébénisterie et à son écorce abondante en résine dont les dérivés sont utilisés pour la fabrication de certains vernis (Montassir *et al.*, 2017).

- **Médicinales**

Par ailleurs, cette essence forestière est très utilisée en médecine traditionnelle en raison de ses multiples effets thérapeutiques. En effet, différentes parties du *thuya* sont

préconisées dans le traitement des infections intestinales, des douleurs gastriques, des maladies respiratoires, du diabète, de l'hypertension et de la fièvre (**Zahir *et al.*, 2020**).

- **Artisanale**

Le bois du thuya est un bois résineux parfait, rouge, très lourd, dégageant une odeur vive. Il fournit un excellent bois d'ébénisterie et de menuiserie fine, un bois dur et supportant assez bien l'écrasement, il est encore utilisé comme bois de chauffage (**Hadjadj *et al.*, 2017**).

II.4.1.3. Composition chimique de *Tetraclinis articulata*

Composition chimique de certaines essences de *T. Articulata* est présente dans les tableaux suivant :

Tableau 01. Composition chimique de certaines essences de *T. Articulata*

Références	Pays	Partie utilisée	Composés majoritaires
(Benali <i>et al.</i> , 2011)	La région de Frenda, Tlemcen (Algérie)	Feuilles	Bornyle acétate (24,59%) Camphre (23,41%) α -pinène (11,34%)
(Bourkhiss <i>et al.</i> , 2007)	La région de Khemisset (Maroc)	Rameaux sèches	L' α -pinène (30,22%) Le limonène (22,29%)
(Ben Jemia <i>et al.</i> , 2012)	Parc national de Boukornine (Tunisie)	Feuilles séchées	L'acétate de bornyle (31,4%) L' α -pinène (24,5%) Le camphre (20,3%)
(Buhagiar <i>et al.</i> , 2000)	Île de Malte	Cônes et graines	L' α -pinène (68,2%) Le limonène (16,6%-25,3%)

II.4.2. *Lavandula dentata*

Les lavandes sont des plantes annuelles ou le plus souvent des arbrisseaux ligneux, touffus, et vivaces, hauts de 40 à 80 cm, à feuilles persistantes opposées, qui peuvent être entières ou dentées. Ce sont des plantes aromatiques et médicinales appartenant à la famille des Lamiacées ou labiées, à la sous-famille des Nepetoideae, au genre *Lavandula*, espèce *lavandula dentata* (Bessenouci *et al.*, 2018). Elle est caractérisée par des tiges quadrangulaires (Dris, 2019), les fleurs bleu violet ou à fleurs blanches et roses (Souihi *et al.*, 2017). *Lavandula* est composé d'environ 39 espèces, de nombreux hybrides, et près de 400 cultivars enregistrés (Bachiri *et al.*, 2016).



Figure 06. morphologie de *lavandula dentata*
(Adagaba *et al.*, 2015)



Figure 07. *Lavandula dentata*

II.4.2.1. Systématique de *lavandula dentata*

- Règne : Plantes
- Sous règne : Viridaeplantae
- Embranchement : Spermaphytes
- Sous embranchement : Angiospermes
- Classe :Dicotylédones
- Sous classe : Magnoliidae
- Ordre : *Lamiales*
- Famille : *Lamiacées*
- Genre : *Lavandula*
- Espèce : *Lavandula dentata* (Dris,2019).

II.4.2.2. Utilisation traditionnelle

L'importance médicinale de *Lavandula dentata* est bien documentée ; en fait, Les pharmacopées comprennent les médicaments préparés à partir d'eux, principalement sous forme d'infusions (**Algieri et al., 2016**). Elle est utilisée dans l'industrie de la lessive et de la savonnerie, ainsi qu'en parfumerie, est également employée en herboristerie, en aromathérapie et est considérée comme une plante médicinale pour l'action de son huile. Des études pharmacologiques récentes se rapportant à *Lavandula dentata* ont révélé un large spectre d'activités biologiques principalement les propriétés sédatives, antibactériennes, antifongiques, antidépressives, antioxydantes, anti-carcinogènes, insecticides, désinfectants des plaies et comme expectorant (**Bachiri et al., 2016 ; Bettaieb Rebey et al., 2017**).

Elle est aussi, fréquemment utilisée en médecine traditionnelle pour le traitement des troubles digestifs, tels que les affections inflammatoires hépatiques et intestinales, mais aussi pour d'autres troubles inflammatoires tels que l'arthrite (**Algieri et al., 2016**).

II.4.2.3. Composition chimique de *Lavandula dentata*

- **Flavonoïdes** :Lutéoline 7-glucoside ; Apigénine 7-glucoside ; Lutéoline 7-rutinoside ; Vitexine ; Vicénine-2 (**Tungmunthum et al., 2018 ; Martins et al., 2018**)
- **Terpénoïdes et huiles essentielles** : 1,8-cinéole (composant principal - 41,28%) ; Sabinène ; α -pinène ; Hexan-3-ol ; 4-méthylène-1-(1-méthyléthyl) ; Myrténal (**Bajalan et al., 2016 ; Dobros et al., 2022**)
- **Acides phénoliques et autres composés** : Acide rosmarinique (Rosmarinic acid) ; Autres acides phénoliques non spécifiés (**Algieri et al., 2016**)

MATERIELES ET METHODES

1. Lieu d'étude

Ce travail a été effectué au sein du Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire, au Biomédical et à l'Environnement (LAMAABE) de l'université Aboubekr Belkaïd de Tlemcen, Durant la période du février à l'avril 2025.

2. Matériel

2.1. Matériel de laboratoire

L'ensemble du matériel et des produits nécessaires à la réalisation de ce travail sont résumés dans le tableau 02 :

Tableau 02. Liste des matériels et produits utilisés pour ce travail

Appareillage, verrerie et autres	Produits et réactifs	Milieux de culture
- Agitateur magnétique - Autoclave - Bain marie - Vortex - Balance de précision - Etuve - Four Pasteur - Microscope photonique - Ballons, béchers, entonnoirs - Boîtes de Pétri, lames, tubes à essai - Pipettes pasteur et micropipettes - Ecouvillons stériles, pince	- Tween 80 - Peroxyde d'hydrogène - Chlorure de sodium - Fuschine - Violet de gentiane - Lugol - VP1 et VP2 - Zym A et Zym B - Réactif de Kovacs - Disques d'oxydase _eau physiologique	- Gélose nutritive - Gélose Mac Conkey - Milieu de Chapman - Bouillon Mueller-Hinton - Gélose Mueller-Hinton -BHIB - Gélose au Cétrimide

2.2. Matériel végétal

Les plantes médicinales étudiées dans ce travail ont été récoltées à partir de différentes régions de Tlemcen, en pleine inflorescence entre Janvier 2025 et Mars 2025 (Tableau 02). Le matériel végétal fraîchement récolté a été débarrassé des mauvaises herbes, séché à l'ombre dans un endroit aéré, sec et à l'abri de la lumière et de toute pollution.

Tableau 03. Les espèces végétales étudiées.

Espèce	Nom commun	Lieu de récolte	Date de récolte	Utilisations Traditionnel	Partie utilisees
<i>Tetraclinis articulata</i>	العرعار	Hounain	Février 2025	Contre les infections cutanées et urinaires	Tiges, feuilles et fleurs
<i>Lavandula dentata</i>	الخزامى	Djbala	Avril 2025	contre d'infections respiratoires et hospitalières	Tiges, feuilles et fleurs

2.3. Matériel biologique

2.3.1. Souches bactériennes étudiées

Dix souches ont été sélectionnées pour ce travail : Quatre souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) et Six souches cliniques d'origine hospitalière

2.3.1.1. Souches de référence

Les souches de référence ATCC (American Type Culture Collection) ont été obtenues à partir de laboratoire LAMAABE, université de Tlemcen. Les souches de références utilisées dans le cadre des expérimentations, sont présentées dans le tableau 03

Tableau 04. Les souches bactériennes utilisées pour les tests

Souches de référence	Gram	Forme
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Negatif	Bacille
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC70603	Negatif	Bacille
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Negatif	Bacille
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positif	Cocci

2.3.1. 2.Souches d'origine hospitalière

Au total, Six souches bactériennes d'origine hospitalière ont été isolées à partir dispositif médicaux (des sondes urinaires) collectes à partir des patients hospitalisés dans les services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen.

3. Méthodes

3.1 Extraction des huiles essentielles (Hydrodistillation)

L'extraction des huiles essentielles a été réalisée par hydrodistillation, selon la méthode décrite par la **Pharmacopée Européenne (2005)**, à l'aide d'un appareil de type Clevenger (photo 01). Le procédé consiste à placer du matériel végétal séché et finement découpé 122 g de *Tetraclinis articulata* et 130 g de *Lavandula dentata* — dans un ballon en verre de 2000 mL contenant de l'eau. Ce ballon est ensuite chauffé à l'aide d'une plaque chauffante ou d'une chauffe-ballon, jusqu'à ébullition. Le ballon est raccordé à une colonne qui relie à un réfrigérant, ce qui permet la condensation des vapeurs d'eau chargée de gouttelettes d'HE. L'huile est recueillie dans une burette graduée ou le volume est lu directement. L'extraction a été effectuée pendant trois heures sur les parties

aériennes des plantes aromatiques. Les huiles obtenues ont été conservées à 4 °C dans un flacon en verre stérile et bien fermé à l'abri de l'air et de la lumière.

3.2. Détermination du rendement

Le rendement en huile essentielle correspond au rapport entre la masse d'huile essentielle obtenue et la masse du matériel végétal utilisée. Ce rapport permet d'estimer la production en huile essentielle des plantes. (Costa *et al.*, 2014).

$$\text{Rdh (\%)} = (\text{Ph} / \text{Pv}) \times 100$$

Rdh : Rendement d'huile en pourcentage (%)

Pv : Poids de la matière végétale sèche, en grammes

Ph : Poids de l'huile récupérée, en grammes

3.3. Préparation de la suspension bactérienne

3.3.1. Souche de référence

a. Revivification des souches : La revivification des souches a été réalisée en conditions aseptiques, à proximité d'un bec Bunsen. À l'aide d'une anse de platine, les souches conservées ont étéensemencées dans des tubes contenant 5 mL de bouillon nutritif, puis incubées à 37 °C pendant 24 heures."

b. Repiquage : Afin d'assurer la pureté des souches, des repiquages successifs ont été réalisés, par la technique d'épuisement, sur la surface d'une gélose Mac Conkey pour le gram négatif et sur la surface d'une gélose Chapman pour gram positif dans des boîtes de pétri, l'incubation a été faite à 37°C pendant 24h.

c. Conservation : Les cultures bactériennes jeunes ont étéensemencées à l'aide d'une anse de platine stérile, sur gélose inclinée dans des tubes. Après incubation de 24h à 37°C les tubes ont été conservés au réfrigérateur à 4°C.

3.3.2. Souche d'origine hospitalière

a. Prélèvements

Durant deux semaines du mois de mars, 16 dispositifs médicaux (sondes urinaires) ont été collectes à partir des patients hospitalisés aux services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen. Les échantillons ont été soigneusement prélevés dans des conditions d'asepsie, placées individuellement dans des tubes en verre stériles puis transportés immédiatement au laboratoire pour être analysé. Aux quels 5 mL de BHIB stérile est ajoute. Les tubes sont agités au vortex pendant 1 minute selon Brun –Buisson et al. (1987). Les tubes sont ensuite mis à incuber pendant 24 à 37 °C.

b. Isolement et purification

À partir des échantillons présentant un trouble, on a pris une goutte qui a été ensemencé dans des milieux spécifiques pour rechercher la présence de bactéries à Gram positif et Gram négatif.

Les boîtes de Pétri contenant Mac Conkey, sont destinées à l'isolement des GRAM négatif, grâce à l'action de deux inhibiteurs, cristal violet pour l'inhibition de la flore gram (+) et les sels biliaries pour la sélection des entérobactéries.

Les boîte de pétri contenant de cétrimide sont destinées à l'isolement des *Pseudomonas aeruginosa*, grâce à l'action sel d'ammonium quaternaire (détergent cationique) qui inhibe la majorité des bactéries Gram-positives et de nombreux Gram-négatifs en perturbant leurs membranes cellulaires, *Pseudomonas aeruginosa* colore ce milieu en bleu-vert par production de pyocyanine.

Les boîtes de Pétri contenant de Chapman, sont destinées à l'isolement des GRAM positif en particulier les *Staphylocoques*, grâce à la forte concentration en chlorure de sodium, qui inhibe la croissance des bactéries à Gram négatif, et au mannitol qui permet de différencier les espèces fermentant ce sucre.

Les boîtes sont ensemencées par striation, puis incubées à 37 °C pendant 24 à 48 heures. Ensuite Les colonies ont été repiquées plusieurs fois sur les mêmes milieux pour obtenir des cultures pures.

Chaque souche pure est ensemencée sur gélose inclinée en tube puis incubée à 37°C pendant 24 à 48 heures.

c. Caractérisation phénotypique

✓ l'étude des caractères macroscopiques :

Les caractères culturels des colonies (taille, forme, pigmentation, opacité, élévation et consistance des colonies) ont été déterminés après 24 heures d'incubation à 37°C sur Gélose Mac Conkey, Gélose Chapman et cétrimide.

✓ l'étude des caractères microscopiques :

Les caractères microscopiques des bactéries ont été déterminés après 24 heures d'incubation à 37°C sur Gélose Mac Conkey, Gélose Chapman et gélose cétremide :

- La mobilité a été vérifiée par un examen à l'état frais des bactéries vivantes entre lame et lamelle à l'aide d'un microscope optique à objectif 40.
- La morphologie, le mode de regroupement et le type de paroi ont été déterminés après coloration de Gram. Les observations sont effectuées à l'aide d'un microscope photonique à objectif 100 à immersion.

d. Caractères biochimiques :

La caractérisation biochimique des bactéries a été réalisée par l'utilisation du système API 20E et API staph (Biomérieux®, France), et d'autres tests de la microbiologie classique.

• d. 1. Recherche de l'oxydase :

Ce test permet de déterminer si la bactérie possède le système enzymatique cytochrome C oxydase, elle consiste à déposer un disque d'oxydase sur une lame propre puis imbibé avec une goutte d'eau. Une colonie bactérienne prélevée à l'aide de la pipette pasteur est ensuite déposée sur la surface du disque. La présence d'une cytochrome-oxydase se traduit par l'apparition immédiate d'une couleur violette foncée (**KONEMAN et al., 1997**).

- **d. 2. Recherche de de la catalase :**

ce test permet de détecter la présence de l'enzyme catalase, produite par certaines bactéries. Cette enzyme dégrade le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et oxygène (O_2), elle consiste à prélever une colonie du germe à étudier sur l'extrémité d'une pipette Pasteur fermée que l'on plonge ensuite dans un millilitre d'eau oxygénée. Le dégagement de bulles gazeuses signe la présence de l'enzyme **(Reiner, 2010)**.

- **d. 3. Recherche de de la coagulase :**

Ce test permet de mettre en évidence le pouvoir des *Staphylococcus sp* à produire une enzyme appelée coagulase, dont la mise en évidence suffit à affirmer la présence de *Staphylococcus aureus*. Le test de détection consiste à incuber une colonie isolée à partir du milieu Chapman dans 5 ml de bouillon Brain Heart Infusion (BHIB) à 37 °C pendant 24 heures. Ensuite, 0,5 ml de cette culture est mélangé avec 0,5 ml de plasma citraté de lapin dans un tube stérile, puis incubé à 37 °C. La lecture est faite après 4 heures, puis à nouveau après 18 heures. L'apparition d'un caillot indique un résultat positif, caractérisant ainsi une souche de *S. aureus*. Le test de coagulation du plasma est considéré comme le test principal permettant d'identifier cette espèce **(Collee et al., 2016)**.

- **d.4. La galerie API :**

Les galeries API Staph et API 20 E sont des systèmes standardisés pour l'identification du genre *Staphylococcus* et des Enterobacteriaceae, respectivement. Elles comprennent des tests biochimiques miniaturisés et se présentent sous forme de 20 microtubes contenant des substrats déshydratés. Une suspension bactérienne préparée et standardisée à l'échelle 0.5 McFarland est inoculée dans la galerie en remplissant les microtubes uniquement, les microtubes et les cupules pour les tests encadrés et en ajoutant l'huile de paraffine dans les cupules pour les tests soulignés. L'incubation a été réalisée à 37°C pendant 24 heures. les réactions se traduisent par des virages colorés spontanés. L'interprétation des résultats se réfère au catalogue joint avec la plaque **(voir annexe)**.

3.4 .Étude du profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques CA-SFM (2024).

Un antibiogramme a été réalisé pour chaque souche isolée par la méthode de diffusion à partir de disque charges sur gélose de Muller Hinton selon la recommandation du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie **CA-SFM (2024)**.les gélose ont été ensemencées à l'aide d'un écouvillon à partir d'une suspension bactérienne a 0,5 Mac Farland (une densité optique égale 620 nm).des disque d'antibiotique ont été déposé sur la surface des géloses. Après 24 heures d'incubation à 37°C, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés puis on classe la bactérie dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire, ou Résistance.

❖ Choix des antibiotiques :

Les antibiotiques testés pour chaque bactérie sont listés aux tableaux 5, 6, 7

- ***Staphylococcus aureus*** : Les antibiotiques testés sont résume dans le tableau 5

Tableau 05. Antibiotique testé sur *Staphylococcus aureus*

Familles	ATB	Abréviation	Charge de disque
Lactamines	Pénicilline G	P	10
	Oxacilline	OX	5
	Cefoxitin	FOX	30
Aminopénicillines	Amoxicillin	AML	25
Glycopeptides	Vancomycine	VA	5
Quinolone	Ciprofloxacine	CIP	5
Carbapénème	Imipénème	IPM	10

- ***Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*** : Les antibiotiques testés sont listés dans le tableau 6

Tableau 06. Antibiotique testé sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*.

Familles	ATB	Abréviation	Charge de disque
Lactamines	Cefoxitin	FOX	30
Aminopénicillines	Amoxicillin	AML	25
Quinolone	Ciprofloxacine	CIP	5
Céphalosporines	Ceftazidime	CAZ	30
	Cefotaxime	CTX	30
Aminosides	Gentamicine	GEN	10

- ***Pseudomonas. Aeruginosa***: Les antibiotiques testés sont résumés dans le tableau 7

Tableau 07. Antibiotique testé sur *Pseudomonas. Aeruginosa*.

Famille	ATB	Abréviation	Charge de disque
Imipénème	IPM	Carbapénème	10
Ciprofloxacine	CIP	Quinolone	5
Aminosides	Gentamicine	GEN	10

3.4. Technique en milieux solide : la méthode de Vincent (aromatogramme)

L'aromatogramme, méthode inspirée de l'antibiogramme, permet d'évaluer l'effet inhibiteur des huiles essentielles sur la croissance bactérienne en mesurant le diamètre d'inhibition autour de disques de cellulose imprégnés. Le protocole, basé sur la méthode de **(Hayes et Markovic.,2002)**, consiste à ensemercer des boîtes de gélose Müller-Hinton (MH) avec un inoculum standardisé à 10^8 UFC/ml à l'aide d'un écouvillon, afin d'obtenir une répartition homogène. Des disques de papier filtre de 6 mm, imprégnés de 5 µl d'huile essentielle, sont ensuite déposés sur la surface de la gélose. Les boîtes sont incubées à 37 °C pendant 24 heures. L'activité antibactérienne est déterminée par la mesure du diamètre (Ø)

de la zone d'inhibition en millimètres, selon une échelle d'interprétation définie (Djenane *et al.*, 2011):

Non sensible : ($\emptyset < 8$ mm):-,

sensible : ($9 < \emptyset < 14$ mm):+

Très sensible : ($15 < \emptyset < 19$ mm):++

extrêmement sensible : $\emptyset > 20$ mm+++

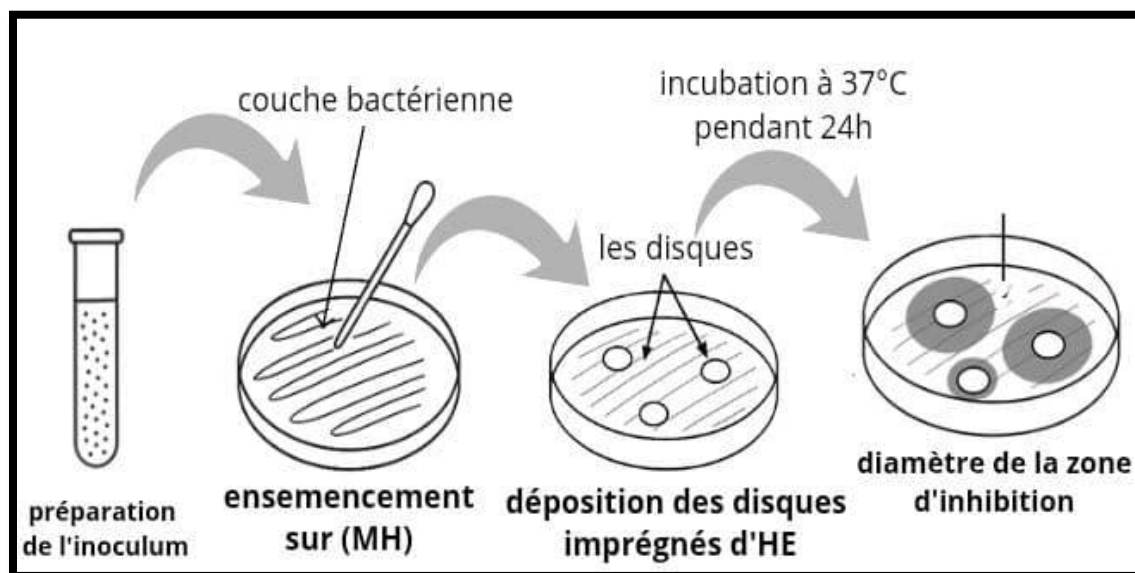


Figure 08. Méthode d'aromatogramme.

3.5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI » d'ANB

- **Principe**

La méthode de microdilution en milieu liquide est utilisée déterminer la sensibilité bactérienne aux agents antimicrobiens. Elle est considérée comme la méthode de choix pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des antibiotiques. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact des concentrations croissantes d'antibiotiques.

- **Technique**

Une microplaque de 96 puits est utilisée ;

- Une solution de l'antibiotique de gentamicine avec une concentration de 256 $\mu\text{g/ml}$ est préparée ;

- Dans la première colonne de la microplaque, colonne de témoin, 100µl de bouillon Mueller Hinton est distribué ;
- Dans chaque ligne de la microplaque, est déposé 50µl du bouillon Mueller Hinton ;
- 50 µl de l'antibiotique sont introduites dans le 2 ème puits. Après avoir bien homogénéisé le contenu du 2 ème puits une série de dilution est réalisée où 50µl sont prélevés, puis déposé dans le 3 ème puits, et ainsi de suite jusqu'au 12ème puits où 50 µl restantes sont éliminés. Cela pour obtenir des dilutions en série de progression géométrique de raison $\frac{1}{2}$ allant de 128 µg/ml au 0.25 µg/ml ;
- 50 µl de l'inoculum bactérien de 10^8 UFC/ml (DO de 0,08-0,1) sont ajoutés dans chaque puits sauf la colonne de témoin ;
- Les microplaques sont scellées et incubées à 37°C pendant 18 à 24h.

- **Lecture**

La CMI est la plus faible concentration d'antibiotiques où il n'y a pas de croissance bactérienne visible.

3.6. Détermination de la concentration minimale inhibitrice « CMI »

La méthode de micro-dilution en microplaques à 96 puits a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) des huiles essentielles (**Aouni et al., 2013**). L'inoculum a été préparé à partir d'une suspension standardisée à 10^8 UFC/ml, puis dilué au 1/100 dans le bouillon nutritif (BN) pour obtenir une concentration finale de 10^6 UFC/ml. Chaque huile essentielle a été diluée à partir d'une solution mère de 500 µl (composée de 200 µl d'huile essentielle, 5 µl de tween 80 et 295 µl de BHIB) à l'aide de deux séries de dilutions successives. Un mélange de BHIB et de tween 80 à 1% a été utilisé pour effectuer ces dilutions dans des tubes stériles, permettant d'obtenir des concentrations finales d'HE allant de 40% à 0,08%, tout en maintenant la concentration du tween 80 constante à 1%.

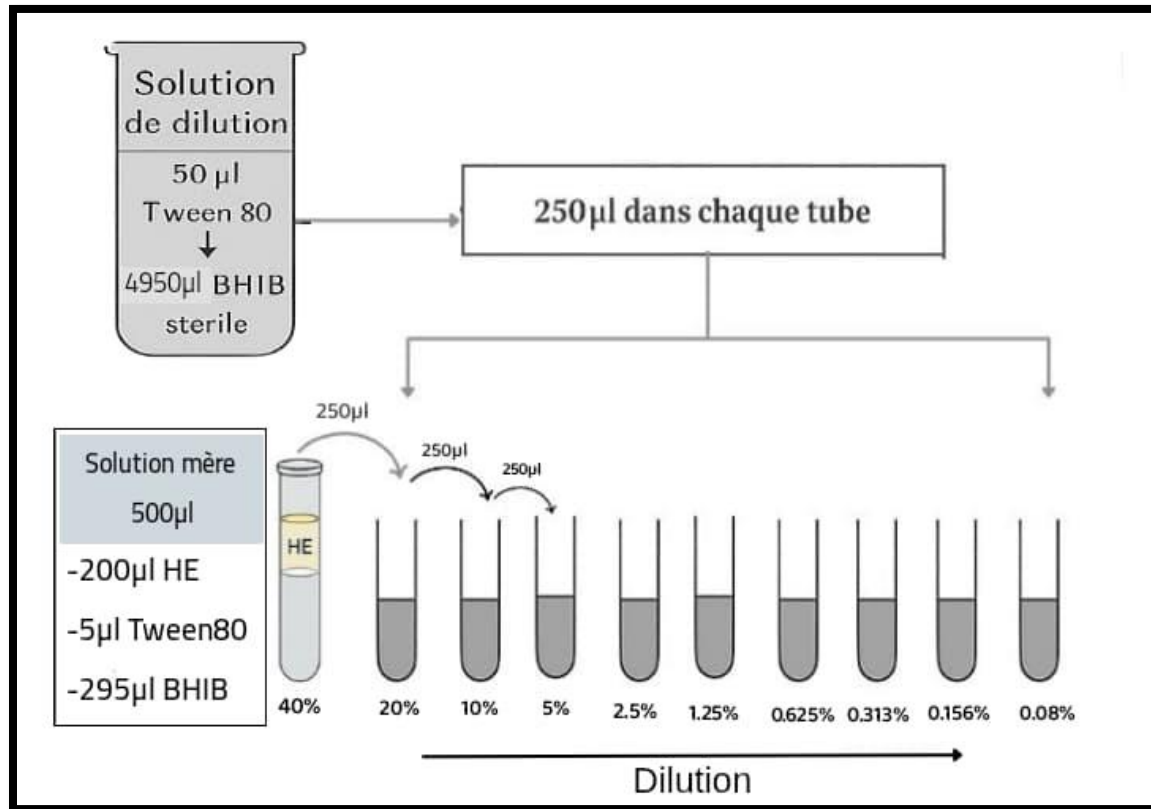


Figure 09. Préparation des dilutions des huiles essentielles.

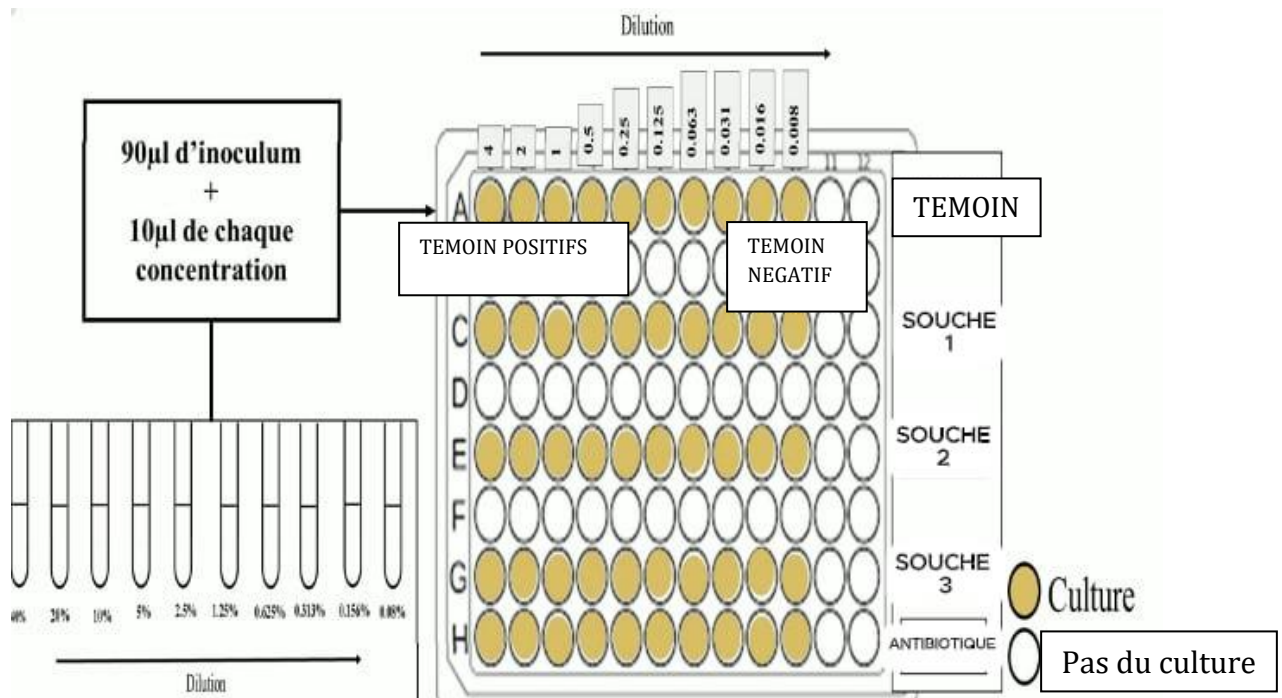


Figure 10. Préparation de micro plaque

Par la suite, on utilise six microplaques (deux pour chaque HE) sur lesquelles sont déposés 90 µl de suspension microbienne à une concentration de 10^6 UFC/ml, accompagnés de 10 µl pour chaque concentration (une rangée de puits dédiée à chaque souche). Par conséquent, les concentrations d'HEs dans la microplaque varient de 4% à 0.008%. Après avoir incubé les microplaques à 37°C pendant 24 heures, la CMI est définie comme la concentration minimale de l'HE à laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu (absence de dépôt) (**Yakhlef *et al.*, 2011**).

3.7. Détermination de CMB en milieu solide

La concentration minimale bactéricide (CMB) fait référence à la concentration minimale d'huile essentielle (HE) qui peut éliminer plus de 99,9% des micro-organismes présents dans l'inoculum initial (**Chebaibi *et al.*, 2016**). Cette technique implique le transfert de la suspension microbienne obtenue à partir des puits démontrant une absence totale de croissance microbienne (microplaque après la lecture du CMI) en utilisant un écouvillon strié sur gélose Müller-Hinton (MH). On procède à l'incubation des boîtes ensemencées à une température de 37°C pendant une durée de 24 heures. La concentration de l'huile essentielle exprimée en pourcentage volumique est déterminée sur la base de la première culture qui ne contient pas de microorganisme (**Chebaibi *et al.*, 2016**) .

RESULTAT ET DISCUSSION

1. Prélèvement et les germes isolés

Sur les 16 prélèvements des dispositifs médicaux (sondes urinaire) collectés à partir des patients hospitalisés aux services de réanimation et de chirurgie du CHU de Tlemcen, 14 prélèvements présentent une croissance bactérienne.

Les espèces les plus fréquemment isolée dans ce travail était : *Staphylococcus aureus*, *E coli*, *klebsella pneumonie*, *Pseudomonas aeruginosa* ce qui correspond aux agents pathogènes classique des infections nosocomiale associé aux dispositifs médicaux (Djamila et Amine, 2018).

Des résultats similaires avec les résultats de Kallel *et al.*, 2015, qui ont trouvé que les agents pathogènes les plus fréquemment isolés étaient *Staphylococcus aureus* (12,5 %), suivi des entérobactéries (9.2%), et de *Pseudomonas aeruginosa* (9,2 %) a porté sur 4 634 patients hospitalisés .

2. Résultats bactériologique des souches hospitalières isolée

L'identification des souches a été basée sur les méthodes microbiologiques standards à savoir l'aspect macroscopique, microscopique, et ainsi que des tests d'identification biochimiques tels que la catalase, l'oxydase, Coagulase, la galerie API20E et la galerie Staph permettant une classification plus précise des souches isolées.

- *Escherichia coli*

Sur le milieu de la gélose Mac Conkey, les colonies d'*Escherichia coli* apparaissent généralement de taille moyenne, lisses, non muqueuses et de couleur rose vif. Elles présentent des bords réguliers et un aspect humide (annexe 01). À l'observation microscopique après coloration de Gram, on note la présence de bacilles droits, colorés en rose, ce qui indique qu'il s'agit de bactéries à Gram négatif (annexe 02). *Escherichia coli* est oxydase négative mais catalase positive (annexe 03). L'identification biochimique réalisée à l'aide de la galerie API20^E a permis de mettre en évidence les principales caractéristiques enzymatiques et métaboliques spécifiques de cette espèce (annexe04).

- ***Klebsiella pneumoniae***

Sur le milieu de la gélose Mac Conkey, les colonies de *Klebsiella pneumoniae* apparaissent généralement grosses, muqueuses, de couleur rose. Elles ont des bords réguliers et un aspect visqueux dû à la production de capsule (**annexe 01**). À l'observation microscopique après coloration de Gram, on note la présence de bacilles droits, colorés en rose, ce qui confirme qu'il s'agit de bactéries à Gram négatif (**annexe 02**). *Klebsiella pneumoniae* est oxydase négative mais montre une activité positive à la catalase (**annexe 03**). L'identification biochimique, réalisée par la galerie API 20E, a permis de mettre en évidence les principales caractéristiques enzymatiques et métaboliques spécifiques de cette espèce (**annexe 04**) .

- ***Pseudomonas aeruginosa***

Sur le milieu de la gélose cétrimide, les colonies de *Pseudomonas aeruginosa* apparaissent généralement des colonies de taille moyenne, bords irréguliers, vert avec un aspect lisse et parfois bombé (**annexe 01**). L'observation au microscope après la coloration de Gram a révélé de petits bacilles colorés en rose, ce qui indique qu'il s'agit de bactéries à Gram négatif. (**annexe 02**) *P. aeruginosa* montre une réaction positive aux tests de l'oxydase et de la catalase (**annexe 03**). L'identification biochimique, réalisée par la galerie API 20E, a permis de mettre en évidence les principales caractéristiques enzymatiques et métaboliques spécifiques de cette espèce (**annexe 04**) .

- ***Staphylococcus aureus***

Sur milieu Chapman, les colonies de *S. aureus* apparaissent de couleur jaune à mannitol positif (**annexe 01**). La coloration de gram met en évidence des cocci sphériques, en grappe de raisin, colorés en violet (**annexe02**). *S. aureus* est oxydase négative, catalase et coagulase positive (**annexe03**). L'identification bactérienne réalisée à l'aide de la galerie Staph a permis de déterminer les principales caractéristiques biochimiques des souches isolées (**annexe04**).

3. Choix des souches bactériennes utilisées

Dans cette étude Nous avons sélectionnés six souches représentative correspond aux espèces les plus fréquentes :

✚ Deux souches *E.coli*

✚ Deux souches *Staphylococcus aureus*

✚ 1 souche *Klebsiella pneumonia*

✚ 1 souche *Pseudomonas aeruginosa*

4. Etude de la résistance des bactéries d'origine hospitalière isolées aux antibiotiques

Les diamètres des zones d'inhibitions nous ont permis de classer les souches testés (*E.coli*, *S.aureus*, *P.aeruginosa*, *K.pneumonia*) suivant leur sensibilité vis-à-vis des antibiotiques :

- *Escherichia coli*

D'après la **figure 11** au-dessous , on remarque que les souches *d'Escherichia coli* isolées dans notre étude ont présenté une résistance aux antibiotiques Cefotaxime (CTX), Ciprofloxacine (CIP), Amoxicilline (AML) et Ceftazidime (CAZ), et une sensibilité au Gentamicine (GEN) et à la Cefoxitine (FOX) avec des zones d'inhibition respectivement 22 et 20 mm (**annexe et figure 12**).Des résultats similaires ont été observés en Tunisie entre 2019 et 2021, où *E. coli* a montré une forte résistance au CTX et à l'AML, mais une sensibilité conservée au GEN et au FOX (**Kilani et al., 2023**).

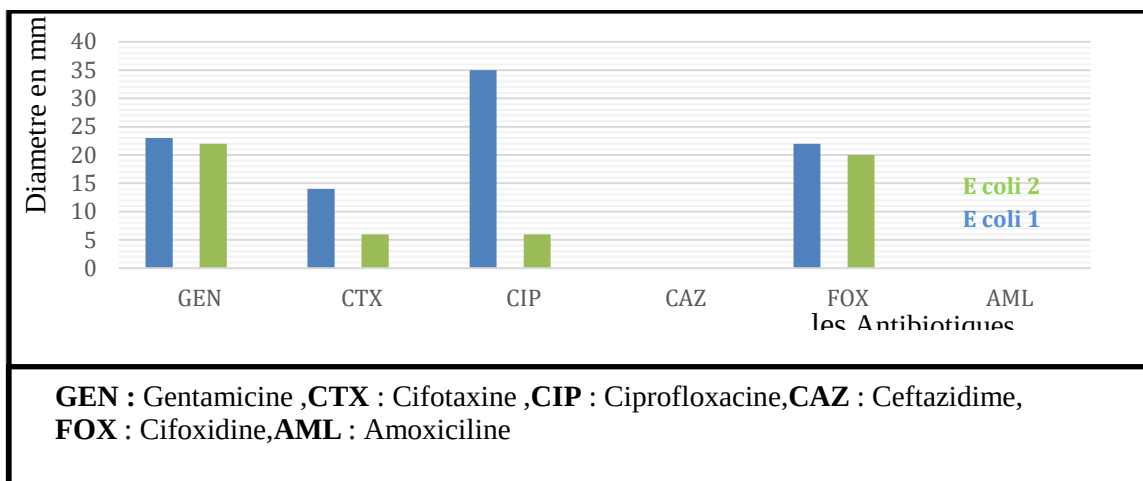


Figure 11. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches d'*E. Coli* d'origine hospitalière

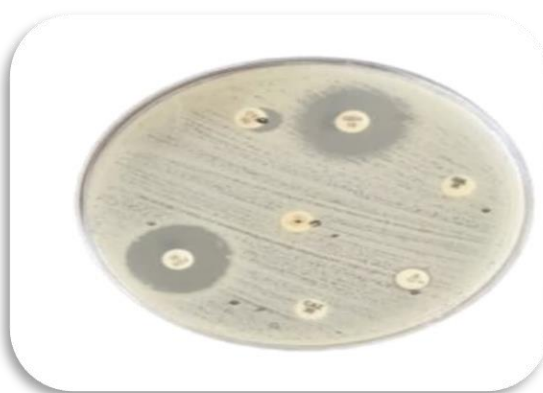


Figure 12. Résultats d'antibiogramme de souche *Escherichia coli* 01

- ***Klebsiella pneumoniae***

D'après la **figure 13** aux dessous on constate que les deux antibiotiques (ciprofloxacine et gentamicine) sont les plus efficaces sur *Klebsiella pneumoniae* avec des zones d'inhibition de 40 et 24 mm, respectivement une résistance complète au céfotaxime (0 mm), et une sensibilité intermédiaire à la ceftazidime, céfoxitine et à l'ampicilline (10 mm pour chacun (**annexe**)).

Ces résultats sont en accord avec les observations de (Li *et al.*,2023) qui démontrent que la résistance aux céphalosporines de troisième génération comme le céfotaxime et une sensibilité à la gentamicine et une sensibilité intermédiaire aux autres antibiotiques suggère des mécanismes de résistance partielle, pouvant impliquer une perméabilité membranaire réduite ou une production limitée d'enzymes inactivatrices(Li *et al.*,2023) .

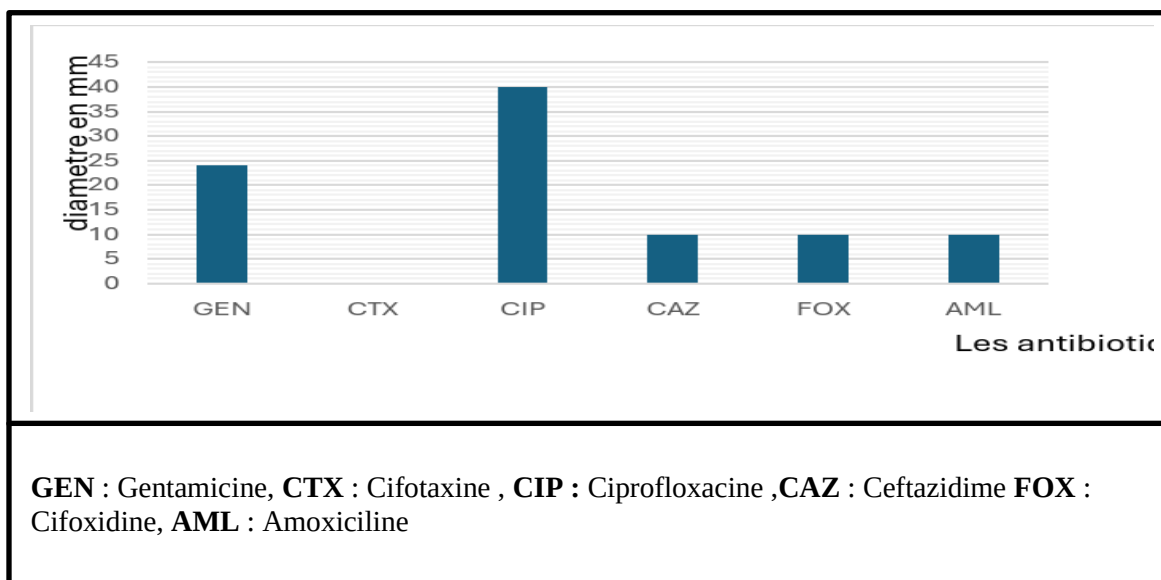


Figure 13. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *k.pneumoniae* d'origine hospitalière

- ***Pseudomonas aeruginosa***

D'après les résultats obtenus ci-dessous on note une sensibilité marquée des souches de *Pseudomonas aeruginosa* testées vis-à-vis de trois antibiotiques majeurs : la gentamicine (GEN), la ciprofloxacine (CIP), et l'imipénème (IPM), comme en témoignent les diamètres d'inhibition importants mesurés respectivement (19 mm, 25 mm et 25 mm) (**figure 14 et annexe**). Certains travaux mentionnent la persistance d'une proportion minoritaire de souches conservant une sensibilité à certains agents antimicrobiens, malgré la prévalence croissante des résistances (**de Oliveira Santos *et al.*, 2019**).

Ces résultats contrastent avec les tendances générales rapportées par l'étude de (**Hameed *et al.*,2023**), qui documentent une augmentation significative des taux de résistance aux antibiotiques chez *P. aeruginosa* au cours de la période 2018-2022.

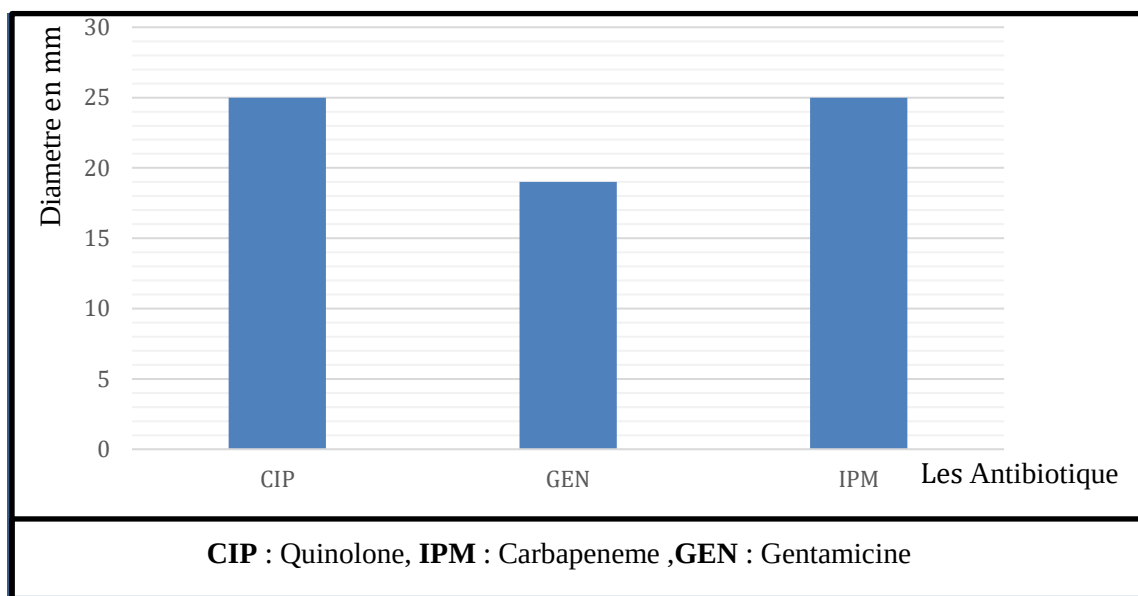


Figure 14. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa* d'origine hospitalière

- ***Staphylococcus aureus***

Les résultats des tests de sensibilité aux antibiotiques illustrés dans **la figure 15** au-dessous, ont montré que les bactéries de *Staphylococcus aureus* était sensible à l'imipénème (IMP), à la ciprofloxacine (CIP), la céfoxitine (FOX), à la gentamicine (GEN), à l'oxacilline (OX), et a la vancomycine (VA), comme le montrent les diamètres d'inhibition importants mesurés respectivement (40 mm, 35 mm, 25 mm, 19 mm, 18 mm et 15 mm) et tout en présentant une résistance à la pénicilline (P) et à l'amoxicilline (AML). **(Voir annexe).**

Ce qui on concordance avec les résultats de **(Getachew et al., 2023)** qui ont également mis en évidence une très forte résistance à l'amoxicilline et à la pénicilline G et une résistance modérée à faible à la ciprofloxacine contre *S. aureus*. En revanche, la sensibilité de notre isolat à la vancomycine ressemble aux résultats de l'étude de **(Khanal et Jha.,2010)** au Népal, où la plupart des isolats y étaient sensibles. Dans certaines études, *Staphylococcus aureus* a montré une tolérance ou une réduction de la sensibilité à des antibiotiques critiques tels que la

gentamicine, la ciprofloxacine, la vancomycine et la daptomycine (Nisha R *et al.*, 2020).

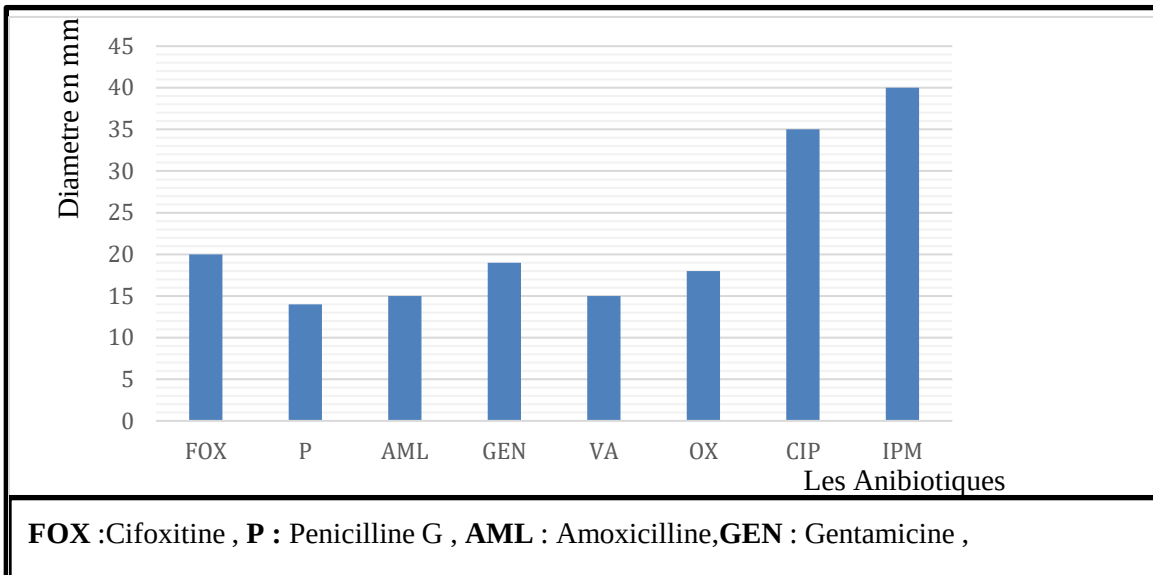


Figure 15. Histogramme des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *Staphylococcus aureus* d'origine hospitalière

5. Déterminations de CMI et des ATB

Les résultats des Concentrations minimales inhibitrices de gentamicine contre les souches d'origine hospitalière sont illustrés dans le **tableau 08**.

Tableau 08. Concentrations minimales inhibitrices ($\mu\text{g/ml}$) de gentamicine contre les bactéries isolée.

Souches bactériennes	CMI
<i>E.coli 1</i>	64
<i>E.coli 2</i>	64
<i>k.pneumoniae 1</i>	64
<i>P. Aeruginosa</i>	32
<i>Staphylococcus Aureus 1</i>	128

D'après le **tableau 08**, on note que la CMI de gentamicine de la souche *Staphylococcus Aureus* est particulièrement important atteignant $128 \mu\text{g/ml}$ et Pour les souches d'*E. Coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*, les CMI se situent dans une fourchette

de 32 à 64 µg /ml. Ces résultats confirment ce qu'ont trouvé plusieurs chercheurs : les bactéries à Gram négatif, comme celles mentionnées, sont généralement moins sensibles à la gentamicine (Yamuna *et al.*, 2020)

✓ Conclusion

Les résultats de cette étude ont révélé une diversité bactérienne significative au niveau des dispositifs médicaux utilisés en milieu hospitalier. Des souches appartenant à des genres pathogènes majeurs tels que *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées, confirmant leur implication fréquente dans les infections associées aux dispositifs médicaux. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont mis en évidence une résistance variable selon les souches, notamment une résistance marquée aux a l'Amoxicilline et céfotaxime chez *E. coli* et *Klebsiella pneumoniae* respectivement, alors qu'une sensibilité a été conservée vis-à-vis de molécules telles que l'imipénème (IPM) et la gentamicine (GEN), notamment chez *P. aeruginosa* et *S. aureus*.

6. Effet des huiles HE des plantes aromatiques utilisées sur les souches bactériennes d'origine hospitalières

6.1. Résultats des extractions

Les rendements en HE des deux plantes retenues et leurs caractères organoleptiques sont résumés dans le tableau 09

Tableau 09. Rendements en HE et caractéristiques organoleptiques.

Plante	Partie utilisée	Aspect	Couleur	Odeur	Saveur	Teneur (%)	Durée d'ex(h
<i>T. articulata</i>	Feuilles , fleurs et tige	Liquide	Jaune clair	Boisée forte.	Aromatique	0.41	3
<i>L. dentata</i>	Feuilles , fleurs et tige	Liquide	Jaune foncé	Fraîche	Aromatique	0.23	3

D'après le tableau ci-dessus, on remarque que les rendements en HEs sont variables selon les espaces. En général, nous avons obtenu de bons rendements en HEs comparés à ceux obtenus par des autres études (tableau 10).

Tableau 10. Rendements en HE rapportés dans la littérature

Espèces	Nos résultats (%)	Autre travaux (%)	Références
<i>Tetraclinis articulata</i>	0.41	0.35_ 0.75	(Benali et al., 2011)
<i>Lavandula dentata</i>	0.23	1.02	(Souihi et al., 2017)

Le rendement en huile essentielle obtenu par hydrodistillation à partir de la matière végétale sèche a été de 0,41 % pour *Tetraclinis articulata* et de 0,23 % pour *Lavandula dentata*. Ces résultats indiquent que *Tetraclinis articulata* produit une quantité plus élevée d'huile essentielle par rapport à *Lavandula dentata* dans les mêmes conditions expérimentales .Ces valeurs restent toutefois légèrement inférieures à celles rapportées dans la littérature. En effet, **Benali Toumi et al.,2011** ont mentionné des rendements variant entre 0,35 % et 0,75 % pour *Tetraclinis articulata*, tandis que **Souihi et al., 2017** ont rapporté un rendement de 1,02 % pour *Lavandula dentata*.

Les différences observées peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs, notamment l'origine géographique des plantes, la période de récolte, l'état de fraîcheur du matériel végétal, Et les paramètres techniques de la distillation (durée, température, pression, etc.).

6.2. Résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne

6.2.1. Méthode des disques (antibiogramme)

L'activité antimicrobienne des HEs étudiées a été évaluée par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans **le Tableau 11** et les figure suivent (**Figure 18,19,20,21,22,23**).

Tableau 11. Résultats des diamètres des zones d'inhibition (en mm).

Souches	Huiles essentielles											
	<i>Tetraclinis articulata</i>						<i>Lavandula dentata</i>					
	5 µl	Int	10 µl	Int	15 µl	Int	5 µl	Int	10 µl	Int	15 µl	Int
<i>E.coli 1</i>	9	+	15	++	19	++	9	+	12	+	15	++
<i>E.coli 2</i>	8	–	11	+	13	+	7	–	11	+	13	+
<i>E.coli</i> ATCC 25922	11	+	13	+	15	++	10	+	11	+	11	+
<i>K. pneumoniae</i>	8	–	12	+	16	++	7	–	10	+	12	+
<i>K. pneumoniae</i> ATCC 70603	9	+	14	+	17	++	7	–	12	+	14	+
<i>P. Aeruginosa 1</i>	7	–	8	–	9	+	6	–	7	–	8	–
<i>P. Aeruginosa</i> ATCC 27853	7	-	8	-	9	+	7	-	7	-	8	-
<i>S. Aureus 1</i>	17	++	21	+++	25	+++	16	++	22	++	24	+++
<i>S. Aureus 2</i>	20	+++	37	+++	40	+++	18	++	36	+++	40	+++
<i>S.Aureus</i> ATCC 25923	17	++	20	+++	27	+++	8	-	10	+	20	+++

Int : interprétation, **Ø** : diamètre

+: sensible, ++ : très sensible, +++ : extrêmement sensible, - : non sensible.

D'après le **tableau 11** , on remarque que les huiles essentielles de *Tetradlinis articulata* et *Lavandula dentata* présentent une activité antibactérienne significative vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes d'origine hospitalière. Cette activité a été révélée à l'aide de la méthode de diffusion sur gélose, par la mesure des diamètres des zones d'inhibition.

Il a été observé que les bactéries à Gram positif, notamment *Staphylococcus aureus*, étaient plus sensibles aux huiles testées(**Figure 20 et 21**) que les bactéries à Gram négatif telles que *Escherichia coli* (**Figure 18 et 19**), *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Figure 22 et 23**). Ce résultat peut être attribué à la structure de la paroi cellulaire ; en effet, les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe imperméable qui limite la pénétration des composés lipophiles contenus dans les huiles essentielles (**Nostro A et al., 2000**).

Nos résultats ont révélé que l'huile de *T. articulata* (**Figure 18 , 20 et 22**) est la plus efficace que l'huile de *Lavandula dentata* (**Figure 19 , 21 et 23**), en particulier contre *S. aureus*, mais aussi contre certaines souches de *E. coli* et de *K. pneumoniae*. Cette efficacité peut être attribuée à sa richesse en composés bioactifs tels que le camphre et l' α -pinène. Cela est confirmé par l'étude de (**Boussaïd et al.,2016**), qui a démontré que l'huile de *T. articulata*, riche en camphre, présente une activité antifongique et antibactérienne marquée, notamment contre *S. aureus*, grâce à son action perturbatrice sur la perméabilité membranaire des cellules microbiennes. Et confirmé aussi par un autre étude de (**Zerkani et al.,2019**)

L'huile de *Lavandula dentata*, elle a montré une activité modérée, avec une bonne réponse contre *S. aureus*, mais une efficacité plus faible face à *Pseudomonas aeruginosa*. Cette différence est probablement liée à sa composition chimique dominée par des composés comme le linalol et l'eucalyptol, considérés moins puissants que le camphre en termes d'activité antibactérienne. L'étude de (**Noui et al.,2023**) ces observations, en signalant une efficacité limitée de l'huile de *L. dentata* contre les souches résistantes de *Klebsiella* et *Pseudomonas*, en raison d'une faible concentration en composés antimicrobiens majeurs.

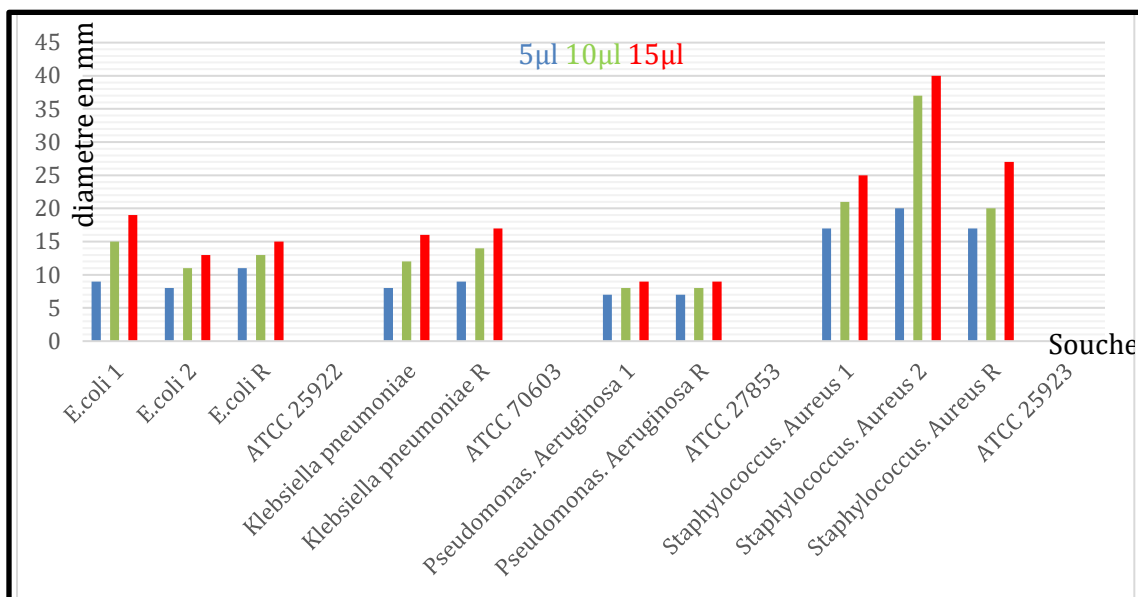


Figure16. Résultats des diamètres des zones d'inhibition de *Tetraclinis articulata*.

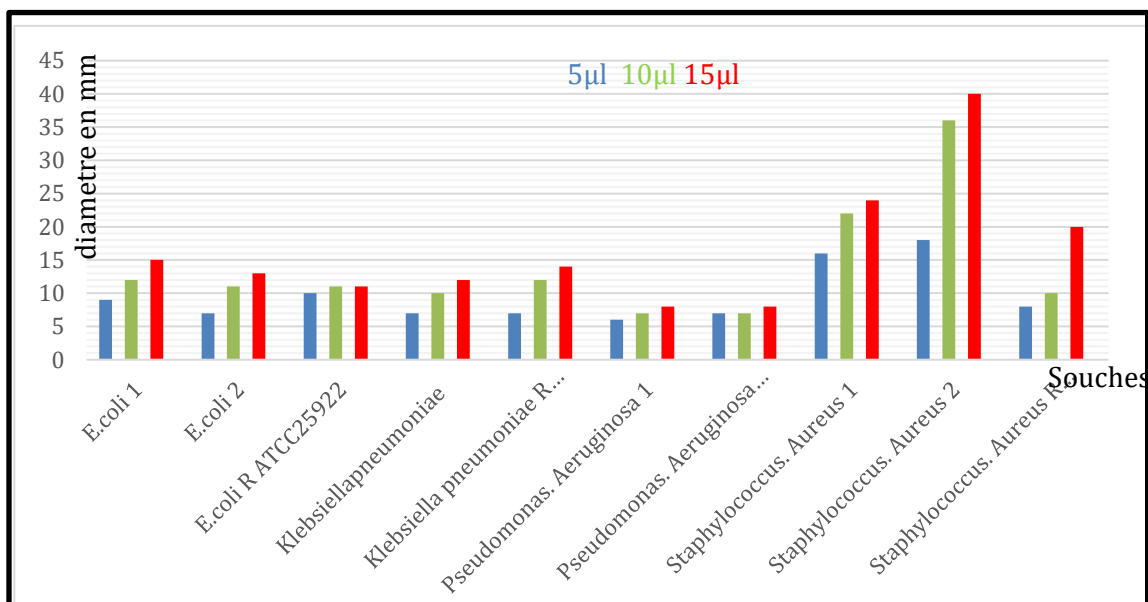


Figure17. Résultats des diamètres des zones d'inhibition de *Iadendula dentata*.

Un autre point notable dans notre étude est la relation directe entre la concentration appliquée et l'efficacité observée. En effet, les zones d'inhibition augmentaient proportionnellement avec le volume appliqué (5, 10, 15 µl), indiquant une réponse dose-dépendante (**figure 16 et 17**). Ce phénomène a également été confirmé par l'étude de

(Bachiri *et al.*,2017), qui a montré que l'augmentation de la concentration de l'huile de *L. dentata* entraînait une extension progressive des zones d'inhibition, notamment contre *S. aureus*. En comparant les deux huiles, il ressort clairement que l'huile de *Tetraclinis articulata* est la plus efficace, en raison de : son spectre d'action plus large, sa forte activité même à faibles concentrations, et sa capacité à inhiber certaines souches de bactéries à Gram négatif.

Cette conclusion est renforcée par l'étude de (Dridi *et al.*,2021) qui a souligné que les huiles riches en camphre et en pinène affichent une activité antibactérienne élevée, même à faibles doses, comparées aux huiles contenant moins de composés actifs.

Et finalement on remarque que les souches bactériennes d'origine hospitalière ont des zones d'inhibition plus réduites que celles des souches de référence car les souches bactériennes hospitalières présentent souvent des zones d'inhibition plus faibles face aux huiles essentielles en raison de leurs mécanismes de résistance développés, tels que la formation de biofilms ou l'expulsion des composés actifs par des pompes d'efflux, ce qui réduit l'efficacité antimicrobienne des huiles essentielles (Burt, 2004).

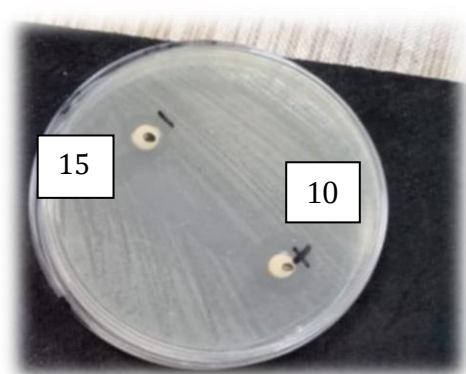


Figure 18. la zone d'inhibition d'HE de *T. d'Articulata* vis-a-vis *E coli*

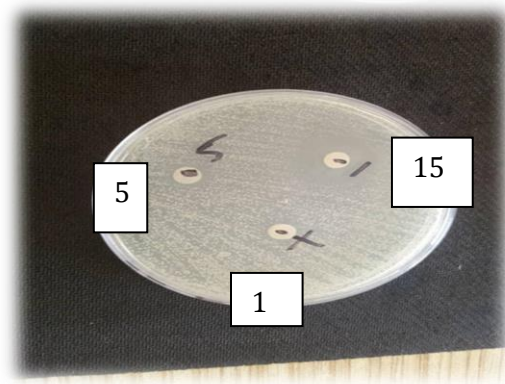


Figure 19. la zone d'inhibition d'HE *L.Dentata* vis-a-vis *E coli*

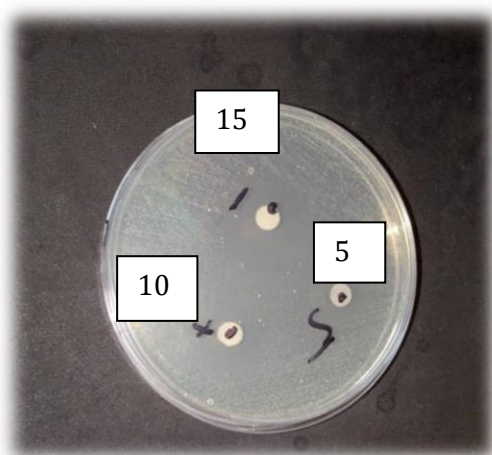


Figure 20. la zone d'inhibition d'HE de *T. Articulata* vis-a-vis *S.aures*

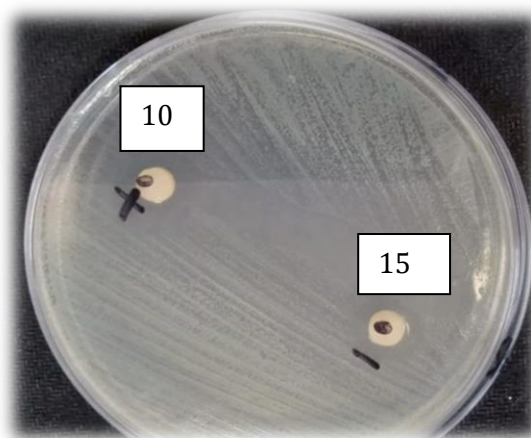


Figure 21. la zone d'inhibition d'HE de *L.Dentata* vis-a-vis *S.aures*

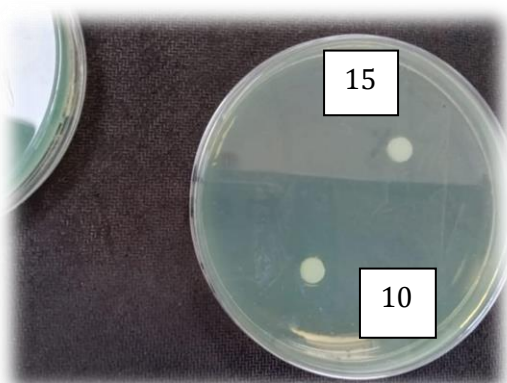


Figure 22. la zone d'inhibition d'HE de *T. Articulata* vis-a-vis *P.aeruginosa*

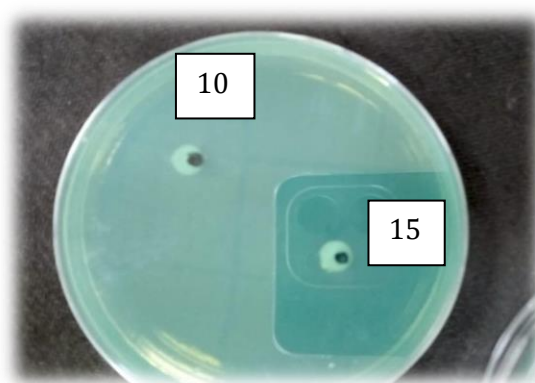


Figure 23. la zone d'inhibition d'HE de *L.Dentata* vis-a-vis *P.aeruginosa*

6.2.2. Détermination des CMI et CMB de la croissance microbienne

Les résultats des concentrations minimale inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des HES vis-à-vis des souches d'origine hospitalière et souche de référence sont présenté dans le **tableau 12**.

Tableau 12. Concentrations minimales inhibitrices (CMI en % v/v) et bactéricides (CMB en % v/v) des HEs.

Souches bactériennes	Huiles essentielles			
	<i>T.articulata</i>		<i>L. dentata</i>	
	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>E.coli</i> 1	4	4	/	/
<i>E.coli</i> 2	4	/	/	/
<i>E.coli</i> ATCC 25922	4	/	/	/
<i>K. pneumoniae</i>	2	/	4	/
<i>K.pneumoniae</i> ATCC 70603	2	4	/	/
<i>P. Aeruginosa</i>	/	/	/	/
<i>P. Aeruginosa</i> ATCC 27853	/	/	/	/
<i>Staphylococcus. Aureus</i> 1	1	1	4	4
<i>Staphylococcus. Aureus</i> 2	1	1	4	4
<i>Staphylococcus. Aureus</i> ATCC 25923	1	1	4	4

D'après le **tableau 12** on constate que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* présente une activité antibactérienne notable contre plusieurs souches, avec des valeurs de CMI très faibles atteignant 1% contre *Staphylococcus aureus*. Et variant entre 2% et 4% pour *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*. Les valeurs de CMB étaient en général proches des CMI, ce qui indique que cette huile exerce non seulement un effet inhibiteur, mais également une action bactéricide directe. Ces observations sont en accord avec les conclusions de (**Boussaïd et al.,2016**), qui ont démontré que l'huile essentielle de *T. articulata*, riche en camphre, est capable de perturber la perméabilité membranaire des cellules bactériennes, entravant ainsi leurs fonctions vitales et inhibant leur croissance. Cette efficacité a également été confirmée par (**Boussaïd et al.,2022**), qui ont souligné que les huiles à forte teneur en camphre sont caractérisées par des CMI faibles et une activité antimicrobienne marquée, ce qui explique les résultats élevés observés dans notre étude.

En revanche, l'huile essentielle de *Lavandula dentata* a montré une activité plus modérée, avec des CMI supérieur ou égale 4 % et une absence d'effet significatif sur certaines souches à Gram négatif, notamment *Pseudomonas aeruginosa*. Cette faible efficacité peut être attribuée à sa composition chimique dominée par des composés comme le linalol et l'eucalyptol, connus pour leur action antimicrobienne plus faible que celle du camphre, comme l'a indiqué (Noui *et al.*,2023). Les valeurs de CMB enregistrées ont confirmé cette résultat si de *T. articulata* a montré une activité bactéricide claire, ce n'était pas le cas pour *L. dentata*, dont les CMB étaient souvent indéfinies. Cette constatation est soutenue par l'étude de (Abi-Ayad *et al.*,2013), qui a révélé que les huiles à faible teneur en camphre nécessitent des concentrations élevées pour produire un effet inhibiteur. Ainsi, il ressort que l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* se distingue par un double efficacité, inhibitrice et bactéricide, même à faibles concentrations, mettant en évidence l'importance de la composition chimique.

Conclusion

En conclusion, l'huile essentielle de *Tetraclinis articulata* se distingue comme un agent naturel particulièrement prometteur grâce à son large spectre d'activité, son efficacité à faible dose, et ses résultats CMI/CMB encourageants, notamment contre des souches résistantes. Cette étude souligne l'importance de poursuivre les recherches sur les huiles essentielles et leur composition, en vue de développer des alternatives naturelles viables aux traitements antimicrobiens classiques, dans un contexte de résistance croissante en milieu clinique.

*CONCLUSION
GENNERAL*

Les huiles essentielles, en tant que composés naturels volatils extraits de plantes aromatiques, représentent une alternative thérapeutique de plus en plus explorée dans le contexte médical actuel, particulièrement face à l'émergence croissante de bactéries multirésistantes. L'étude menée sur les huiles essentielles de *Tetraclinis articulata* et *Lavandula dentata* deux plantes médicinales aromatique de la région de Tlemcen, s'inscrit dans une démarche de valorisation des ressources végétales locales à fort potentiel bioactif.

Cette recherche a évalué l'activité antimicrobienne de ces huiles essentielles contre dix souche dont quatre de référence et six souche d'origine hospitalière (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*) principalement isolées à partir de dispositifs médicaux (sondes urinaire) ,prélevées auprès des patients hospitalisés à la réanimation et à la chirurgie aux CHU de Tlemcen,, représentent les agents les plus fréquents.

Les résultats obtenus ont révélé une activité antibactérienne remarquable de l'huile essentielle de *T. Articulata* , notamment contre les souches Gram positives telles que *Staphylococcus aureus*. Les zones d'inhibition atteignant jusqu'à 40 mm ainsi qu'une concentration minimale inhibitrice (CMI) faible estimée à 1 % soulignent l'efficacité de cette huile. Cela peut être attribué à la richesse en composés phénoliques et terpènes, connus pour leurs propriétés antimicrobiennes puissantes. Par contre, l'huile essentielle de *L. Dentata* a montré une efficacité plus modérée, mais reste intéressante à explorer davantage, notamment dans des formulations synergiques et Et finalement on note que les souches bactériennes d'origine hospitalière ont des zones d'inhibition plus réduites que les souches de références

Ces données expérimentales soutiennent l'idée que les huiles essentielles pourraient intégrer des protocoles de traitement complémentaire, particulièrement dans un cadre hospitalier où la lutte contre les infections nosocomiales représente un défi majeur. Toutefois, plusieurs paramètres restent à élucider : la stabilité chimique des huiles, leur sécurité d'utilisation à long terme, ainsi que les interactions pharmacologiques possibles avec les traitements conventionnels.

Par ailleurs, l'optimisation des procédés d'extraction, l'identification précise des composés actifs et la réalisation d'essais cliniques à grande échelle sont des étapes indispensables pour valider l'usage thérapeutique de ces extraits naturels. Une approche multidisciplinaire impliquant la pharmacologie, la microbiologie, et les sciences cliniques est essentielle pour traduire ces résultats en applications concrètes.

En conclusion, l'étude met en lumière le potentiel prometteur des huiles essentielles étudiées, notamment celle de *Tetraclinis articulata* et l....., en tant qu'agents antimicrobiens naturels. Elle ouvre des perspectives encourageantes pour le développement de stratégies thérapeutiques innovantes, durables et adaptées aux enjeux de santé publique contemporai

LISTES DE REFERENCE

1. **Abdallah, H. M., Wintermans, B. B., Reuland, E. A., Koek, A., Naiemi, N. A., Ammar, A. M., Mohamed, A. A., & Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E. (2015).** Extended-Spectrum β -Lactamase- and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolated from Egyptian Patients with Suspected Blood Stream Infection. PLoS ONE, 10(5), e0128120. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0128120>
2. **Abdelli, W. (2017).** Caractérisation chimique et étude de quelques activités biologiques des huiles essentielles de *Juniperus phoenicea* et de *Thymus vulgaris*. Thèse de doctorat, Université Abdelhamid Ibn Badis – Mostaganem (Algérie), 214 p.
3. **Abdoune, Y. (2012).** Contribution à l'extraction des huiles essentielles de l'inule visqueuse algérienne par diverses méthodes, étude de ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes. Thèse de doctorat, Université Houari Boumediene (Algérie), 117 p.
4. **Aissani, A. (2008).** Étude épidémiologique des infections à *Klebsiella pneumoniae* dans les hôpitaux algériens. Mémoire de Magister, Université de Constantine, Algérie.
5. **Aissani-El Fertas, N. (2017).** Résistance bactérienne et virulence de *Klebsiella pneumoniae* : une menace croissante. Bulletin de la Société Algérienne de Microbiologie Médicale, 5(1), 15–21.
6. **Allouni, R. (2018).** Étude des aspects morphologiques, phytochimiques et pharmacotoxicologiques de la plante *Ruta montana*. Thèse de doctorat.
7. **Andrade, M. A., Cardoso, M. G., Batista, L. R., Mallet, A. C. T., & Machado, S. M. F. (2014).** Antibacterial activity of essential oils of *Lavandula angustifolia* and *Cymbopogon citratus* on multiresistant bacteria isolated from surgical material. Revista Brasileira de Plantas Medicinais, 16(4), 912–917. https://doi.org/10.1590/1983-084X/12_180
8. **Andremont, A. (2010).** Les multirésistances bactériennes en milieu hospitalier : traitements de recours. Revue du Praticien, 60(4), 503–507.
9. **ANSES. (2011).** Fiche de danger biologique – *Staphylococcus aureus*. Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail. <https://www.anses.fr>
10. **Aodhan, M. (2016).** Les bactéries hospitalières : caractéristiques et résistances. Université de Dublin, Faculté de Médecine.
11. **Aribi, A., & Hasasni, L. (2018).** Contribution à l'étude des extraits aqueux et méthanoliques d'une plante médicinale (*Sonchus oleraceus* L.). Mémoire de Master.
12. **Arvidson, S. (2000).** The role of extracellular proteins in the pathogenesis of *Staphylococcus aureus* infections. Trends in Microbiology, 8(10), 529–535. [https://doi.org/10.1016/S0966-842X\(00\)01817-6](https://doi.org/10.1016/S0966-842X(00)01817-6)

13. **Atmani, D., Bousmaha, M., & Chabni, I. (2016).** Facteurs de virulence et résistance aux antibiotiques chez *Klebsiella pneumoniae* isolée en milieu hospitalier. *Journal Algérien des Régions Arides*, 10(2), 23–30.
14. **Bachina, R. J., Paul, A., & Kumar, P. (2014).** Cross-transmission and hand hygiene in healthcare settings. *Journal of Hospital Infection*, 86(2), 78–84. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2013.10.006>
15. **Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., & Idaomar, M. (2008).** Biological effects of essential oils – a review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
16. **Barbut, F., & Brun-Buisson, C. (2007).** Infections nosocomiales et gestion des dispositifs invasifs. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 37(4), 223–229. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2006.10.004>
17. **Bezzaoucha, A. (2004).** Épidémiologie hospitalière : infections nosocomiales. Office des Publications Universitaires, Alger.
18. **Bezzaoucha, A., Kadi, I., & Azzouz, M. (1994).** Enquête de prévalence des infections nosocomiales dans un hôpital algérien. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 24(3), 275–279.
19. **Benali-Toumi, F., Kabouche, A., Boumendjel, M., & Bruneau, C. (2011).** Composition chimique de l'huile essentielle de *Tetralina articulata* (Vahl) Mast. *Phytothérapie*, 9(3), 152–157. <https://doi.org/10.1007/s10298-011-0613-2>
20. **Benachour, H., Ramdani, M., Lograda, T., & Chalard, P. (2020).** Composition chimique et activités antibactériennes des huiles essentielles de *Capparis spinosa* d'Algérie.
21. **Benmesmoudie, L. (2015).** Caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans un contexte hospitalier. Mémoire de Magister, Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen, Algérie.
22. **Belaiche, P. (1979).** Traité de phytothérapie et d'aromathérapie : l'aromatogramme. Maloine, Paris.
23. **Beye, M. D., Diop, A., Fall, M. C., & Ka, R. (2024).** Épidémiologie et microbiologie des infections du site opératoire dans un hôpital universitaire en Afrique de l'Ouest. *Journal Africain de Médecine et de Santé Publique*, 18(1), 22–30.
24. **Bourahla, N., Halfaya, A., & Khelif, O. (2020).** Étude de l'effet antibactérien de l'huile essentielle d'une plante médicinale (*Eucalyptus camaldulensis*).
25. **Boukhatem, M. N., Ferhat, A., & Kameli, A. (2019).** Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles : revue de littérature. *Une*, 3(4), 1653–1659.

- 26.Bouras, M. (2018).** Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de certaines plantes de l'est algérien sur des souches résistantes aux antibiotiques. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar – Annaba.
- 27.Fontanay, S. M., Marie, E., & Duval, R. E. (2015).** Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires. *Hegel*, (2), 109–118.
- 28.Gaborieau, B. (2014).** État des lieux sur l'aromathérapie dans les officines : enquête sectorielle dans le département de la Vienne. Thèse de doctorat, Université de Poitiers (France), 98 p.
- 29.Garlasco, J., & Prentice, T. (2021).** Infection prevention and control in health care: Time for collaborative action. *The Lancet Global Health*, 9(3), e250–e251. [https://doi.org/10.1016/S2214-109X\(21\)00003-0](https://doi.org/10.1016/S2214-109X(21)00003-0)
- 30.Getachew, M., Alemayehu, T., & Abebe, T. (2023).** Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical specimens in Ethiopia: A cross-sectional study. *BMC Infectious Diseases*, 23(1), 45. <https://doi.org/10.1186/s12879-023-07985-6>
- 31.Glenn, M., et al. (2014).** Nosocomial pathogens and antibiotic resistance in clinical settings. *Journal of Hospital Infection*.
- 32.Goetz, P., & Ghedira, K. (2012).** *Phytothérapie anti-infectieuse*. Éditions Springer, Paris, 364 p.
- 33.Grenez, E. P. (2019).** *Phytothérapie – exemples de pathologies courantes à l'officine : Fatigue, Insomnie, Stress, Constipation, Rhume, Douleur et Inflammation*. Thèse de doctorat, Université de Lille (France), 141.
- 34.Guerin-Fauble, V., & Carret, G. (1999).** L'antibiogramme, principes, méthodologie, intérêt et limites. *Journées Nationales GTV-INRA*, p. 512.
- 35.Gurjar, M. S., Ali, S., Akhtar, M., & Singh, K. S. (2012).** Efficacy of plant extracts in plant disease management. *Agricultural Sciences*, 3, 425–433.
- 36.Haddadi, M. (2013).** Asepsie et prévention des infections nosocomiales : enjeux et pratiques. *Revue Maghrébine de Biologie et Santé*, 5(1), 33–40.
- 37.Hadjadj, K., & Letreuch Belarouci, A. (2017).** Synthèse bibliographique sur le thuya de berbérie (*Tetraclinis articulata* (Vahl) Mast.). *Geo-Eco-Trop*, 41(1), 13–27.
- 38.Hammer, K. A. (1999).** Antimicrobial activity of essential oils and other plant extracts. *Journal of Applied Microbiology*, 86, 895–990.

- 39.Hameed, F., Khan, M. A., Rehman, T., Ali, S., & Ahmed, S. (2023). Trends in antimicrobial resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa*: A multicenter retrospective study from 2018 to 2022. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 32, 154–162. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.01.012>
- 40.Harikrishnan, P., Nambiar, S., & Rajeev, A. (2021). Hand hygiene practices and nosocomial infection control. *Journal of Hospital Infection*, 118, 90–95. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.02.005>
- 41.Harzallah, M., Boukli-Hacene, G., & Bouzidi, A. (2022). Prévalence et caractéristiques des infections nosocomiales au Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine. *Revue Algérienne des Sciences Médicales*, 13(2), 45–52.
- 42.Haute Autorité de Santé. (2022). Stratégie nationale de lutte contre l'antibiorésistance. <https://www.has-sante.fr>
- 43.Herman, R. A., Ayepa, E., Shittu, S., Fometu, S. S., & Wang, J. (2019). Essential oils and their applications – a mini review. *Advances in Nutrition and Food Science*, 4(4).
- 44.Inia, A. (2021). Prévalence des infections nosocomiales dans les hôpitaux africains. Mémoire de Master, Université de Tunis.
- 45.Jayasena, D. D., & Jo, C. (2013). Essential oils as potential antimicrobial agents in meat and meat products: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 34, 96–105.
- 46.Joffin, J. N., & Schuter, C. (2003). *Pseudomonas* et apparentés ou bactéries gram négatif aérobies strictes.
- 47.Justus, B., De Almeida, V. P., Gonçalves, M. M., Da Silva Fardin de Assunção, D. P., Borsato, D. M., Arana, A. F. M., Maia, B. H. L. N. S., De Fátima Padilha de Paula, J., Budel, J. M., & Farago, P. V. (2018). Chemical composition and biological activities of the essential oil and anatomical markers of *Lavandula dentata* L. cultivated in Brazil. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 61. <https://doi.org/10.1590/1678-4324-2018180111>
- 50.Kallel, H., Bahoul, M., Ksibi, H., Dammak, H., Chelly, H., & Hamzaoui, J. (2015). Epidemiology of hospital-acquired infections in a Tunisian university hospital. *La Tunisie Médicale*, 93(1), 7–13.
- 51.K., S., Ali, M., & Ramesh, R. (2023). Environmental decontamination strategies in hospitals: Biofilm control and disinfection. *Journal of Environmental Health*, 85(3), 45–52.
- 52.Kfoury, M., & Fourmentin, S. (2024). Les huiles essentielles : renaissance d'ingrédients naturels et durables. *Technologie et Innovation*, 9(1). <https://doi.org/10.21494/iste.op.2024.1059>
- 53.Khan, M., et al. (2017). Surgical site infections: risk and prevention. *International Journal of Surgery*.

- 54.Khanal, R., & Jha, B. K. (2010).** Vancomycin sensitivity pattern in *Staphylococcus aureus* isolated from different clinical specimens. *Nepal Medical College Journal*, 12(1), 26–29. PMID: 21222465
- 55.Kone, A. (2010).** Infections nosocomiales : étude des modes de transmission et des mesures de prévention dans un centre hospitalier universitaire. Thèse de doctorat, Université de Bamako, Mali.
- 56.Lakhdar, L. (2015).** Évaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *aggregatibacter actinomycetemcomitans*: étude in vitro. Thèse de Doctorat, Faculté de Médecine Dentaire de Rabat, Université Mohammed V de Rabat. (Maroc), 183 p.
- 57.Lamamra, M. (2018).** Activités biologiques et composition chimique des huiles essentielles d'*Ammiopsis aristidis* Coss.(Syn. *Daucus aristidis* Coss.) et d'*Achillea santolinoides* Lag. Université de Sétif. 92 p.
- 58.Laxminarayan, R., et al. (2013).** Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet Infectious Diseases*, 13(12), 1057–1098.
- 59.Lazli, A., et al. (2018).** Étude ethnobotanique et inventaire des plantes médicinales dans la région de Bougous. Université Chadli Bendjedid d'El Tarf.
- 60.Lazrak, H., El Malki, K., & Benchekroun, N. (2014).** Infections urinaires nosocomiales : épidémiologie et facteurs de risque. *Annales de Biologie Clinique*, 72(2), 135–141.
- 61.Maamar Sameut, Y., Belhacini, F., & Bounaceur, F. (2020).** Etude ethnobotanique dans le Sud-Est de Chlef. *Revue Agrobiologia*, 10(2), 2044-61.
- 62.Madi, S., & Djema, K. (2019).** Les infections nosocomiales : aspects épidémiologiques et prévention. Mémoire de fin d'études, INSP Algérie.
- 63.Mahdia, S., & Ouamer, A. (2019).** État des lieux des infections nosocomiales en Algérie. Université d'Alger.
- 64.Mangram, A. J., et al. (1999).** Guideline for prevention of surgical site infection. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 20(4), 247–278.
- 65.Marouf, A., & Tremblin, G. (2015).** Abrégé de biochimie appliquée. EDP sciences.
- 66.Menaceur, F. (2015).** Contribution à l'étude phytochimique et biologique de l'érigeron, du fenouil commun, de la lavande et du genévrier. Thèse de doctorat. ENSA El Harrach-Alger.
- 67.Montassir, L., et al. (2017).** Toxicité aiguë et reprotoxicité de l'extrait aqueux de *Tetraclinis articulata*. *Journal of Materials and Environmental Sciences*, 8(2), 770–776.
- 68.Namdeo, A. G. (2018).** Cultivation of medicinal and aromatic plants. In *Natural products and drug discovery*, Elsevier.

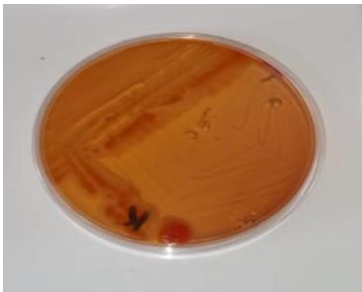
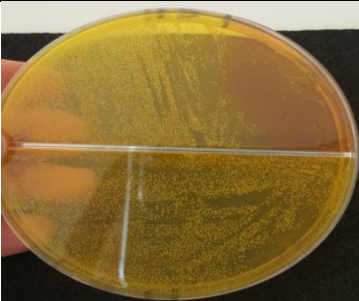
69. Nauciel, C., & Vildé, J.-P. (2005). Infections nosocomiales. In J.-C. Desenclos et al. *Épidémiologie des infections nosocomiales*, INSERM.
70. Ni, Z. J., et al. (2021). Recent updates on plant essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 110, 78–89.
71. Nisha, R., et al. (2020). Reduced susceptibility of *Staphylococcus aureus*. *Journal of Infection and Public Health*, 13(5), 676–681.
72. Olivero-Verbel, J., et al. (2006). Methods for testing antimicrobial activity. In *Modern Phytomedicine*, Wiley-VCH.
73. Organisation mondiale de la Santé. (2002). *Prévention des infections nosocomiales*. 2^e éd. Genève.
74. Organisation mondiale de la Santé. (2016). *Prévention des infections du site opératoire*. Genève.
75. Organisation mondiale de la Santé. (2023). *Infections respiratoires aiguës – Informations générales*. <https://www.who.int>
76. Oullai, L., & Chamek, C. (2018). *Étude ethnopharmacognosique des plantes médicinales*. Université Mouloud Mammeri.
77. Patricia, B. (2005). *L'utilisation des huiles essentielles en ostéopathie animale*. Mémoire, European School of Animal Osteopathy.
78. Perez, F. (2013). Multidrug-resistant bacteria: Epidemiology and treatment. *Clinical Infectious Diseases*, 56(5), 712–719.
79. Pierron, C. H. (2014). *Huiles essentielles et soins hospitaliers*. Thèse, Université de France.
80. Pool, K. (2001). Multidrug efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *J. Mol. Microbiol. Biotechnol.*, 3(2), 255–264.
81. Quézel, P., & Santa, S. (1962). *Nouvelle flore de l'Algérie*. CNRS.
82. Robert-Demuet, S. (1995). Méthodes de dilutions. In *Antibiotiques et antibiogrammes*, Montréal.
83. Saran, R., et al. (2021). Hospital design and patient safety. *CJASN*, 16(5), 763–774.
84. Singh, M. P., & Barrett, J. F. (2006). Empirical antibacterial therapy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(10), 775–790.
85. Soković, M., et al. (2010). Antibacterial effects of essential oils. *Molecules*, 15(11), 7532–7546.
86. Souihi, N., et al. (2017). Composition et activité antibactérienne de *Lavandula dentata*. *J. Essent. Oil Bear. Plants*, 20(1), 259–268.
87. Squeglia, F., et al. (2020). *Klebsiella pneumoniae* pathogenesis. *Microorganisms*, 8(5), 761.

- 88.Surk, K. I., & Nielsen, P. V. (2003).** Antifungal activity of essential oils. *Journal Applied Microbiology*, 99, 665–674.
- 89.Sullivan, J. M., et al. (2023).** Surveillance of healthcare-associated infections. *Am. J. Infect. Control*, 51(1), 15–22.
- 90.Touboul, A. (2021).** Sécurité d’emploi des huiles essentielles. *Actualités Pharmaceutiques*, 60(604), S17–S19.
- 91.Tortora, G. J., et al. (2003).** *Microbiologie* (8^e éd.). De Boeck.
- 92.Victoire, G. (2019).** Mécanismes de résistance aux antibiotiques. Thèse, Université de Lyon.
- 93.Vincent, J. L. (2005).** Nosocomial infections in ICUs. *The Lancet*, 365(9458), 1031–1041.
- 94.Veyssiere, J. (2019).** Résistance bactérienne : mécanismes et implications. *Pharmacologie et Thérapeutique*, 24(4), 215–228.
- 95.Yu-hui, L., et al. (2020).** Risk factors associated with nosocomial infections. *Chin. J. Nosocomiology*, 30(9), 1354–1357.
- 96.Zahir, I., et al. (2020).** Activités biologiques de *Tetraclinis articulata*. *Revue de synthèse*, 89, 91–114.
- 97.Zhang, L. (2003).** Natural antibiotics and their clinical relevance. *J. Antimicrob. Chemother.*, 51(1), 123–127.

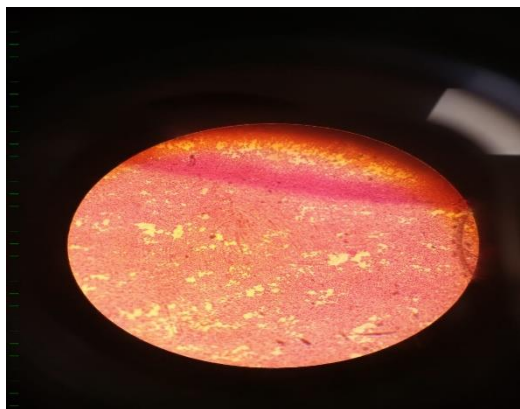
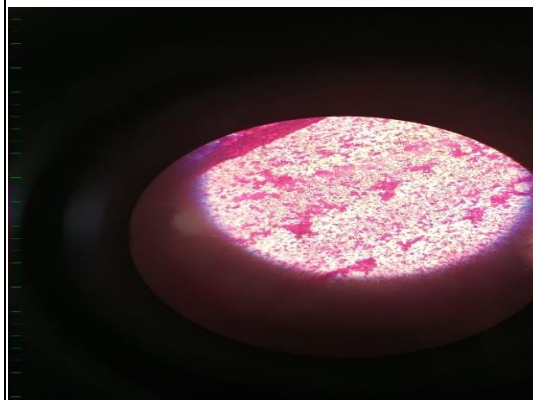
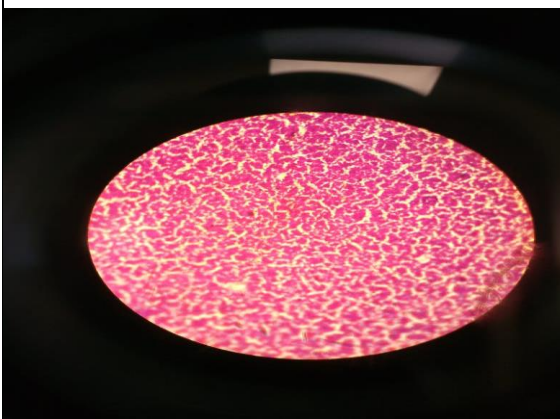
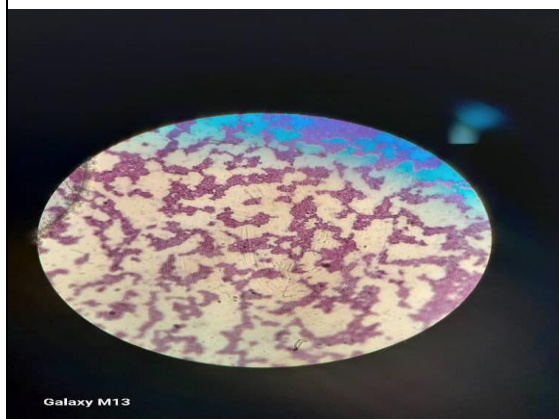
ANNEXE

Aspect macroscopique des souches

Annex01:

 <i>Escherichia coli</i> sur MacConkey	 <i>Klebsiella pneumoniae</i> sur MacConkey
 <i>Staphylococcus aureus</i> sur Chapman	 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> sur milieu cétrimite

Annex02:la coloration de gram

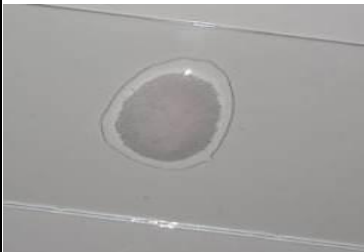
*Escherichia coli* (Négatif)*Klebsiella pneumoniae* (Négatif)*Pseudomonas aeruginosa* (Négatif)*Staphylococcus aureus* (Positif)

Annex03: Tests biochimiques

1-Test d'oxydase

*Pseudomonas aeruginosa* (Positif)*Escherichia coli* (Négatif)*Klebsiella pneumoniae* (Négatif)*Staphylococcus aureus* (Négatif)

2- Test catalase

	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Positif)	<i>Klebsiella pneumoniae</i> (positif)
	
<i>Escherichia coli</i> (positif)	<i>Staphylococcus aureus</i> (positif)

3- Test Coagulase de *Staphylococcus aureus*

Annex 04: les galeries API 20E



Escherichia coli



Klebsiella pneumoniae

Annex 05: les milieux de culture

<i>Milieux de culture utilisés</i>		
<i>Milieu de culture</i>	<i>Ingrédients</i>	<i>Quantité</i>
Bouillon nutritif	Extrait de viande	1 g
	Extrait de levure	1 g
	Peptone	5 g
	Eau distillée	1000 ml
	pH = 7,2	
Gélose nutritive	Extrait de viande	1 g
	Extrait de levure	1 g
	Peptone	5 g
	Agar - Agar	15 g
	Eau distillée	1000 ml
	pH = 7,2	
Gélose nutritive molle	Extrait de viande	1 g
	Extrait de levure	1 g
	Peptone	5 g
	Agar - Agar	7.5g
	Eau distillée	1000 ml
	pH = 7,2	
Gélose Mac conkey	Peptone de gélatine	17 g
	Peptone de caséine	1.5g
	Peptone de tissus d'animaux	1.5 g
	Sels biliaires	1.5 g
	Lactose	10 g
	Chlorure de sodium	5 g
	Violet de crystal	0.001 g
	Agar - Agar	13.5 g
	Eau distillée stérile	1000 ml
	pH = 7,1 ± 0,2	

Gélose Chapman	Extrait de viande (bovin ou porcin)	1 g
	Peptone de caséine et de viande (bovin et porcin)	10 g
	Chlorure de sodium	75 g
	Mannitol	10 g
	Agar –Agar	15 g
	Rouge de phénol	0,025g
	pH=7,6	
Gélose au cétrimide	Peptone de gelatine	20 g
	Cétrimide	0,3g
	Chlorure de magnésium	1,4 g
	Sulfate de potassium	10 g
	Agar	13,6 g
	Eau distillée	1000 ml
	pH = 7,2 ± 0,2	
Gélose Mueller-Hinton	Infusion de viande de boeuf	300 g
	Peptone de caséine	17.5 g
	Amidon de mai	1.5 g
	Agar-Agar	17 g
	Eau distillée	1000 ml
	pH= 7.4	

Annex 06: Lecteur des résultats de galerie API20E

Tests	Composants actifs	QTE (mg/cup.)	Réactions/enzymes	Résultats	
				Négatif	Positif
ONPG	2-nitrophényl-βD-galactopyranoside	0,223	β-galactosidase (OrthoNitroPhényl-βD-Galactopyranosidase)	Incolore	jaune
<u>ADH</u>	L-arginine	1,9	ArginineDiHydrolase	Jaune	rouge/ orangé
<u>LDC</u>	L-lysine	1,9	LysineDéCarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
<u>ODC</u>	L-ornithine	1,9	OrnithineDéCarboxylase	Jaune	rouge/ orangé
CIT	trisodiumcitrate	0,756	utilisationduCITrate	vertpâle/ jaune	bleu-vert/ bleu
<u>H₂S</u>	sodiumthiosulfate	0,075	productiond'H ₂ S	incolore/ grisâtre	dépotnoir/ finiséré
<u>URE</u>	Urée	0,76	UREase	Jaune	rouge/ orangé
TDA	L-tryptophane	0,38	TryptophaneDésAminase	TDA/immédiat Jaune marron-rougeâtre	
IND	L-tryptophane	0,19	Production d'INDole	JAMES/immédia Incolore Rose vertpâle/ jaune	
VP	Sodium pyruvate	1,9	productiond'acétoïne (VogesProskauer)	VP1+VP2/10min incolore/ rosepale rose/ rouge	
GEL	Gelatin (originebovine)	0,6	Gélatinase(GELatine)	nondiffusion	Diffusion du pigment noir
GLU	D-glucose	1,9	fermentation/ oxydation (GLUcose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune/ jaune gris
MAN	D-mannitol	1,9	fermentation/ oxydation (MANnitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
INO	Inositol	1,9	fermentation/ oxydation (INOsitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
SOR	D-sorbitol	1,9	fermentation/ oxydation (SORbitol)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
RHA	L-rhamnose	1,9	fermentation/ oxydation (RHAmmose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
SAC	D-saccharose	1,9	fermentation/ oxydation (SACcharose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
MEL	D-melibiose	1,9	fermentation/ oxydation (MELibiose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
AMY	amygdaline	0,57	fermentation/ oxydation (AMYgdaline)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune
ARA	L-arabinose	1,9	fermentation/ oxydation (ARAbinose)(4)	bleu/ bleu-vert	jaune

Annex 07: Lecture des résultats de galerie API Staphe

TESTS	COMPOSANTS ACTIFS	QTE (mg/cup.)	REACTIONS / ENZYMES	RESULTAT	
				NEGATIF	POSITIF
C	Aucun		Témoin négatif	rouge	—
GLU	D-glucose	1.56	(Témoin positif) (D-GLUcose)	rouge *	jaune
FRU	D-fructose	1.4	acidification (D-FRUctose)		
MNE	D-mannose	1.4	acidification (D-ManNosE)		
MAL	D-maltose	1.4	acidification (MALtose)		
LAC	D-lactose (origine bovine)	1.4	acidification (LACtose)		
TRE	D-tréhalose	1.32	acidification (D-TREhalose)		
MAN	D-mannitol	1.36	acidification (D-MANntol)		
XLT	xylitol	1.4	acidification (XyLiTol)		
MEL	D-mélibiose	1.32	acidification (D-MELibiose)		
NIT 1 + NIT 2 / 10 min					
NIT	nitrate de potassium	0.08	Réduction des NITrates en nitrites	incolore-rose pâle	rouge
ZYM A + ZYM B / 10 min					
PAL	β-naphthyl phosphate	0.0244	Phosphatase ALcaline	jaune	violet
VP 1 + VP 2 / 10 min					
VP	sodium pyruvate	1.904	production d'acétyl méthyl-carbinol (Voges Proskauer)	incolore-rose pâle	violet-rose
RAF	D-raffinose	1.56	acidification (RAFfinose)	rouge	jaune
XYL	D-xylose	1.4	acidification (XYLose)		
SAC	D-saccharose	1.32	acidification (SACcharose)		
MDG	méthyl-αD-glucopyranoside	1.28	acidification (Méthyl-αD-Glucopyranoside)		
NAG	N-acétyl-glucosamine	1.28	acidification (N-Acétyl-Glucosamine)		
ADH	L-arginine	1.904	Arginine DHydrolase	jaune	orange-rouge
URE	urée	0.76	UREase	jaune	rouge-violet

Annexe 08: les tableaux des antibiogrammes**Tableau 01 :** Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches d'*E. Col*

ATB	<i>E coli 1</i>		<i>E. coli 2</i>	
	Ø en mm	Résultat	Ø en mm	Résultat
GEN	23	S	22	S
CTX	14	I	6	R
CIP	35	S	6	R
CAZ	0	R	0	R
FOX	22	S	20	S
AML	0	R	0	R

Tableau 02 : Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *k. Pneumoniae*

ATB	<i>k.pneumoniae</i>	
	Ø en mm	Résultat
GEN	24	S
CTX	0	R
CIP	40	S
CAZ	10	I
FOX	10	I
AML	10	I

Tableau 03: Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *p. Aeruginosa*

ATB	<i>Pseudomonas. Aeruginosa</i>	
	Ø en mm	Résultat
CIP	25	S
GEN	19	S
IPM	25	S

Tableau 04 : Les zones d'inhibition des antibiotiques testés sur les souches de *S. Aureus*

ATB	<i>Staphylococcus. Aureus 1</i>	
	Ø en mm	Résultat
FOX	20	S
P	14	R
AML	15	R
GEN	19	S
VA	15	S
OX	18	S
CIP	35	S
IPM	40	S