

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère De L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique



Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi -Tébessa-
Faculté Des Sciences Exactes Et Des Sciences De La
Nature Et De La Vie
Département De Biologie Appliquée



THESE

Présentée En Vue De L'obtention Du Diplôme De **Doctorat LMD**

Filière : Sciences Biologiques

Option : Microbiologie Appliquée

Sous Le Thème :

**Prévalence Et Profil Epidémiologique Des Entérobactéries
Uropathogènes Productrices de β -lactamases à spectre élargie et de
Carbapénèmases dans la wilaya de Tébessa et leur inhibition par des
extraits des plantes médicinales**

Présentée par :

Mlle. FARES Roufaida

Devant le jury composé de :

Président :	Mme. Djebbar Fouziai	Professeur Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa
Promoteur :	Mr. Mechai Abdelbasset	Professeur Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa
Co-promoteur :	Mme. Debabza Manel	MCA Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa
Examineurs :	Mr. Menasria Taha	MCA Université Hadj Lakhdar -Batna 2 - Batna
	Mr. Ayari Adel	MCA Université Mohamed- Cherif Mesaadia Souk-Ahras
	Mme. Smaali Saoussen	MCA Université Echahid Cheikh Larbi Tébessi - Tébessa

Année universitaire :2023/2024

ملخص

تشكل التهابات المسالك البولية الناتجة عن بكتيريا المعوية التي تنتج طيفاً ممتداً من البيبتالكتاماز (BLSE), السيفالوسبوريناز البلاسميدي (AmpC) و الكاربابينيماز (CP) خطراً معدياً متزايداً في الصحة العامة كما يمكن أن يؤدي إلى مآزق علاجية. حتى الآن لا توجد بيانات متاحة لمعرفة الحالة الوبائية الحالية لعدوى المسالك البولية المرتبطة بالعديد من البكتيريا المعوية متعددة المقاومة، ولا لمعرفة الأنواع المختلفة من بيتا لاكتامازات التي تنتجها هذه البكتيريا في مستشفيات تبسة.

في هذا السياق، كان الهدف من هذه الدراسة هو فحص إنتاج ESBL و AmpC و CP من خلال طرق النمط الظاهري المختلفة وتزامن تواجدها لدى البكتيريا المعوية متعددة المقاومة والمسببة للأمراض البولية والكشف عن إنتاج بعض الجينات التي تشفر هذه الإنزيمات في أنواع مختلفة من البكتيريا المعوية، خاصة تلك التي نادراً ما يتم تشخيصها كمساهم في الأمراض المعدية. وكذلك البحث عن علاجات بديلة من أصل نباتي ضد هذه البكتيريا.

خلال فترة الدراسة، تم عزل 400 سلالة من البكتيريا المعوية من عينات البول. الأنواع: *E. coli* (ع=155), *K. pneumoniae* (ع=39), *E. cloacae* (ع=39), *R. ornithinolytica* (ع=25) و *Kluyvera spp* (ع=22) سيطرت على المظهر البكتريولوجي. 63,75% من السلالات المدروسة كانت متعددة المقاومة للمضادات الحيوية. تم الكشف عن إنتاج ESBL في 238 سلالة من بينهم. من جهة أخرى، لوحظ التواجد المشترك ل بيتا لاكتامازات من نوع ESBL مع كل من AmpCs, CPs و MBLs على التوالي في 36,47%, 30,58% و 23,13% من سلالات المعوية متعددة المقاومة. من ناحية أخرى، يوضح التوصيف الجزيئي لجينات مقاومة بيتا لاكتام أن β -lactamases من النوع CTX-M كانت سائدة (70%)، تليها NDM (50%)، TEM و SHV (30%) ثم VIM و OXA-48 بنسبة (20%)، بينما تم العثور على السيفالوسبوريناز من نوع DHA في سلالة واحدة من بكتيريا *E. cloacae*. علاوة على ذلك، في هذه الدراسة نقدم لأول مرة حالات الإنتاج المشترك لعدة أنواع من البيتا لكتاماز داخل نفس سلالة البكتيريا المعوية. من ناحية أخرى، فإن التأثير التثبيطي للزيوت الأساسية والمستخلصات الفينولية ل *O. majorana* L و *M. communis* L و *S. officinalis* L على نمو البكتيريا المعوية المنتجة للبيتا لاكتاماز (CH, ESBL) و CP أظهرت نشاطاً قوياً في المختبر بتركيزات منخفضة جداً ضد هذه السلالات متعددة المقاومة للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: التهابات المسالك البولية، البكتيريا المعوية، البيبتالكتاماز، ESBL، السيفالوسبوريناز، الكاربابينيماز.

Abstract

Urinary tract infections (UTIs) due to extended-spectrum β -lactamase (ESBL), plasmid Cephalosporinases (AmpC), and Carbapenemases (CP) producing Enterobacteriaceae are a growing infectious risk in public health and may lead to therapeutic impasses. Until now, no data is available to know the current epidemiological status of urinary tract infections associated with multi-resistant *Enterobacteriaceae*, nor to know the different types of beta-lactamases produced by these bacteria in the hospitals in Tebessa.

In this context, the objective of the present study was to examine the production of ESBL, AmpC, and CP by various phenotypic methods and their co-occurrence among multidrug-resistant uropathogenic *Enterobacteriaceae*, to detect the production of specific genes that encode these enzymes in various species of *Enterobacteriaceae*, especially those that are rarely diagnosed as a contributor to infectious diseases. As well as, to search for alternative treatments of plant origin against these bacteria.

During the study period, a total of 400 unduplicated strains of *Enterobacteriaceae* were isolated from urine samples. The species: *E. coli* (n=155), *K. pneumoniae* (n=39), *E. cloacae* (n=39), *R. ornithinolytica* (n=25), and *Kluyvera spp* (n=22) dominated the bacteriological profile. 63,75% of the strains studied were multiresistant to antibiotics. ESBL production was detected in 238 strains among them. However, the co-occurrence of ESBL-type beta-lactamases and AmpCs, CPs, and MBLs was observed in 36.47%, 30.58%, and 23.13% of the multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* strains, respectively. On the other hand, molecular characterization of β -lactam resistance genes showed that CTX-M type β -lactamases were predominant (70%), followed by NDM (50%), TEM and SHV with (30%) and VIM and OXA-48 with (20%), while DHA type Cephalosporinase was found in only one strain of *E. cloacae*. Moreover, in this study we present for the first-time cases of co-production of several types of β -lactamases within the same strain of *Enterobacteriaceae*. On the other hand, the inhibitory effect of essential oils and phenolic extracts of *O. majorana* L., *M. communis* L., and *S. officinalis* L. on the growth of beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* (ESBL, CHN, and CP) showed strong in vitro activity at deficient concentrations against these multi antibiotic-resistant strains.

Keywords: Urinary tract infections, *Enterobacteriaceae*, β -lactamases, ESBL, Cephalosporinase, Carbapenemase.

Résumé

Les infections urinaires due aux Entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE), des Céphalosporinases plasmidiques (AmpC) et des Carbapénèmases (CP) constituent un risque infectieux croissant en santé public, et peuvent conduire à des impasses thérapeutiques. Jusqu'à présent, aucune donnée n'est disponible pour connaître l'état épidémiologique actuel des infections urinaires associées aux Entérobactéries multi-résistantes, ni pour connaître les différents types des bêta-lactamases produits par ces bactéries dans les hôpitaux de Tébessa.

Dans ce contexte, l'objectif de la présente étude était d'examiner la production de BLSE, d'AmpC et de CP par diverses méthodes phénotypiques et leur co-occurrence parmi les Entérobactéries uropathogènes multirésistantes, de détecter la production de certains gènes qui codent ces enzymes chez diverses espèces d'Entérobactéries. Ainsi que, de rechercher des biomolécules alternatives d'origine végétale contre ces bactéries.

Au cours de la période d'étude, un total de 400 souches non dupliquées d'Entérobactéries a été isolé à partir des prélèvements urinaires. Les espèces : *E. coli* (n=155), *K. pneumoniae* (n=39), *E. cloacae* (n=39), *R. ornithinolytica* (n=25), et de *Kluyvera* spp (n=22) domines le profile bactériologique. 63,75 % des souches étudiés étaient multirésistantes aux antibiotiques. La production BLSE a été détectée chez 238 souches parmi eux et la co-occurrence de bêta-lactamases de types BLSE et les AmpCs, les CPs et les MBLs a été observée respectivement dans 36,4%, 30,58% et 23,13% des souches d'Entérobactéries mutirésistantes. En revanche, la caractérisation moléculaire de gènes de résistance au β -lactamine montre que les β -lactamases de type CTX-M étaient prédominantes (70%), suivi de NDM (50%), de TEM et SHV avec (30%) et de VIM et OXA-48 avec (20%), tandis que la Céphalosporinase de type DHA était retrouvé chez une seule souche de d'*E. cloacae*. De plus, dans cette étude nous présentons pour la première fois des cas de co-production de plusieurs types de β -lactamases au sein de la même souche d'Entérobactérie. D'un autre côté, l'effet inhibiteur des huiles essentielles et des extraits phénoliques de l'*O. majorana* L., le *M. communis* L. et le *S. officinalis* L. sur la croissance des Entérobactéries productrices de bêta-lactamases (BLSE, CHN et CP) a montré une forte activité in vitro à des très faibles concentrations contre ces souches multirésistantes aux antibiotiques.

Mots clés : Infections urinaires, Entérobactéries, β -lactamases, BLSE, Céphalosporinase, Carbapénémase.

Dédicaces

Je tiens à dédier cet humble travail à :

A ma chère mère,

A mon cher père,

*Pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur confiance en moi,
leur soutien et leurs prières tout au long de mes études.*

A mon frère, Mohammed

A mes chères sœurs Bouchra, Takoua et Douaa

Pour leurs indéfectibles soutiens et leurs patiences infinies.

A ma chère sœur Anfel et son mari Farid

A ses enfants « mes petits anges » Oussama et Ilyas

Pour ses soutiens moraux et leurs conseils précieux tout au long de mes études.

A mon cher Omar, et sa famille

Qui m'a aidé et supporté dans les moments difficiles.

A ma chère amie Roumaïssa

Pour son entente et sa sympathie.

A toute ma famille

Et à mes chères amies

A tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment

Remerciements

Je remercie en premier lieu ALLAH Tout - Puissant qui m'a donné la santé, le courage et la patience pour terminer ce travail.

Je tiens à exprimer mes plus vifs remerciements à mon directeur de thèse, le professeur Mechai Abdelbasset, pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils, qui ont contribué à alimenter ma réflexion.

Je remercie également, ma co-directrice de thèse, Madame le docteur Debabza Manel pour son soutien, son dynamisme et son encouragement. Merci de m'avoir encouragé et de m'avoir fait confiance pour la réalisation de ce projet de recherche.

Mes remerciements vont également à madame le professeur Djebbar Fouziai qui m'a fait l'honneur de présider ce jury, qu'il reçoive ici l'expression de ma profonde reconnaissance. Je remercie également les membres du jury ; Dr. Menasria Taha, Dr. Ayari Adel et Dr. Smaali Saoussene » Qui ont eu la gentillesse d'accepter notre invitation à juger ce travail. Toutes mes reconnaissances Mesdames et Messieurs.

J'adresse mes sincères remerciements à tous mes professeurs, qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques ont guidé mes réflexions particulièrement je cite Dr. Benhadj Mabrouka, le Dr. Menasria Taha, la Pr. Djabbar Fouzia, le Pr. Tine Samir, Dr. Fenghour Hind et Mme Azizi Nassima.

Mes remerciements ne peuvent s'achever, sans une pensée pour mon premier fan, mon idole et ma force dans la vie : MON PERE. Sa présence et ses encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais.

Je voudrais exprimer ma profonde gratitude, mon amour et mes remerciements à ma mère. Je la remercie pour ses précieux conseils, pour son soutien, pour ses encouragements

et pour m'avoir élevé dans un climat toujours serein, à l'abri de tout souci affectif, qui m'a accordé tout son temps et ses efforts avant que je ne demande, tes questions et tes remarques lucides m'ont fait avancer et en c'est en te regardant faire que j'ai appris à me battre pour ce qui était important dans la vie.

Je remercie énormément mes frères : MOHAMED, ANFEL, BOUCHRA, TAKOUA et DOUAA, qui ont su me soutenir, me supporter, m'encourager . . . pendant toute la durée de mathèse et plus particulièrement durant les derniers mois de rédaction qui n'ont pas toujours été plus agréables. Sans vous, je ne serais pas là aujourd'hui. Cette thèse et moi vous dois beaucoup. Merci.

Je serais tout particulièrement gré à ma collaboratrice et amie, Dr. Metrouh Roumaïssa, pour leur sympathie, leur amitié, leur aide et leur bonne humeur. J'ai eu beaucoup de plaisir de travailler avec elle.

Je souhaite remercier aussi mon fiancé, le Dr SALHI Omar pour son soutien quotidien indéfectible et son enthousiasme contagieux.

J'adresse également toutes mes gratitudes à tous les doctorants, à toutes les personnes formidables que j'ai rencontrées durant mon cursus, à mes amis et à toutes les personnes qui m'ont aidé dans la réalisation de ce travail. Sans oublier ma famille, particulièrement mon oncle Abd El Hafid pour leurs encouragements et aide durant ces années de travail.

Je remercie également tous les médecins, médecins biologistes, des pharmaciens, les infirmières, les techniciens du laboratoire, les aides-soignants des hôpitaux de Tébessa, pour leur sympathie, leur disponibilité, mais surtout pour m'avoir facilité le recueil des prélèvements.

Merci

Table des matières

ملخص	
Abstract	
Résumé	
Dédicace	
Remerciement	
Table des Matières	
Liste des Tableaux	
Liste des Figures	
Liste des Abréviations	
Partie Bibliographique	
Introduction Générale	02
Partie Expérimentale	
Matériels et Méthodes	29
i. Plan de l'étude	29
ii. Cadre d'étude (Lieu et période d'étude)	30
iii. Objectifs du travail	31
iv. Méthodes	32
I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrice de BLSE, CHN et de CP	33
1. Prélèvement	33
1.1. Techniques de Prélèvement	33
1.2. Transport et conservation des prélèvements	34
2. Isolement des germes	34
2.1. Purification	35
2.2. Conservation des souches	35
3. Identification des souches	35
3.1. Test préliminaire (Test de l'oxydase)	35
3.2. Identification de souches : (Galerie API 20E)	36
4. Sensibilité aux antibiotiques	39
5. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines	41

5.1. Détections phénotypiques des β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	41
5.1.1. Test de synergie	42
5.1.2. Test de confirmation ou technique du double disque	43
5.2. Détections phénotypiques des Céphalosporinases à haut niveau (CHN)	44
5.2.1. Test à la cloxacilline	44
5.3. Détections phénotypiques des Carbapénèmases	45
5.3.1. Test Carbapenemase Nordmann-Poirel (carba NP)	46
5.3.2. Recherche des Carbapénèmase classe B « Métallo Béta-Lactamase MBL »	49
5.3.2.1. Test de disque combiné « Imipénem(IMP)-EDTA ou Erthapénème (ETP)- EDTA »	50
5.3.2.2. Test de synergie à double disque Imipénem-EDTA	51
II. Caractérisation moléculaire du gène de BLSE, de CP et de CHN	52
1. Extraction des ADN total	52
2. PCR (Polymerase Chain Reaction) :	52
3. Electrophorèse sur gel d'agarose	56
III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatifs thérapeutique contre les Entérobactéries productrice de BLSE, de CHN et de CP	59
1. Matériel végétal et Identification botanique	59
1.1. Préparation de l'échantillon végétale pour l'extraction	61
2. Souches bactérienne	62
3. Activité antibactérienne	62
3.1. Activité antibactérienne des Huiles essentielles	62
3.1.1 Extraction des huiles essentielles	62
3.1.2. Détermination des rendements en huiles essentielles	63
3.1.3. Chromatographie Gazeuse couplée Spectromètre de Masse (GC-MS)	63
3.1.4. Activité inhibitrice des HE des plantes sur les Entérobactéries productrices de béta-lactamase	64
3.1.4.1. Aromatogramme : La méthode de Vincent	64
3.1.4.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)	65
3.1.4.3. Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)	66
3.2. Activité antibactérienne des extraits polyphénolique	66

3.2.1. Préparation des extraits	66
3.2.2. Détermination de rendement d'extraction	68
3.2.3. Dosage des polyphénols totaux	68
3.2.4. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques	69
3.2.4.1. Méthode de diffusion sur disque	69
3.2.4.2. Détermination de MIC et CMB pour les extraits polyphénolique	69
4. Analyses statistiques	71
Résultats	
I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrice de BLSE, CHN et de CP	73
1. Prélèvements	73
2. Profil épidémiologique des Entérobactéries responsable d'infection urinaires	73
2.1. Identification des souches	73
2.2. Répartition globale des Entérobactéries	75
2.1.1. Répartition des Entérobactéries isolées en fonction des services	75
2.1.2. Répartition des Entérobactérie en fonction de l'âge et de sexe (Caractéristiques des patients)	75
2.2. Etude de la résistance aux antibiotiques	76
2.2.1. Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques	76
2.2.2. Résistance aux antibiotiques des espèces dominants	78
2.2.2.1. Résistance d' <i>E. coli isolée</i> aux antibiotiques	78
2.2.2.2. Résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolée aux antibiotiques	79
2.2.2.3. Résistance d' <i>Enterobacter cloacae</i> isolée aux antibiotiques	80
2.2.2.4. Résistance de <i>Raoultella ornithinolytica</i> isolée aux antibiotiques	81
2.2.2.5. Résistance de <i>Kluyvera</i> spp isolée aux antibiotiques	82
3. Profil épidémiologique des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (EMR)	83
3.1. Répartition des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) selon les espèces	83
3.2. Répartition globale des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques	84

3.3. Résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries multi-résistantes (EMR) isolées	84
4. Les Entérobactéries pan-résistantes (BPR)	86
5. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines	87
5.1. Détections phénotypiques des β -lactamases à spectre élargi (BLSE)	87
5.1.1. Répartition des Entérobactéries-BLSE (E-BLSE) selon les espèces	87
5.1.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de BLSE	88
5.1.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries BLSE	89
5.2. Détections phénotypiques des Céphalosporinase haut niveau (CHN)	91
5.2.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction d'espèce	91
5.2.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de CHN	92
5.2.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries CHN	93
5.3. Détections phénotypiques des Carbapénèmase (CP)	95
5.3.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-CP en fonction d'espèce	95
5.3.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de Carbapénèmases	96
5.3.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices des Carbapénèmase	98
5.4. Détections phénotypiques des Métallo-Béta-Lactamases (M β Ls)	100
5.4.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-MBL en fonction d'espèce	101
5.4.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de métallo-bétalactamase (E-MBL)	101
5.4.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices des métallo- β -lactamases	103
II. Caractérisation moléculaire des gènes de BLSE, de CP et de CHN	106
1. Caractérisation des gènes codant pour la production des BLSE	106
1.1. BLSE de type CTX-M	106
1.2. BLSE de type SHV	106
1.3. BLSE de type TEM	107
2. Caractérisation des gènes codant pour la production des Céphalosporinases plasmidiques AmpC	108
2.1. AmpC de type DHA-1	108
3. Caractérisation des gènes codant pour la production des Carbapénèmase	108

3.1. Carbapénèmase de type NDM	108
3.2. Carbapénèmase de type VIM	109
3.3. Carbapénèmase de type OXA-48	110
4. Co-expression des gènes de résistance aux β -lactamines	110
III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatifs thérapeutiques contre les Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP	114
1. Effet des huiles essentielles des plantes aromatiques retenues sur les souches d' <i>Entérobactéries</i> productrices de bêta-lactamases	115
1.1. Les rendements en huiles essentielles et leurs caractères organoleptiques	115
1.2. Composition chimique des huiles essentielles extraites	115
1.3. Etude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles	120
1.3.1. Méthode de disque (Aromatogramme)	120
1.3.2. Concentration minimale inhibitrice et minimale bactéricide des HES	122
2. Effet des extraits polyphénoliques des plantes médicinales sur la croissance in vitro souches d' <i>Entérobactéries</i> productrices de BLSE, de CHN et de CP	124
2.1. Les rendements des extraits et leurs caractères organoleptiques	124
2.2. Dosage des polyphénols totaux	125
2.3. Tests d'activités antibactériennes	126
2.3.1. Méthode de diffusion des disques sur milieu gélose	126
2.3.2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits testés	131
Discussion	
I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrices de BLSE, CHN et de CP	142
1. Profil épidémiologique des Entérobactéries responsables d'infections urinaires	142
2. Profil épidémiologique des Entérobactéries multi-résistantes (EMR)	151
3. Profil épidémiologique des Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP	153

4. Profil de résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP	165
4.1. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrice de BLSE	165
4.2. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrice de BLSE/CHN	169
4.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices de CP	171
II. Caractérisation moléculaire des gènes codant pour les BLSE, les CHN et les CP	173
1. Caractérisation des gènes codant pour la production des BLSE	174
2. Caractérisation des gènes codant pour la production des Céphalosporinases plasmidiques AmpC	177
3. Caractérisation des gènes codant pour la production des Carbapénèmase	178
4. Co-expression des gènes de résistance aux β -lactamines	181
III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatifs thérapeutique contre les Entérobactéries productrice de BLSE, de CHN et de CP	183
1. Rendements et compositions chimiques des huiles essentielles extraites	184
2. Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles	189
3. Rendements et dosage des polyphénols totaux des extraits phénoliques	192
4. Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques	194
Conclusion générale, perspectives et recommandations	197
Références bibliographiques	203
Annexes	267

Liste des tableaux

N°	Titre de Tableau	Page
01	Liste des antibiotiques testés par familles.	40
02	Préparation des boîtes de gélose à la Cloxacilline.	44
03	Interprétation des résultats de test Carba NP.	49
04	Les Amorces utilisés pour les PCR.	54
05	Données sur les espèces végétales retenues et leurs utilisations.	60
06	Répartitions des résultats en fonction de la positivité des ECBU.	73
07	Répartition des Entérobactéries isolées selon les espèces et les genres.	74
08	Profil de sensibilité des souches testé des Entérobactéries aux antibiotiques.	76
09	Caractéristiques clinique et démographiques des patients infectés par les Entérobactéries pan-résistantes.	86
10	Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de CHN.	92
11	Profil de résistance aux antibiotiques et caractéristiques générales et moléculaires des souches de <i>Raoultella spp</i> utilisées pour la détermination des gènes codants pour les enzymes BLSE, CHN et CP.	111
12	Profil de résistance aux antibiotiques et caractéristiques générales et moléculaires des souches de <i>Enterobacter spp</i> , <i>E.coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>Serratia liquefaciens</i> utilisées pour la détermination des gènes codants pour les enzymes BLSE, CHN et CP.	113
13	Rendements et caractéristiques organoleptiques des huiles essentielles d' <i>O majorana L.</i> , de <i>M communis L.</i> et de <i>S officinalis L.</i>	115
14	Composition des huiles essentielles des feuilles d' <i>Origanum majorana L.</i>	116
15	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Myrtus communis L.</i>	117
16	Composition chimique des huiles essentielles de <i>Salvia officinalis L.</i>	119
17	Les diamètres des zones d'inhibition des différentes huiles essentielles testés (moyenne \pm écart type).	121
18	Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des huiles essentielles en μ l/ml.	123
19	Rendements et caractères organoleptiques des extraits phénoliques obtenus	124

20	Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles de <i>Origanum majorana</i> L. relatives aux différentes souches d'Entérobactéries testées.	127
21	Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. relatives aux différentes souches d'entérobactéries testées	128
22	Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L. relatives aux différentes souches d'entérobactéries testées	130
23	Les CMI et les CMB (mg/mL) des fractions de l'espèce <i>Origanum majorana</i> L. vis-à-vis les souches d'Entérobactéries testées et leur pouvoir bactériostatique ou bactéricide.	132
24	Les CMI et les CMB (mg/mL) des fractions de l'espèce <i>Myrtus communis</i> L. vis-à-vis les souches d'Entérobactéries testées et leur pouvoir bactériostatique ou bactéricide.	135
25	Les CMI et les CMB (mg/ml) des fractions de l'espèce <i>Salvia officinalis</i> L. vis-à-vis des 21 souches testées et leur pouvoir bactériostatique ou bactéricide.	138
26	Comparaison des pourcentages des Entérobactéries isolés des prélèvements urinaires avec d'autres études.	142
27	Comparaison des ratios de distribution des Entérobactéries par espèce.	143
28	Comparaison avec d'autres études de la prévalence des Entérobactéries uropathogènes selon le sexe des patients.	145
29	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis aux quelques antibiotiques de la famille des bêta-lactamine (Pénicillines et Céphalosporines).	147
30	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis quelques antibiotiques de la classe de Carbapénèmes.	148
31	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis aux antibiotiques de la famille des Aminoglycosides.	149
32	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis aux antibiotiques de la famille des fluoroquinolones.	150
33	Variation de prévalence des E-BLSE et des E-CHN uropathogènes en fonction de pays.	156

34	Comparaison des résultats de la répartition des E-EBLS uropathogènes selon les espèces	157
35	Variation de prévalence des E-CP et des E-MBL uropathogènes en fonction de pays.	158
36	Comparaison des résultats de la production de CP par les trois espèces <i>E. coli</i> , <i>K. pneumoniae</i> et <i>E. cloacae</i> .	159
37	Comparaison des taux de répartition des Entérobactéries uropathogènes productrice de BLSE, de CHN et de CP selon le sexe des patients.	161
38	Catégorie d'âge prédominante chez les patients porteurs d'E-BLSE, d-CHN et d'E-CP.	162
39	Comparaison des taux de distribution des E-BLSE, des E-CHN et des E-CP uropathogènes selon le service.	164
40	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis quelque antibiotique de la famille des bêta-lactamine.	166
41	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis quelques antibiotiques des familles des Aminoglycosides et des fluoroquinolones.	167
42	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis à la nitrofurantoïne, à la Cotrimoxazole et à la Fosfomycine.	168
43	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries copductrices de BLSE/CHN vis-à-vis quelque antibiotique de la famille des bêta-lactamine.	170
44	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE/ CHN vis-à-vis quelques antibiotiques des familles des Aminoglycosides, des fluoroquinolones et d'autres familles.	171
45	Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries productrices de Carbapénèmase vis-à-vis quelque antibiotique de la famille des bêta-lactamine.	172
46	Comparaison des taux de résistance des souches d'E-CP vis-à-vis quelques antibiotiques de la famille d'Aminoglycosides, de fluoroquinolones et d'autres familles.	173
47	Comparaison des pourcentages de détection de <i>bla</i> _{CTX-M} chez des souches d'Entérobactéries uropathogènes.	175

48	Comparaison des pourcentages de détection de <i>bla</i> _{TEM} et <i>bla</i> _{SHV} chez des souches d'Entérobactéries uropathogènes.	176
49	Comparaison des pourcentages de détection de <i>bla</i> _{DHA} chez des souches d'Entérobactéries uropathogènes.	177
50	Comparaison des pourcentages de détection de <i>bla</i> _{NDM} , <i>bla</i> _{VIM} et <i>bla</i> _{OXA-48} chez des souches d'Entérobactéries uropathogènes.	180
51	Variation du rendement en huiles essentielles en fonction de l'origine d'OM, du MC et du SO et de la période de récolte.	185
52	Composition chimique des huiles essentielles des feuilles d' <i>Origanum majorana</i> en fonction de leur origine.	186
53	Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de <i>Myrtus communis</i> L. en fonction de leur origine.	188
54	Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de <i>Salvia officinalis</i> L. en fonction de leur origine.	189

Liste de figures

N°	Titre de figure	Page
01	Les structures chimiques du membre des groupes d'antibiotiques bêta-lactamines.	08
02	La structure chimique des membres de la classe des antibiotiques aminoglycosides.	09
03	Structures chimiques et classification de plusieurs fluoroquinolones	11
04	Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame par une β -lactamase.	13
05	Substitutions en acides aminés décrites chez les BLSE de type TEM.	17
06	Substitutions en acides aminés décrites chez les BLSE de type SHV.	18
07	Dendrogramme de la famille CTX-M.	19
08	L'arbre phylogénétique de la classe D des β -lactamases de la famille OXA.	20
09	Schéma du protocole de recherche.	32
10	Les étapes d'identification des souches par API 20 E.	38
11	Protocole suivie pour la détection de la production de BLSE.	41
12	Disposition des disques pour le test de synergie.	42
13	Technique de test double disque (test confirmation d'une BLSE.	43
14	Algorithme phénotypique de criblage des souches d'Entérobactéries productrices de Carbapénémases.	46
15	(A) Principe et résultats du Carba NP, (B) Résultats du test Carba NP.	47
16	Technique de test de disque combiné « Imipénem (IMP)-EDTA ».	50
17	Technique de test de synergie à double disque Imipénem-EDTA (DDST).	51
18	Les étapes de la Polymerase Chain Reaction (PCR).	55
19	Les étapes de technique d'électrophorèse sur gel d'agarose.	58
20	Préparation matériel végétale pour l'extraction.	61
21	Montage d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.	63
22	Activité antibactérienne par la méthode de diffusion du disque.	64
23	Les étapes de fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique (extraction des polyphénole).	67
24	Répartition des souches d'Entérobactéries isolées par services.	75
25	Répartition des souches d'Entérobactéries isolés selon les tranches d'âge et le sexe de patients.	76

26	Profil de sensibilité aux antibiotiques des <i>Escherichia coli</i> isolées.	78
27	Profil de sensibilité aux antibiotiques des <i>Klebsiella pneumoniae</i> isolées.	79
28	Profil de sensibilité aux antibiotiques d' <i>Enterobacter cloacae</i> isolées.	80
29	Profil de résistance aux antibiotiques des <i>Raoultella ornithinolytica</i> isolées.	81
30	Profil de résistance aux antibiotiques des <i>Kluyvera</i> spp isolées.	82
31	Répartition des souches d'entérobactéries multi-résistantes en fonction d'espèce.	83
32	Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-BMR.	85
33	Résultats de la recherche de β -lactamase à spectre élargi (BLSE) par la technique de la synergie (A) et double disque (B).	87
34	Répartition des Entérobactéries-BLSE (E-BLSE) selon les espèces.	88
35	Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de BLSE.	88
36	Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-BLSE.	90
37	Résultat du test à la Cloxacillin pour une souche de <i>K. pneumoniae</i> A : milieu MH / B : milieu MH+cloxacilline.	91
38	Répartition des souches d'Entérobactéries productrice de CHN en fonction d'espèce.	92
39	Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-CHN.	94
40	Résultats représentatifs du test modifié de Carba NP.	95
41	Répartition des Entérobactéries-carbapénèmase (EPC) selon les espèces.	95
42	Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de Carbapénèmase.	96
43	Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-CP.	99
44	Détection phénotypique des métallo-bêta-lactamases par test de disque combiné.	100
45	Répartition des Entérobactéries- métallo-bêta-lactamase (E-MBL) selon les espèces.	101
46	Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de métallo- β -lactamase.	102
47	Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-MBL.	104
48	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{CTX-M}</i> .	106

49	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{SHV}</i> .	107
50	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{TEM}</i> .	107
51	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{AmpC}</i> (DHA).	108
52	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{NDM}</i> .	109
53	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{VIM}</i> .	109
54	Profil électrophorétique des amplicons du gène <i>bla_{OXA-48}</i> .	110
55	Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries utilisées pour l'évaluation de l'effet antibactérienne des principes actifs de plantes médicinales.	114
56	Effet des huiles essentielles testées sur une souche de <i>Citrobacter freundii</i> (S365) A : <i>Origanum majorana</i> L. B : <i>Myrtus communis</i> L. C : <i>Salvia officinalis</i> L.	120
57	Résultats de la détermination de CMI pour l'HE de <i>Myrtus communis</i> L. sur les trois souches S14, S95 et S121.	122
58	Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de <i>O. majorana</i> L., <i>M. communis</i> L. et de <i>S. officinalis</i> L.	125
59	Photographies des zones d'inhibition obtenues par les extraits d' <i>Origanum majorana</i> L. sur la souche <i>Kluyvera spp</i> (S24) (A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.	126
60	Photographies des zones d'inhibition obtenues par les extraits de <i>Myrtus communis</i> L sur la souche <i>E. cloacae</i> (S09) (A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.	128
61	Photographies des zones d'inhibition obtenues par les extraits de <i>Salvia officinalis</i> L. sur la souche <i>S. liquefaciens</i> (S399) (A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.	129
62	Photographies des CMI obtenues par les extraits d' <i>Origanum majorana</i> L. sur la souche <i>E. coli</i> (S34).	131
63	Photographies des CMI obtenues par les extraits de <i>Myrtus communis</i> L. sur la souche <i>E. coli</i> (S34).	134
64	Photographies des CMI obtenues par les extraits de <i>Salvia officinalis</i> L. sur la souche <i>E. coli</i> (S34).	137

Liste des abréviations :

ADC :	Acinetobacter-derived cephalosporinases.
ADN :	Acide désoxyribonucléique.
AmpC :	AmpC β -lactamases à médiation plasmidique (β -lactamases de classe C).
APEC :	<i>E. coli</i> pathogènes aviaires.
ArmA :	Aminoglycoside resistance methylase.
ATBs :	Antibiotiques.
BES-1 :	Brazilian extended spectrum
BMH :	Bouillon mueller hinton.
BMR :	Bactéries multirésistantes aux antibiotiques.
BPR :	Bactéries pan-résistante.
BTR :	Bactéries toto-résistante.
CASFM :	La Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme.
CHDL :	Béta-lactamases de classe D hydrolysant des Carbapénèmes.
CHN :	Céphalosporinase à haut niveau.
CLSI :	Clinical & Laboratory Standards Institute.
CMY :	Cephameycine.
CNP :	CarbaNP.
CP :	Carbapénémase.
CTX-M :	Céfotaximase-Munich.
C2G :	Céphalosporines de 2 ^{ème} génération.
C3G :	Céphalosporines de 3 ^{ème} génération.
DAEC :	<i>E. coli</i> à adhérence diffuses.
DHA :	Dhahran hospital in Saudi Arabia.
DOS :	Deoxystreptamine–nucleobase.
EAggEC :	<i>E. coli</i> entéro-agrégatifs.
E-BLSE :	Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu.
E-CHN :	Entérobactéries productrices de céphalosporinase à haut niveau.
E CHCl ₃ :	Extrait de chloroforme.
EDTA :	Ethylenediamin tetraacetic acid.
E EtOAc :	Extrait d'Acétate d'éthyle
EHEC :	<i>E. coli</i> entéro-hémorragiques

EIEC :	<i>E. coli</i> entéro-invasifs.
EMA :	Enzymes modifiant les Aminoglycosides
E-MBL :	Entérobactéries productrices de métallobêta-lactamase.
E n-BuOH :	Extrait de n-Butanol.
E-PC :	Entérobactéries productrices de carbapénèmase.
EPEC :	<i>E. coli</i> entéro-pathogènes
ETEC :	<i>E. coli</i> entérotoxigènes.
ExPEC :	<i>E. coli</i> pathogènes extraintestinaux.
FDA :	Food and Drug Administration (l'administration américaine des denrées alimentaires et des médicaments).
GC-MS :	Chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse.
GES :	Guiana Extended Spectrum bêta-lactamase.
HE :	Huiles essentielles.
hvKPs :	<i>K. pneumoniae</i> hypervirulentes.
IBL :	Bêta-lactamases inductibles.
IntEC :	<i>E. coli</i> pathogènes intestinaux.
ISEcp1 :	Insertion sequences Ecp1.
IVU :	Infections des voies urinaires.
IVUN :	Infections urinaires nosocomiales.
LPS :	Lipopolysaccharide.
MBL :	Métallobêta-lactamase.
MC :	<i>Myrtus communis</i> L.
NDM :	New Delhi metallo- β -lactamase.
NMEC :	<i>E. coli</i> de la méningite néonatale
OM :	<i>Origanum majorana</i> L.
OmpF :	Outer membrane protein F (protéine de membrane externe F).
OmpC :	Outer membrane protein C (protéine de membrane externe C).
OXA :	Oxacillinases.
PAM :	Plantes aromatiques-médicinales
PBP :	Penicillin-binding proteins.
PCR :	Polymerase Chain Reaction
PER-1:	Pseudomonas extended resistance.
PMQR :	Résistance aux quinolones médiée par les plasmides.

PLP :	Orotéines liant la pénicilline
PP :	Phospholipides.
qepA :	Pompes d'efflux de quinolones à médiation plasmidique.
QRDR :	Région déterminant la résistance aux Quinolones.
RmtC :	16S rRNA methyltransferases C.
SFO-1 :	<i>Serratia fonticola</i> .
SHV :	Sulfhydryl variable.
SO :	<i>Salvia officinalis L.</i>
STEC :	<i>E. coli</i> producteurs de toxine de Shiga.
TAE :	Tris, Acétate, EDTA.
TBE :	Tris, Borate, EDTA
TEM :	Temoneira.
TRI :	Temoneira résistantes aux inhibiteurs.
UPEC :	<i>E. coli</i> uropathogènes.
VEB :	Lactamase.Vietnamasse Extended Spectrum bêta
VIM :	Verona integron-encoded metallo- β -lactamase.
VTEC :	<i>E. coli</i> producteurs de cytotoxine de Vero.

Partie Bibliographique

Introduction générale

Les infections des voies urinaires (IVU) font partie des infections bactériennes les plus courantes, touchant 150 millions de personnes chaque année dans le monde. Elles constituent une cause importante de morbidité chez les garçons, les hommes plus âgés et les femmes de tous âges (**Flores *et al.*, 2015**).

Le terme infection urinaire regroupe un ensemble hétérogène d'infections de l'un des constituants du tractus urinaire ou de ses annexes (**Lobel et Soussy, 2007**). Il s'agit de l'ensemble des situations cliniques hétérogènes qui ont comme caractéristique commune la présence de quantités significatives de bactéries dans les urines (**Brahmi, 2013**). Sur le plan clinique, les IVU sont classées selon qu'elles sont simples ou compliquées. Cette distinction a une incidence sur la prise en charge et sur le traitement. Les infections urinaires non compliquées touchent généralement des personnes qui sont par ailleurs en bonne santé et qui ne présentent aucune anomalie structurelle ou neurologique des voies urinaires (**Nielubowicz, 2010 ; Hooton, 2012**). Alors que, les infections urinaires sont appelées compliquées en cas de présence de facteurs de risque comme certaines conditions physiologiques, pathologiques ou mécaniques (**Flores *et al.*, 2015**).

Anatomiquement, ces infections sont différenciées aussi en infections urinaires hautes (pyélonéphrites) localisées au niveau des reins et infections urinaires basses (cystites) touchant la vessie (**Hannan *et al.*, 2012**). Cependant, certains y incluent les infections associées de certaines annexes génitales (la prostatite, parfois l'épididymite et l'urétrite) (**Lobel et Soussy, 2007**).

Plusieurs facteurs de risque sont associés à la cystite, notamment le sexe féminin car l'urètre féminin est court (3-4 cm) et topographiquement proche du vagin et du périnée qui sont régulièrement colonisés par des bactéries d'origine fécale ; en revanche, l'urètre masculin mesure environ 20 centimètres de long et est moins exposé aux infections. De plus, la sécrétion prostatique présente certain caractère antimicrobien (**Bennouar, 2016**). Les infections urinaires antérieures, les activités sexuelles, les infections vaginales, le diabète, l'obésité et la susceptibilité génétique sont également des facteurs qui augmentent le risque d'infections urinaires non compliquées. Alors que les infections urinaires compliquées sont définies comme des infections associées à des facteurs qui compromettent les voies urinaires ou la défense de l'hôte, notamment l'obstruction urinaire, la rétention urinaire causée par une maladie neurologique, l'immunosuppression, l'insuffisance rénale, la transplantation rénale, la grossesse et la présence de corps étrangers tels que les calculs rénaux,

Introduction générale

les cathéters à demeure ou d'autres dispositifs de drainage (**Lichtenberger et Hooton, 2008 ; Levison et Kaye, 2013**).

Ces infections urinaires est considérée comme nosocomiale lorsqu'elle est liée à la prise en charge des patients. C'est-à-dire qu'elles étaient absentes au moment de l'admission du patient à l'hôpital et donc si elles ont été infectées pendant le soin. En général, cette possibilité est prise en compte lorsque l'infection survient après 48 heures d'admission. L'origine des bactéries nosocomiales est endogène (la flore du patient) dans les deux tiers des cas. En revanche, les patients porteurs de cathéters urinaires à demeure, ceux qui subissent une chirurgie et des manipulations urologiques, les patients âgés de sexe masculin en séjour de longue durée et les patients atteints de maladies débilitantes courent un risque élevé de développer des UTIN (**Iacovelli et al., 2014**).

Les micro-organismes les plus incriminés dans les infections urinaires sont les bacilles à Gram négatif, dont les Entérobactéries sont les principales pourvoyeuses de ce type d'infections et principalement *Escherichia coli* ($\approx 80\%$), *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia* spp et *Citrobacter* spp (**Millán-Rodríguez et al., 2006 ; Kim et al., 2014**).

Escherichia coli, également appelé colibacille, est l'espèce type du genre *Escherichia*, (**Avril et al., 2000**). La majorité des souches d'*E. coli* sont des commensaux habitant le tractus intestinal de l'homme et des animaux à sang chaud (**Ramos et al., 2020**). Son implantation dans le tractus digestif se produit dans les premières heures suivant la naissance (**Kaper et al., 2004**). Mais un sous-ensemble d'*E. coli* est responsable de diverses pathologies (**Jaureguy, 2009**), elle est retrouvée dans 70-95% des cas d'infections communautaires et 30-50% des cas d'infections nosocomiales (**Alanazi et al., 2018 ; Kang et al., 2018**).

En fonction du type de facteur de virulence présent et des symptômes cliniques de l'hôte, les souches d'*E. coli* pathogènes sont classées en deux grands groupes (**Lindstedt et al., 2018**). Le premier groupe nommé *E. coli* pathogènes intestinaux (IntEC) est à l'origine de syndromes diarrhéiques et comprend les groupes pathogènes ou pathovars. Il s'agit des *E. coli* entéropathogènes (EPEC), des *E. coli* entérotoxinogènes (ETEC), des *E. coli* entéro-invasifs (EIEC), des *E. coli* entéro-agrégatifs (EAaggEC), des *E. coli* à adhérence diffuse (DAEC), des *E. coli* entéro-hémorragiques (EHEC) et des *E. coli* producteurs de cytotoxine de Vero (VTEC) ou des *E. coli* producteurs de toxine de Shiga (STEC) (**Alizade et al., 2019**). Le deuxième

Introduction générale

groupe, nommé *E.coli* pathogènes extra-intestinaux (ExPEC), regroupe les *E. coli* uropathogènes (UPEC), il s'agit des souches à l'origine d'infections du tractus urinaire, les *E. coli* de la méningite néonatale (NMEC), qui sont des souches à l'origine de méningites et de septicémies et les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC), qui sont fréquemment associés à des infections nosocomiales et communautaires (Nielsen *et al.*, 2020).

K. pneumoniae est une espèce ubiquitaire, elle peut être trouvée à la surface des muqueuses chez l'homme et les animaux, ou dans l'environnement comme l'eau, le sol, les eaux usées, les végétaux...etc. (Paczosa et Meccas, 2016). Chez l'homme, *K. pneumoniae* se concentre dans le tractus gastro-intestinal, et quelques-uns dans le nasopharynx, par lesquels la bactérie peut pénétrer dans la circulation sanguine ou dans d'autres tissus, puis provoquer une infection (Wang *et al.*, 2020).

Cette bactérie est un important pathogène opportuniste à l'origine de diverses maladies infectieuses, notamment des infections des voies urinaires, des pneumonies, des bactériémies et surtout de septicémie de pronostic sévère et des abcès du foie (Harada *et al.*, 2019 ; Wang *et al.*, 2020). Elle peut être responsable des infections graves principalement chez les personnes immunodéprimées, mais l'émergence et la propagation récentes de souches hypervirulentes (hvKPs) ont élargi le nombre de personnes susceptibles d'être infectées pour inclure les personnes en bonne santé et immunodéprimées (Li *et al.*, 2014 ; Paczosa et Meccas, 2016 ; Tang *et al.*, 2020).

Concernant *E. cloacae*, c'est l'espèce la plus fréquemment isolée au sein du genre *Enterobacter* (Souana, 2015). On le trouve couramment dans l'environnement (dans l'eau et le sol) et peut être commensal dans les intestins des humains et des animaux (Wu *et al.*, 2019 ; Cao *et al.*, 2020). Les souches d'*E. cloacae*, ont été associées à des épidémies nosocomiales et sont considérées comme des pathogènes opportunistes (Pagotto, 2003 ; Hart, 2006). Elles sont responsables de la majorité des infections à *Enterobacter* chez l'homme et elles peuvent provoquer des infections chez les patients qui ont déjà reçu une thérapie antimicrobienne ou qui ont été admis dans une unité de soins intensifs (Qureshi *et al.*, 2011 ; Ioannou *et al.*, 2022). *E. cloacae* peut également causer de nombreux types d'infections telles que les abcès cérébraux, la pneumonie, les infections des voies urinaires (en particulier des IVU liées aux cathéters), les infections de la cavité abdominale ou des intestins, les infections intravasculaires, la méningite, les septicémies et les infections de plaies (Farmer *et al.*, 2007 ; Russo et Johnson, 2008 ; Ioannou *et al.*, 2022).

Introduction générale

Les *Serratia* spp. se trouvent dans l'eau, le sol, les animaux (dont l'homme), les insectes et les surfaces des végétaux (**Barman et al., 2020 ; Hegazy et al., 2021**). Le genre *Serratia* est composé de 18 espèces, dont la souche type est *Serratia marcescens* qui est utilisée comme marqueur biologique (**Khanna et al., 2013 ; Su et al., 2016**). Différentes espèces de ce genre sont considérées comme des agents pathogènes opportunistes, à savoir, *S. marcescens*, *S. plymuthica*, *S. liquefaciens*, *S. fonticola*, *S. rubidaea*, *S. odorifera*, *S. marmorubra* et *S. proteamaculans* (**Barman et al., 2020**). Ces espèces sont à l'origine d'une multitude d'infections, dont la pneumonie, la conjonctivite, les infections des voies urinaires, les infections des plaies chirurgicales, la septicémie, la méningite (**Clements et al., 2019 ; Cristina et al., 2019**), les infections liées aux cathéters intraveineux, l'ostéomyélite, l'endocardite et rarement l'endophtalmie endogène et exogène (**Van Houdt et al., 2007**).

De plus, les *Raoultella* spp. sont principalement considérés comme des bactéries environnementales (eau, sol, plantes) (**Olson et al., 2013 ; Seng et al., 2016**), mais au cours de la dernière décennie, *R. ornithinolytica* est devenue un agent causal peu fréquent mais important d'infections humaines (**Sandal et Ozen, 2014**). Cette espèce provoque principalement des infections systémiques, des infections des voies urinaires (**Seng et al., 2016**), des infections des voies biliaires, des pneumonies et des bactériémies chez les patients oncologiques et immunodéprimés (**Ponce-Alonso et al., 2016 ; Appel et al., 2021**). Les deux espèces *R. planticola* et *R. ornithinolytica* sont les agents pathogènes humains les plus fréquemment rencontrés dans ce genre (**Sękowska, 2017**).

Généralement, le traitement des infections urinaires repose sur l'utilisation de plusieurs antibiotiques (ATBs) appartenant à différentes familles à savoir les Fluoroquinolones, les bêta-Lactamines et les aminosides (**Cohen et al., 2015**). La durée du traitement varie en fonction de l'agent antibactérien utilisé et est également liée à d'autres facteurs tel que le germe causal de l'infection, le sexe du patient, la présence ou l'absence d'une sonde urinaire...etc. (**Le Saux et al., 2014**).

Dans cette intention, il est nécessaire de parler sur les différents antibiotiques utilisés dans les traitements des infections urinaires dues aux Entérobactéries, ainsi que de l'étendue de la propagation et les mécanismes de résistance de ces dernières vis à vis aux traitements actuellement disponibles.

Introduction générale

Par définition, les antibiotiques sont des substances chimiques capables d'inhiber ou de détruire les micro-organismes. Plus précisément, sont des molécules antibactériennes utilisés pour traiter ou prévenir les infections en tuant ou en inhibant la croissance des bactéries dans ou sur le corps (**Bentley et Bennett, 2003**). Un grand nombre des antibiotiques existants sont constitués de molécules naturelles, fabriquées par des micro-organismes (champignons ou d'autres bactéries). Cependant, d'autres sont des composés chimiques d'origine semi-synthétique ou synthétique (**Van Bambeke et Tulkens, 2008**).

L'action d'un antibiotique contre les micro-organismes est sélective par nature, certains organismes étant affectés et d'autres pas du tout ou seulement à un degré limité ; chaque antibiotique est donc caractérisé par un spectre d'activité spécifique (**Bentley et Bennett, 2003**). L'action sélective d'un antibiotique se manifeste également contre les cellules microbiennes par rapport aux cellules hôtes (**Gautier, 2007**).

La pouvoir antimicrobienne de la plupart des classes d'antibiotiques est dirigée vers une caractéristique unique de la structure bactérienne ou de leurs processus métaboliques (**Etebu et Arikekpar, 2016**). Ces molécules produisent leurs effets par le biais de divers mécanismes d'action à savoir : l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire, l'inhibition de la structure et de la fonction des acides nucléiques, l'inhibition de la synthèse des protéines, le blocage des voies métaboliques clés et la rupture de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire (**Madigan et Martinko, 2006 ; Talaro et Chess, 2008 ; Wright, 2010**).

La classification la plus courante des antibiotiques est basée sur leurs structures moléculaires, leur mode d'action, leur voie d'administration (injectable, orale et topique) et leur spectre d'activité (**Etebu et Arikekpar, 2016**). Les classes d'antibiotiques les plus courantes sont les Bêta-lactames, les Quinolones et les Aminoglycosides, en fonction de leur structure chimique ou moléculaire (**van Hoek *et al.*, 2011 ; Frank et Tacconelli, 2012 ; Adzitey, 2015 ; Etebu et Arikekpar, 2016**).

Les **Bêta-lactames** constituent la plus grande famille d'agents antimicrobiens. Vue leur large spectre antibactérien, leur activité bactéricide lente et dépendante du temps, leur faible toxicité et le vaste choix de molécules disponibles dans cette famille, elle constitue le groupe d'antibiotiques le plus largement utilisée dans la pratique clinique actuelle (**Suarez et Gudiol, 2009 ; Pandey et Cascella, 2019**).

Introduction générale

De point de vue biochimique, les bêta-lactames ont une caractéristique commune, qui est le cycle à 3 carbones et à 1 azote (cycle bêta-lactame) qui est très réactif (**Etebu et Ariekpar, 2016 ; Pandey et Cascella, 2019**). Cette classe est répartie en quatre principaux groupes : les Pénicillines, les Céphalosporines, les Monobactames et les Carbapénèmes (**Begum et al., 2021**).

La Pénicilline a été le premier antibiotique découvert, Elle a été isolée à partir de moisissures, en particulier du *Penicillium chrysogenum* par Alexander Fleming en 1928 (**Gaynes et al., 2017**). Elle est constituée d'un cycle Thiazolidine, ou d'un cycle bêta-lactame qui est attaché à des chaînes latérales (Figure N°01). La Pénicilline G, la Pénicilline V, l'Oxacilline (diCloxacilline), la Méthicilline, la Nafcilline, l'Ampicilline, l'Amoxicilline, la Carbénicilline, la Cipéracilline, la Mézlocilline et la Ticarcilline sont les membres les plus courants de la classe des pénicillines (**Etebu et Ariekpar, 2016 ; Begum et al., 2021**).

Les **Céphalosporines** sont des antibiotiques à large spectre. Leur structure et leur mode d'action sont similaires à ceux de la pénicilline. Elle a été isolée de la moisissure *Cephalosporium acremonium* par Guiseppe Brotzu en 1945 (**Das et al., 2019 ; Lima et al., 2020**). Les molécules de ce groupe possèdent un noyau d'acide 7-amino-céphalosporanique et une chaîne latérale contenant des cycles 3,6-dihydro-2 H-1,3- thiazane (Figure N°01) (**Pandey et Cascella, 2019 ; Das et al., 2019**). En fonction de leur organisme cible les céphalosporines sont traditionnellement divisées en cinq classes ou générations. Les antibiotiques de ce groupe sont le plus souvent utilisées dans le traitement des infections et des maladies bactériennes causées par les staphylocoques et les streptocoques sensibles à la méthicilline et producteurs de pénicillinase, les *Proteus mirabilis*, les *Escherichia coli*, les *Klebsiella Pneumoniae*, les *Enterobacter aerogenes* et certaines Neisseria (**Begum et al., 2021**).

Les **Monobactames** sont des agents β -lactames monocycliques ayant une fraction d'acide 2-oxoazétidine-1-sulfonique (**Doi, 2020**). Ils ont été obtenus à partir de la bactérie *Chromobacterium violaceum* (**Etebu et Ariekpar 2016**). Les Monobactames ont une structure β -lactame unique contrairement à la plupart des autres bêta-lactames, leur cycle bêta-lactame est autonome et n'est pas fusionné à un autre cycle (Figure N°01) (**Bradley et Sauberan, 2012 ; Lima et al., 2020**). L'Aztréonam est le seul Monobactam disponible commercialement et actuellement approuvé par la FDA (**Doi, 2020**). Les agents monobactames ont un spectre d'activité étroit et caractéristique, ils ne fonctionnent que contre les bacilles à

Introduction générale

Gram négatif, y compris les *Enterobacteriaceae* et les *Pseudomonas aeruginosa*, et n'a aucune activité utile contre les bactéries Gram-positives ou les anaérobies (Kuriyama *et al.*, 2014 ; Doi, 2020).

Les **Carbapénèmes** sont l'une des classes les plus importantes des β -lactamines (Lima *et al.*, 2020), ils ont été isolés à partir de l'espèce *Streptomyces cattleya* en 1976. Ce groupe possédant un très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité des β -lactamases. Et ils se distinguent des pénicillines et des céphalosporines par la présence d'un atome de carbone au lieu d'un soufre en position 1 et d'une liaison insaturée en C2-C3 (Figure N°01) (Wolff *et al.*, 2009). Il existe quatre Carbapénèmes les plus couramment référencés : l'Imipénème, le Méropénème, l'Ertapénème et le Doripénème (Torres *et al.*, 2007 ; Zhanel *et al.*, 2007). Ces molécules sont très actives contre un large éventail de bactéries aérobies et anaérobies Gram-positives et Gram-négatives en raison de leur pénétration efficace à travers la membrane externe bactérienne, de leur haute affinité pour de multiples protéines de liaison à la pénicilline (PBP) et de leur stabilité vis-à-vis de la plupart des β -lactamases, y compris les β -lactamases à spectre étendu de classe A (BLSE) et les β -lactamases de classe C (AmpCs). (Papp-Wallace *et al.*, 2011 ; Zhanel *et al.*, 2007 ; Doi, 2020). Les Carbapénèmes sont souvent appelés "antibiotiques de dernier recours" et sont administrés lors d'infections sévères en réanimation, en particulier lorsque les patients sont suspectés d'abriter des bactéries résistantes ou sont devenus graves (Wolff *et al.*, 2009 ; Etebu et Ariekpar, 2016).

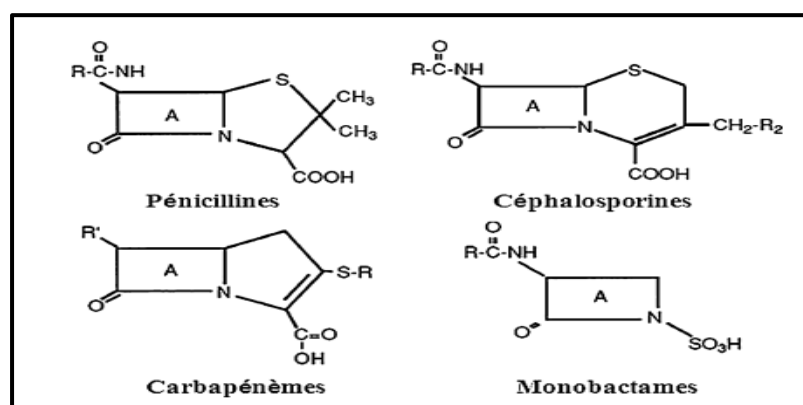


Figure 01 : Les structures chimiques du membre des groupes d'antibiotiques bêta-lactamines (Phelan *et al.*, 2014).

Les **Aminoglycosides** jouent également un rôle important dans la plupart des traitements des infections causées par les Gram négatif (*Acinetobacter baumannii*,

Introduction générale

Pseudomonas aeruginosa, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et autres *Enterobacteriaceae spp*) et certaines infections à Gram positif (**Becker et Cooper, 2013 ; Garneau-Tsodikova et Labby, 2016**). La Streptomycine est le premier médicament de cette classe, elle a été isolée des actinomycètes du sol par Selman Waksman en 1944. (**Mahajan et Balachandran, 2012 ; Kudo et Eguchi, 2009**).

Structurellement, tous les Aminoglycosides naturels et semi-synthétiques partagent une structure similaire constituée de plusieurs cycles, généralement trois. Ces cycles sont des cyclitols (une structure cyclique saturée à 6 atomes de carbone) et des sucres à 5 ou 6 chaînons reliés par des liaisons glycosidiques. La caractéristique des aminoglycosides, qu'il vaudrait mieux appeler chimiquement des aminocyclitols, est la présence de groupes amino attachés aux différents cycles de la structure (Figure 02) (**Forge et Schacht, 2000 ; Becker et Cooper, 2013**). Le groupe des aminosides comprennent ; la Streptomycine, la Néomycine, la Kanamycine, l'Amikacine, la Gentamicine et la Tobramycine (**White, 2012**). Ces d'antibiotiques peuvent se lier aux sous-unités ribosomales (30S) et ainsi inhiber la synthèse protéique chez les bactéries (**Kuriyama et al., 2014**).

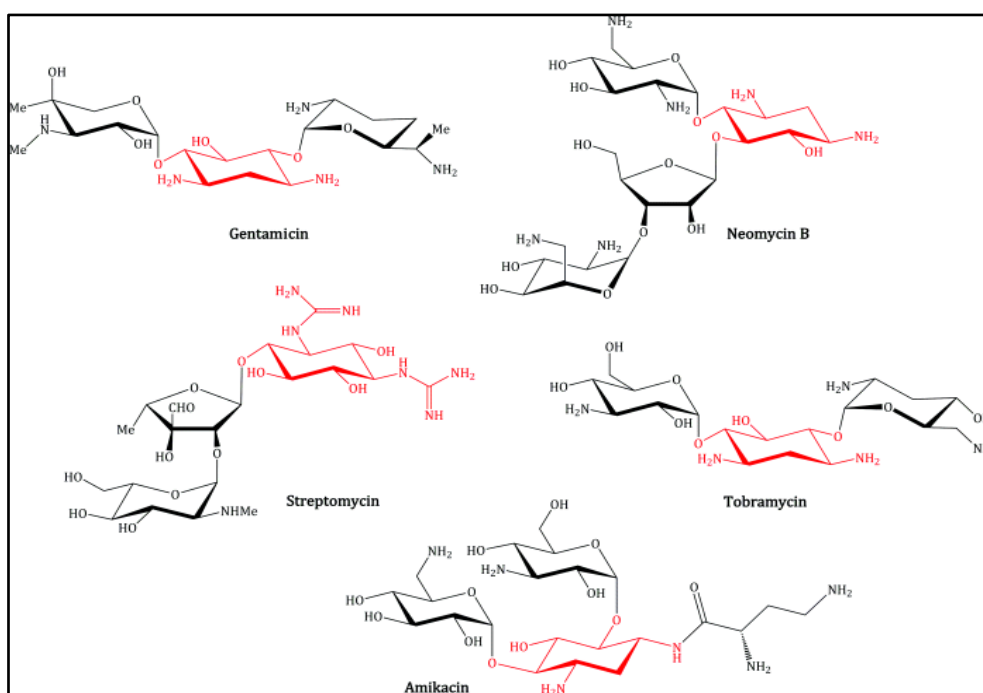


Figure 02 : la structure chimique des membres de la classe des antibiotiques aminoglycosides. (**Begum et al., 2021**).

Finalement, La dernière famille d'antibiotiques dont nous parlerons dans cette partie de notre étude est la famille de Quinolones.

Introduction générale

Les Quinolones / Fluoroquinolones constituent l'une des plus grandes classes d'agents antimicrobiens utilisés dans le monde, elles sont utilisées comme un traitement pour plusieurs maladies infectieuses telles que les infections des voies urinaires, des infections du tractus gastro-intestinal, les infections respiratoires et les maladies sexuellement transmissibles (**Van Bambeke *et al.*, 2005 ; Oliphant et Green, 2002 ; Tomé et Filipe, 2011**). Depuis leur découverte au début des années 1960, les molécules du groupe des quinolones ont suscité un intérêt clinique et scientifique considérable. L'Acide Nalidixique est la première quinolone développée, il a été obtenu comme impureté lors de la fabrication de la quinine. Depuis lors, de nombreux dérivés ont été synthétisés et évalués pour leur puissance antibactérienne (**Andersson et Mac Gowan, 2003**). Toutes les Quinolones actuelles présentent une structure bicyclique, cycle pyridine avec un azote en position 1, un carboxylate en position 3 et un carbonyle en position 4, ce cycle est accolé à un autre cycle aromatique variable : benzène, pyridine ou pyrimidine. Quant aux Fluoroquinolones, ils sont caractérisés par la présence d'un atome de fluor en position 6 et d'un cycle azoté, le plus souvent une pipérazine, en position 7 (Figure N° 03) (**Muylaert et Mainil, 2013**).

Les quinolones sont habituellement classées en quatre générations en fonction de leur spectre d'activité antimicrobienne (Figure 03). Les antibiotiques de première génération (l'Acide Nalidixique et l'Acide Oxolinique), qui sont moins souvent utilisés aujourd'hui, ont une activité modérée sur les Gram-négatives et une distribution systémique minimale. Les quinolones de deuxième génération (la Ciprofloxacine, Ofloxacine... etc) ont une activité étendue contre les Gram-négatives et une couverture des pathogènes atypiques, mais une activité limitée sur les Gram-positives. Les médicaments de troisième génération (la Lévofloxacine, la Difloxacine...etc.) ont une activité élargie contre les bactéries Gram-positives et les pathogènes atypiques. Enfin, les Quinolones de quatrième génération (la Trovafloxacine et Gémifloxacine) ajoutent une activité significative contre les anaérobies. Ces quinolones peuvent être différenciées en classes sur la base de leurs propriétés pharmacocinétiques (**Van Bambeke *et al.*, 2005 ; Bush *et al.*, 2020 ; Rusu *et al.*, 2021**).

Le mécanisme d'action des Fluoroquinolones est bien connu et décrit dans la littérature (**Hooper et Jacoby, 2016**). On sait que les quinolones agissent sur deux enzymes bactériennes de l'ADN : la gyrase et la topoisomérase IV (**Bush *et al.*, 2020**). Ainsi, en raison de la liaison de quinolones à des domaines et à des conformations spécifiques de manière à bloquer la catalyse du passage des brins d'ADN et à stabiliser les complexes ADN-enzymes l'appareil de

Introduction générale

réplication de l'ADN est bloqué et les doubles brins de l'ADN sont cassés. Ce phénomène entraîne la mort cellulaire et s'avère être un moyen très efficace de tuer les bactéries (**Rusu et al., 2021**).

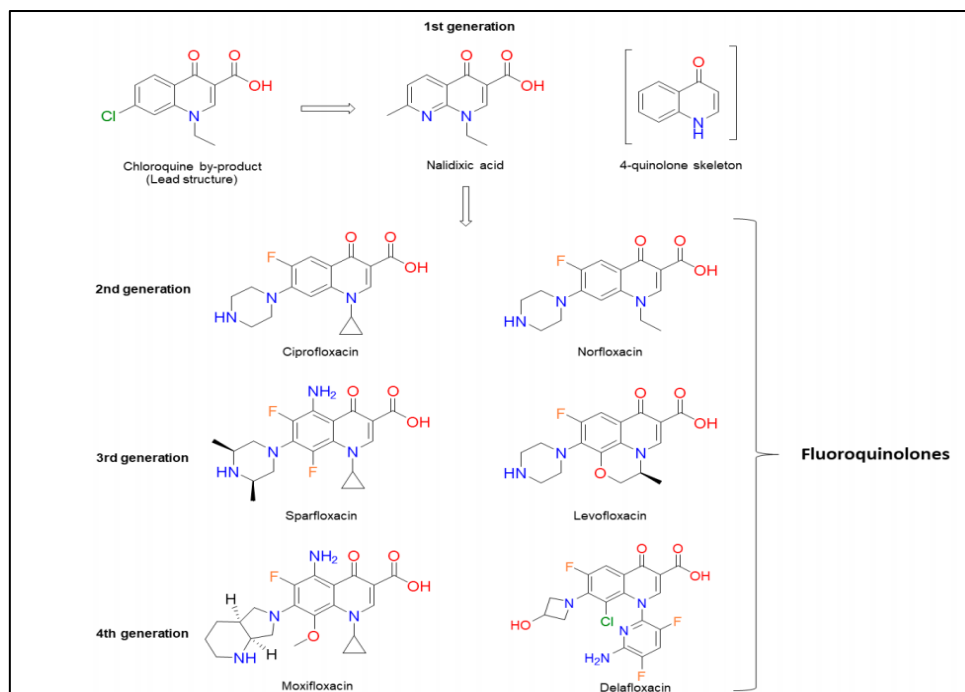


Figure 03 : Structures chimiques et classification de plusieurs Fluoroquinolones (**Bush et al., 2020**).

En outre, l'apparition des souches d'Entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques « BMR » responsables des infections urinaires est une tendance connue depuis un certain temps. Elles sont définies comme des bactéries résistantes à au moins trois des classes d'antibiotiques susmentionnés (Céphalosporines « Ceftriaxone, Céfotaxime, Céfépime », Carbapénèmes « Imipénème/Ertapénème », Monobactames « Aztréonam », Aminoglycosides « Gentamicine, Amikacine » et/ou Fluoroquinolones) (**Perdikouri et al., 2019**).

De manière générale, les Entérobactéries utilisent différents mécanismes pour développer une résistance aux β -lactamines : il peut s'agir de la diminution de la perméabilité membranaire pour les antibiotiques ce qui empêche la pénétration de ces derniers dans la bactérie, de l'excrétion de l'antibiotique par des systèmes d'efflux, ou de la modification de la cible bactérienne de l'antibiotique. Mais le plus fréquemment, il s'agit l'inactivation enzymatique des β -lactamines par production de β -lactamases (**Pantel, 2015 ; Iredell et al., 2016**).

Introduction générale

Chez les Entérobactéries l'enveloppe cellulaire comprend deux membranes, la membrane externe et la membrane cytoplasmique. Ces structures jouent un rôle majeur dans la sensibilité, elles sont très riches en lipopolysaccharide (LPS) et en phospholipides (PP) ce qui constitue une barrière empêchant la pénétration des antibiotiques hydrophobes à l'intérieur de la cellule bactérienne (**Pagés et Garnotel, 2003**). Les porines non spécifiques situées dans la membrane externe telles que OmpF et OmpC d'*Escherichia coli*, sont des protéines majeures qui forment des canaux remplis d'eau permettant la diffusion à travers la membrane de petites molécules polaires, d'acides aminés et de nutriment. Mais divers autres composés dont les β -lactamines, utilisent également ces porines membranaires pour pénétrer à l'intérieur des bactéries (**Dé et al., 2001**). L'altération de ces porines par mutation est à l'origine de la résistance acquise aux bêta-lactamines (**Kumar et Schweizer, 2005 ; Hasan et Al-Harmoosh, 2020**). Cette mutation peut diminuer fortement la diffusion des bêta-lactamine à travers les pores dans certaines souches cliniques (**Dé et al., 2001**). Il s'agit de changement de **la perméabilité des membranes** soit par une modification structurale d'une porine essentielle (ce qui a été décrit chez *E. coli*), soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente (**Kumar et Schweizer, 2005**).

L'efflux actif est une autre stratégie de résistance mise en œuvre par les bactéries Gram négatif dont les Entérobactéries pour expulser l'antibiotique qui a diffusé à l'intérieur de la cellule vers le milieu extérieur (**Pantel, 2015**). Dans ce système ces bactéries utilisent des pompes à efflux pour réduire la concentration intracellulaire de composés toxiques comme les médicaments (antibiotiques) et les détergents et sont donc impliqués dans le contrôle de la sensibilité aux antibiotiques et elles jouent un rôle majeur dans la résistance intrinsèque et acquise à une variété d'antibiotiques cliniquement significatifs (**Pavez et al., 2016 ; Teelucksingh et al., 2020**).

Les pompes d'efflux de médicaments bactériens sont actuellement classées en cinq familles en fonction de la source d'énergie nécessaire à leur fonctionnement (gradient électrochimique ou hydrolyse de l'ATP) et de leur structure (**Teelucksingh et al., 2020**). Ces pompes couvrent l'ensemble de l'enveloppe cellulaire des bactéries Gram-négatives et sont donc particulièrement bien adaptées à une synergie avec une perméabilité réduite de la membrane externe pour conférer une résistance aux médicaments (**Misra et Bavro, 2009**). L'implication de ces systèmes d'efflux dans la résistance aux β -lactamines a été clairement identifiée dans plusieurs études en particulier chez *K. pneumoniae*. Cependant ce type de mécanisme touchant

Introduction générale

préférentiellement la Céfoxitine et les C2G semble difficile à distinguer du point de vue phénotypique des résistances par modification des porines (Robin *et al.*, 2012).

La résistance aux β -lactamines suite à une modification des Protéines liant la pénicilline (PLP) n'a été que rarement démontrée chez les Entérobactéries (Robin *et al.*, 2012). Elle peut résulter soit de la perte d'affinité des PLP pour les β -lactamines par mutation dans les gènes chromosomiques codant pour les PLPs ou bien de l'acquisition de gènes ou fragments de gènes codant pour les PLP d'affinité diminuée (Gadou, 2019).

La production de β -lactamases est le mécanisme le plus répandu et le plus important de la résistance aux β -lactamines chez les Gram négatif (Galani *et al.*, 2021 ; Lima *et al.*, 2020).

Les β -lactamases sont des enzymes qui catalysent de manière efficace et irréversible l'hydrolyse de l'anneau β -lactame par la dégradation des ponts amide de cycle ce qui provoque l'inactivation de l'antibiotique bêta-lactame (figure N°04) (Poole, 2004). Ces enzymes sont soit codées par les chromosomes qui peut être produit à des niveaux élevés, soit codées par des gènes transférables qui voyagent sur des éléments mobiles entre les espèces (plasmides) (Bush, 2018). Dans certains cas la production de ces enzymes est associée à une diminution de l'absorption ou à une augmentation de l'efflux de la β -lactamine, ce qui augmente les taux des résistances au Bêta-lactamine à des niveaux très élevés, et constitue ainsi un problème clinique majeur (Bonomo, 2017).

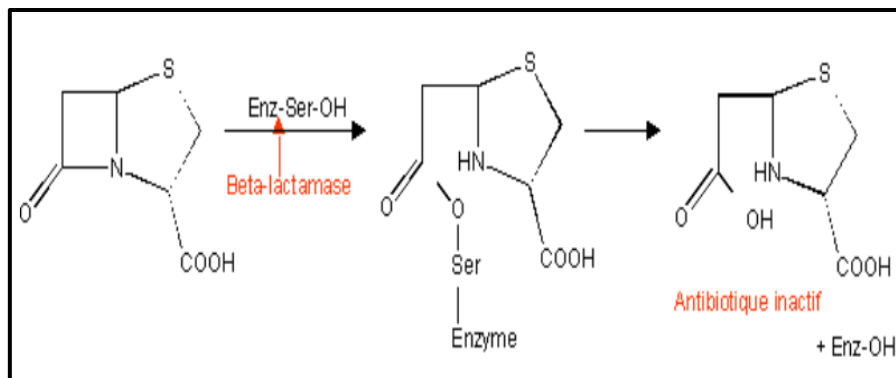


Figure 04 : Schéma réactionnel de l'hydrolyse du noyau β -lactame par une β -lactamase (Barrial et Scotet, 2006).

Il existe deux grands systèmes de classification des enzymes Bêta-lactamases (les systèmes Ambler et Bush-Jacoby). Les classes A à D d'Ambler utilisent l'homologie des séquences d'acides aminés pour classer les β -lactamases (Bush et Jacoby, 2010 ; Shaikh *et*

Introduction générale

al., 2015). Alors que, les groupes 1 à 4 du système Bush-Jacoby sont basés sur les profils d'hydrolyse des substrats (Pénicilline, Céphalosporine, Céphalosporine à spectre étendu, Carbapénème) et sur le profil des inhibiteurs de bêta-lactamase (Clavulanate et le Tazobactam) (Bonomo, 2017 ; Bush, 2018).

Dans la classification d'Amblar, Les enzymes de classe B est constituée de métalloenzymes de zinc (métallo- β -lactamases à large spectre d'action, comme les Carbapénémases). Elles sont complètement différentes des β -lactamases à sérine (classes A, C et D d'Amblar) en termes de séquence, de repliement et de mécanisme d'hydrolyse (Lima et al., 2020).

Les β -lactamases de classe A sont les plus diversifiées, regroupant de nombreux types des bêta-lactamase à savoir les pénicillinases des bactéries à Gram positif, les β -lactamases plasmidiques à large spectre qui hydrolysent les Céphalosporines avec autant d'efficacité que les Pénicillines et les β -lactamases à spectre élargi qui hydrolysent les Céphalosporines de 3^{ième} génération et les Monobactames (Pieboji, 2007). La majorité de ces enzymes sont susceptibles d'être inactivées par les inhibiteurs de bêta-lactamase utilisés en médecine : Clavulanate, Sulbactam, Tazobactam, et Avibactam (Perez et al., 2007). Elles sont souvent codées par des plasmides, mais elles peuvent également se trouver sur les chromosomes bactériens (Papp-Wallace et al., 2015). Les principaux représentants de ce groupe sont les β -lactamases du type TEM, SHV et très récemment le type CTX-M (Bonomo, 2017).

Les bêta-lactamases de classe B sont des enzymes qui dégradent les antibiotiques bêta-lactames par l'utilisation des cations métallique divalent (principalement Zn^{2+}) comme des cofacteurs pour catalyser l'hydrolyse du cycle β -lactame (Xu et al., 2006 ; Bush et Jacoby, 2010). La plupart de ces β -lactamses ont une variété de Pénicillines et de Céphalosporines, et sont insensibles aux inhibiteurs classiques des bêta-lactamase (acide Clavulanique, Sulbactame, Tazobactame) (Ranjbar et Farahani, 2019). L'importance clinique de métallo-enzyme de classe B est liée au fait qu'elles hydrolysent les Carbapénèmes qui échappent à l'activité des β -lactamases à sérine active (Bebrone, 2007).

Les β -lactamases de classe C, également appelées enzymes de type AmpC ou les bêta-lactamases inductibles (IBL). Elles sont présentes chez *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens* et *P. aeruginosa* (Tamma et al., 2019). Ces enzymes confèrent une résistance de haut niveau aux Céphalosporines et elles sont codée à la fois par des gènes

Introduction générale

plasmidiques et chromosomiques (**Ranjbar et Farahani, 2019**). Les Céphalosporinase de cette classe sont des enzymes résistantes à l'action de l'acide clavulanique et le Sulbactame ; toutefois certaines sont faiblement inhibées par le Tazobactame (**Doi et al., 2004**).

Les bêta-lactamase de classe D, appelle aussi les Oxacillinases ou les β -lactamases du type OXA. Cette classe regroupe les β -lactamases qui hydrolysent les isoxazolyl pénicillines comme la Cloxacilline et l'Oxacilline, et qui sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique. (**Paterson et Bonomo, 2005**). De plus, Certains enzymes de ce groupe en particulier OXA-48 sont des bêta-lactamases de classe D hydrolysant des Carbapénèmes (appelé aussi CHDL). Les CHDL ont été identifiées le plus souvent chez *Acinetobacter* spp. mais elles sont de plus en plus isolées chez les *Enterobacteriaceae* (**Bonomo, 2017**). Alors que, d'autre membres de cette famille, dont OXA-10 et OXA-11 possèdent un large spectre d'activités assurant une forte résistance aux Céphalosporines de troisième génération (**Gadou, 2019**).

En revanche et sur la base d'une classification fonctionnelle proposée par Bush-Jacoby-Medeiros en 1995, les β -lactamases pourraient être classées en quatre groupes (1-4). Le premier est celui qui regroupe les Céphalosporinases résistantes à l'acide clavulanique et appartenant à la classe C d'Ambler. Le deuxième groupe est constitué par les Pénicillinases et/ou Céphalosporinases inhibées par l'acide clavulanique et appartenant aux classes A et D d'Ambler. , le troisième groupe est composée de métallobêta-lactamases zinc-dépendantes qui sont capable d'hydrolyser les Pénicillines, les Céphalosporines et les Carbapénèmes, et elles sont appartiennent à la classe B d'Ambler et finalement le quatrième groupe qui englobe les pénicillinases qui ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique contrairement avec celle des classes A-D et ces enzymes n'ont pas encore été complètement caractérisées (**Bush et Jacoby, 2010 ; Lima et al., 2020**).

Depuis longtemps, Les bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE) constituent le mécanisme de résistance aux antibiotiques le plus évolutif parmi la famille des *Enterobacteriaceae* en raison de la pression sélective imposée par l'utilisation inappropriée des céphalosporines de troisième génération (**Rudresh et Nagarathnamma, 2011 ; Philippon, 2013**).

Il n'y a pas de consensus sur la définition précise des BLSE. Généralement, les BLSE sont définies comme un groupe d'enzymes qui dégradent les antibiotiques appartenant aux groupes des oxyimino-bêta-lactames tel que les Pénicillines, les Céphalosporines et les

Introduction générale

Monobactame (l'Aztréonam) (**Shaikh et al., 2015 ; Widodo et al., 2020**). Les BLSE ont généralement été considérées comme des β -lactamases transmissibles qui peuvent être inhibées par l'Acide Clavulanique, le Tazobactam ou le Sulbactam à l'exception de groupe des métallob-lactamase qui ne sont inhiber que par l'EDTA (**Drawz et Bonomo, 2010**). Ces enzymes sont codés par des gènes pouvant être échangés entre les bactéries. Les plasmides porteurs de ces gènes peuvent porter aussi des gènes de co-résistance pour d'autres antibiotiques non β -lactamines, ce qui limite le nombre de médicaments utiles contre ces bactéries (**Rudresh et Nagarathnamma, 2011**).

Les BLSE sont classées en 11 familles, en fonction de leurs différences moléculaires (leur séquence protéique) (**Ghaderi et al., 2020**). Les principales familles des Béta-lactamase à spectre élargie comprennent plusieurs variantes notamment les TEM, les SHV et les CTX-M qui appartiennent à la classe A et certaines variantes des Oxacillinasés (OXA) qui appartiennent au bêta-Lactamase de classe D. (**Tooke et al., 2019 ; Widodo et al., 2020**).

CTX-M, SHV et TEM sont les variantes génétiques de BLSE les plus fréquemment trouvées chez les *Enterobactériacae*, et principalement chez *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp et *Escherichia coli* (**Jacob, 2010 ; Abrar et al., 2019**).

Actuellement, 474 variantes de BLSE de type Temoneira TEM ont été décrits (**Ghaderi et al., 2020**). Ce β -lactamase plasmidique a été signalé pour la première fois en 1965, en Grèce, à partir d'une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira, (**Jacoby et Munoz-Price, 2005**). TEM-1 est capable d'hydrolyser les pénicillines et les céphalosporines de première génération mais est incapable d'attaquer l'oxyimino céphalosporine. Le TEM-2 est le premier dérivé de TEM-1, présentait une substitution d'un seul acide aminé par rapport à la β -lactamase originale (**Shaikh et al., 2015**). Alors que, La majorité des BLSE de ce type dérivent par quatre à sept mutations ponctuelles de l'enzyme originale (TEM-1 ou TEM-2). Les principales mutations responsables du phénotype BLSE surviennent aux positions 238 (Gly→Ser), 240 (Glu→Lys), 104 (Glu→Lys) et 164 (Arg→Ser ou Arg→His) (Figure N° 05) (**Bradford, 2001**). Cependant, d'autres BLSE de type TEM ayant évolué par mutation qui conférer la résistance aux inhibiteurs (exp : l'Acide Clavulanique). Ces variantes sont nommées TRI (TEM résistantes aux inhibiteurs), les enzymes dérivées par ces mutations sont capables d'hydrolyser à la fois les C3G et les inhibiteurs et sont de plus en plus fréquentes (**Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006**).

Introduction générale

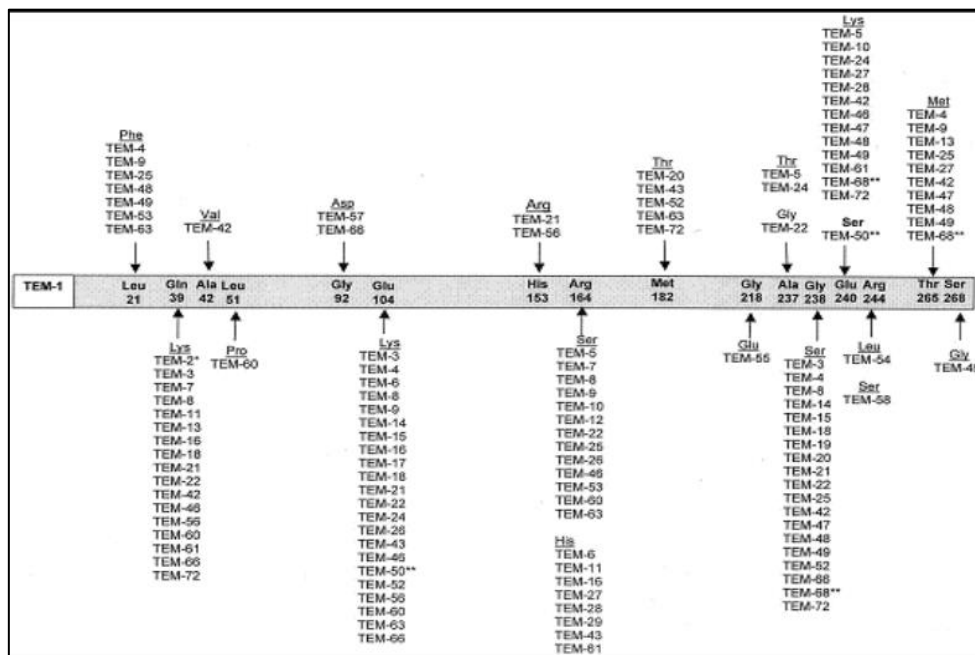


Figure 05 : Substitutions en acides aminés décrites chez les BLSE de type TEM
*variant pénicillinase ; **variant TRI (Bradford, 2001).

Après TEM, le type Sulfhydryl variable (SHV) constitue celui comportant le plus grand nombre d'enzymes BLSE (193 variants) (Ghaderi *et al.*, 2020). Comme dans le cas des enzymes de type TEM, les BLSE de type SHV dérivent par mutations ponctuelles de l'enzyme originale SHV-1. Plus précisément, cet enzymes (SHV-1) est une variante de l'enzyme chromosomique K2 de *K. pneumoniae*, ensuite leur gène (*bla_{SHV}*) a été incorporé dans un plasmide qui s'est ensuite propagé à d'autres espèces d'Entérobactéries (Rodriguez-Villalobos et Struelens, 2006 ; Shaikh *et al.*, 2016).

Dans ce groupe d'enzymes, les mutations les plus fréquemment impliquées dans le phénotype BLSE surviennent aux positions 238 (Glycine en Serine) et 240 (Glutamine en lysine) (Figure N° 06) (Bradford, 2001), et les variants les plus fréquents sont SHV-12 et SHV-5 (Pantel, 2015). Ces BLSE présentaient une forte activité contre les pénicillines de troisième génération principalement contre l'Ampicilline, et les Céphalosporines de première génération comme la Céphaloridine ou la Céphalexine, mais elles sont inefficaces aussi contre les Pénicillines de deuxième génération telle que l'Oxacilline ou la Cloxacilline (Neubauer *et al.*, 2020).

La majorité des bêta-lactamase de type SHV se propageant principalement dans les isolats cliniques d'*Enterobacteriaceae*, avec une plus forte prévalence chez *K. pneumoniae* et

Introduction générale

E. coli, mais aussi chez d'autres pathogènes, tels que *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Neubauer *et al.*, 2020).

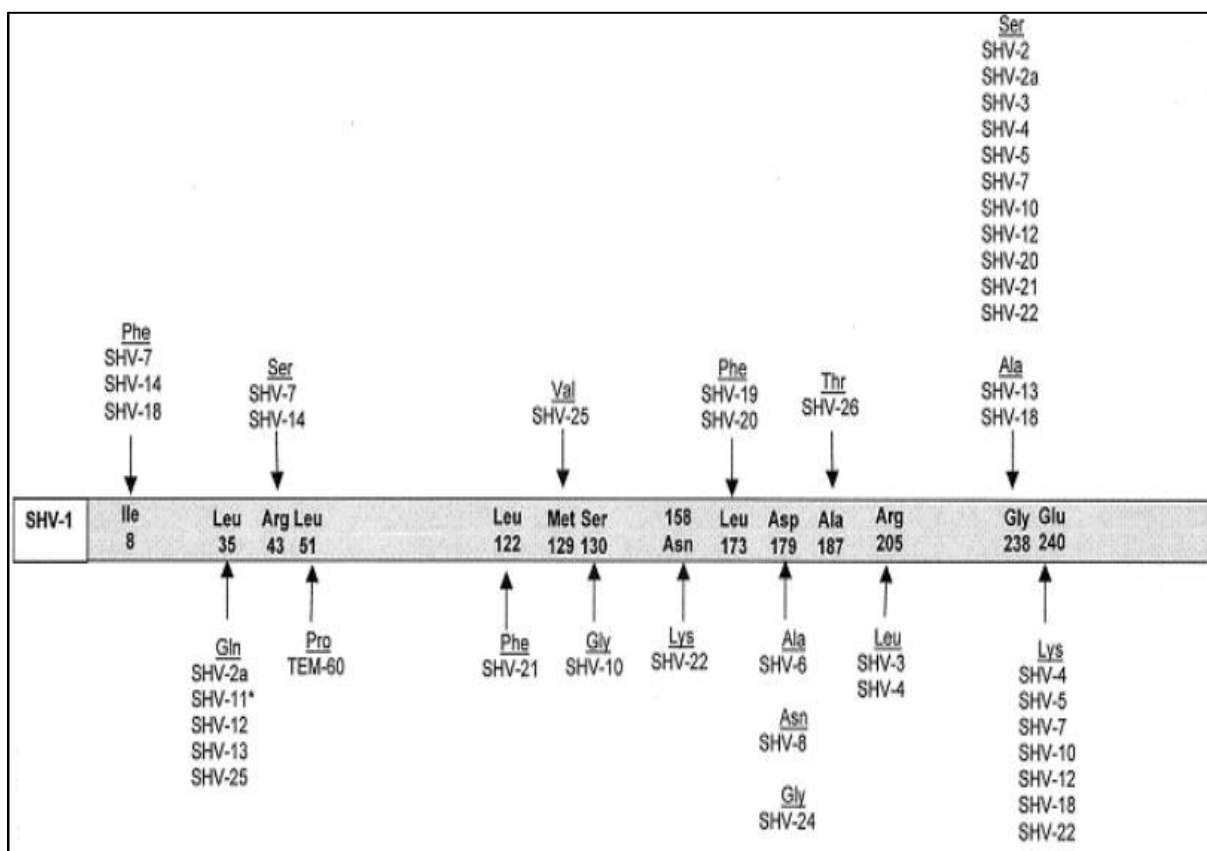


Figure 06 : Substitutions en acides aminés décrites chez les BLSE de type SHV (Bradford, 2001).

Le troisième type de BLSE le plus rencontré est le type Céfotaximase-Munich (CTX-M), ce groupe d'enzymes « émergentes » représenté les BLSE les plus fréquentes au sein des Entérobactéries au niveau mondial après leur diffusion rapide depuis les années 90 (Cattoir et Bicêtre, 2008). Jusqu'à présent, de nombreux variants de BLSE de type CTX-M ont été décrits (109 variants), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques en fonction de leurs séquences protéiques : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 (Figure N° 07) (Cattoir et Bicêtre, 2008 ; Ghaderi *et al.*, 2020).

Les CTX-M constituent la classe des BLSE qui hydrolysent préférentiellement le Céfotaxime, d'où leur nom de Céfotaximases (Shaikh *et al.*, 2015). Certaines ont évolué par mutation ponctuelle générant un haut niveau de résistance à la Céfotaxime, et elles sont

Introduction générale

constituent les BLSE les plus fortement inhibées par le Tazobactam que par l'acide Clavulanique (Bonnet, 2004).

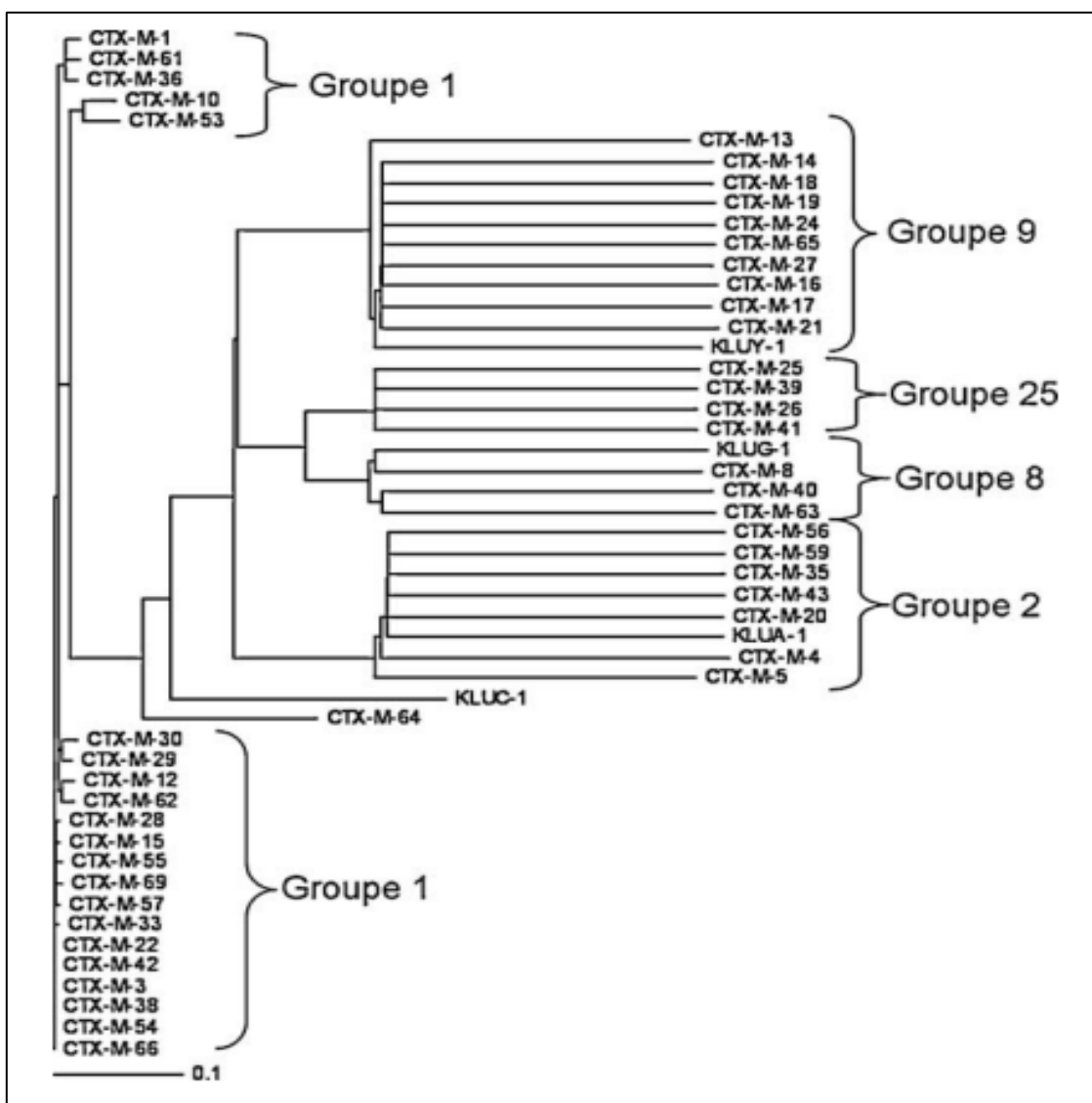


Figure 07 : Dendrogramme de la famille CTX-M. (Ruppé, 2010).

Concernant le support génétique des CTX-M, plusieurs travaux ont montré que, les progéniteurs des gènes codant pour les enzymes naturelles chromosomiques CTX-M des groupes 1 et 2 et pour celles des groupes 8 et 9 sont respectivement *Kluyvera ascorbata* et *Kluyvera georgiana*, tandis que les sources des CTX-M des groupes 25 et 45 restent inconnues (Bonnet, 2004 ; Cattoir et Bicêtre, 2008). Alors que, la mobilisation de ce groupe d'enzymes est due à plusieurs éléments. Des séquences d'insertion comme ISEcp1 et ISEcp1-like ont été trouvées de façon répétée en amont de plusieurs gènes codant pour les CTX-M et en amont de

Introduction générale

certaines gènes AmpC en position plasmidiques. Ces séquences codent pour une transposase et joueraient également un rôle dans l'expression de ces enzymes (Ruppé, 2010).

En revanche, d'autres types de BLSE se retrouvent chez les *Enterobacteriaceae*, à savoir les β -lactamases de type OXA qui sont différents des types TEM, SHV et CTX-M par le fait qu'elles appartiennent à la classe D et au groupe 2d (Sawa *et al.*, 2020). Les OXA sont ainsi nommées en raison de leurs capacités d'hydrolyse de l'Oxacilline (Shaikh *et al.*, 2015). Elles sont principalement présentes chez *P. aeruginosa*, mais elles ont été détectées chez de nombreuses autres bactéries Gram-négatives dont les Entérobactéries (Sheng *et al.*, 2013 ; Sawa *et al.*, 2020).

Les β -lactamases de types OXA constituent le groupe d'enzymes qui comprennent OXA-1 et OXA-10, possèdent un site sérine actif similaire à celui des β -lactamases de classe A et C (Sawa *et al.*, 2020). Mais dernièrement, plus d'une dizaine de ces enzymes (OXA) ont été mises en évidence et la majorité ont été provient de OXA-10 par mutation d'un ou de plusieurs acides aminés (Evans et Amyes, 2014), et la plupart de ces enzymes sont fréquemment codé sur des plasmides et/ou des intégrons permettant leur large dissémination entre les bactéries (Zander *et al.*, 2014).

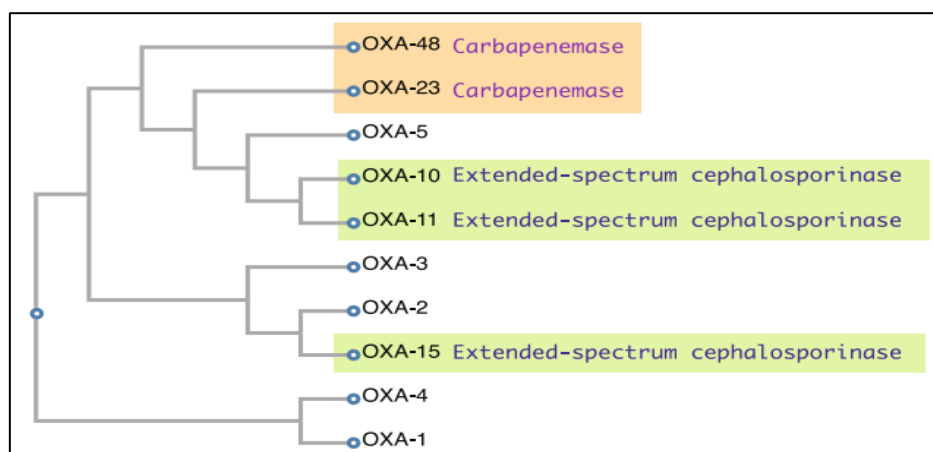


Figure 08 : l'arbre phylogénétique de la classe D des β -lactamases de la famille OXA (oxiacillinase) (Sawa *et al.*, 2020).

Le spectre d'activité de β -lactamases types OXA est un peu large, Chez certains enzymes telles que OXA-11 et OXA-15, le substrat de dégradation est étendu aux Céphalosporines à spectre étendu (oxyimino- β -lactames), mais pas aux Carbapénèmes, alors que d'autres enzymes OXA ayant une activité d'hydrolyse des Carbapénèmes et elles sont reconnues comme des β -

Introduction générale

lactamases de classe D hydrolysant les Carbapénèmes (CHDLs) telles que OXA-23 et OXA-48 (Figure N° 08) (Sawa *et al.*, 2020).

En plus des BLSE connues, d'autres BLSE ont une distribution moins large ont apparu. Ces BLSE appartiennent à la classe A d'Ambler et ont été isolées non seulement d'Entérobactéries mais aussi des autres espèces bactériennes, telles que *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (Shakibaei *et al.*, 2008 ; Shaikh *et al.*, 2015). Parmi ces nouvelles BLSE, le type GES (Guiana Extended Spectrum bêta-lactamase) est le plus développé avec environ 9 représentants, le type PER-1 (Pseudomonas extended resistance), le type VEB (Vietnamase Extended Spectrum bêta-lactamase), le type BES-1 (brazilian extended spectrum), et le types SFO-1 (*Serratia fonticola*) (Naas *et al.*, 2008).

En revanche, une grande variété de Carbapénémases a été identifiée chez les *Enterobacteriaceae* appartenant à 3 classes de β -lactamases : les β -lactamases de classe Ambler A, B et D. Ces enzymes sont des β -lactamases qui hydrolysent les Pénicillines, les Céphalosporines, les Monobactames et les Carbapénèmes. Les Carbapénémases appartenant aux classes A et D contiennent de la sérine, tandis que celles appartenant à la classe B contiennent du zinc dans leurs sites actifs (Mancini *et al.*, 2017). Les Carbapénémases les plus répandues appartiennent à la classe Ambler A sont les Carbapénémases de *Klebsiella pneumoniae* (KPC). La classe B de Carbapénémases comprennent essentiellement les métallo- β -Lactamases (MBL), à savoir les membres de l'Impénémase (IMP), les métallo- β -Lactamases médiée par l'intégron de Vêrone (VIM) et les métallo- β -Lactamase de New Delhi (NDM). Cependant, Les Carbapénémases de classe D sont constituées de β -lactamases de type hydrolysant l'Oxacilline (OXA) telle que (OXA-23, OXA-48 et OXA-48-like) (Lee *et al.*, 2022).

Les KPC ont une activité à large spectre contre presque toutes les β -Lactamines, y compris les Carbapénèmes, et elles sont principalement signalées dans les isolats cliniques de *K. pneumoniae*. Cependant, au cours de la dernière décennie, les KPC ont également été signalées chez d'autres espèces d'Entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella oxytoca*, *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Morganella morganii* et *Citrobacter freundii* (Tijet *et al.*, 2014 ; Li *et al.*, 2018). Plus de 20 variantes de KPC ont été décrites, mais KPC-2 et KPC-3 sont les plus signalés et largement distribués (Kopotsa *et al.*, 2019). Les KPC ont été signalés dans plusieurs types de séquences (ST) de *K. pneumoniae*,

Introduction générale

bien que ST258, ST11 et, plus récemment, ST101, soient les principaux acteurs associés à la propagation de la pandémie (**Dortet et al., 2015 ; Roe et al., 2019**).

Les enzymes de type IMP font partie des MBL acquises identifiées pour la première fois chez les Entérobactéries, la variante la plus courante étant IMP-1. En 1991, IMP-1 a été isolée pour la première fois chez *S. marcescens* au Japon et était située sur un intégron de classe 1. Depuis lors, plus de 40 variantes ont été signalées au Japon, à Taïwan et dans le monde entier (**Nordmann et al., 2011**).

Pour le Metallob-lactamase-1 lié à l'intégron de Vérone (VIM-1), ce dernier a été découverte à partir d'une souche clinique de *Pseudomonas aeruginosa* isolée à Vérone, en Italie, en 1997. Le blaVIM-1 était intégré dans un intégron de classe 1 situé sur le chromosome bactérien (**Hishinuma et al., 2020**). Le blaVIM-1 a également été détecté chez plusieurs autres bacilles à gram négatives telle que *Pseudomonas putida*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter cloacae*, *Acinetobacter baumannii*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii* et *Providencia stuartii* (**Zhao et al., 2011**). Au total, 46 variantes de VIM ayant été signalées, elles peuvent être divisées en groupes VIM-1, VIM-2, VIM-7, VIM-12 et VIM-13 sur la base de similitudes d'acides aminés. La plus grande variabilité de la séquence d'acides aminés entre les cinq variantes de VIM se trouve dans la séquence N-terminale et, dans une moindre mesure, dans les résidus C-terminaux. VIM-2, l'une des MBL les plus largement rapportées (**Makena et al., 2016**).

La métallo- β -lactamase de New Delhi (NDM) est un type de métallo- β -lactamase (MBL) capable d'hydrolyser la plupart des β -lactames (y compris les Carbapénèmes) mais pas les Monobactames (**Wu et al., 2019**). Le NDM-1 a été identifié pour la première fois en 2008 dans une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée chez un patient suédois hospitalisé à New Delhi, en Inde (**Yoon et al., 2018**). Depuis, la NDM-1 a été trouvée dans diverses espèces d'Entérobactéries, d'Acinetobacter et de Pseudomonas.

Les enzymes NDM sont composées de 270 acides aminés, contenant deux ions zinc dans le site actif, où a lieu l'hydrolyse des β -lactames. Des substitutions ont été observées au niveau de 17 des 270 acides aminés, ce qui a donné lieu à 24 variantes distinctes de la NDM. Les variantes de la NDM contiennent généralement entre 1 et 5 substitutions d'acides aminés par rapport à la NDM-1. Le NDM-18 est une exception en ce sens qu'il est identique au NDM-

Introduction générale

1, à l'exception d'une répétition en tandem de 5 acides aminés (**Wu et al., 2019**). Les souches NDM-positives sont généralement résistantes à la plupart des agents antimicrobiens, en plus des β -lactamines, en raison de la coexistence d'autres mécanismes de résistance et elles sont à l'origine de diverses infections associées à des taux de mortalité élevés (**Nordmann et al., 2011**).

Les β -lactamases de classe D sont appelées enzymes hydrolysant l'oxacilline et comprennent plus de 200 enzymes, dont quelques-unes ont une activité Carbapénémase (**Nordmann et al., 2012**). Les variantes les plus répandues sont OXA-48 et OXA-181, qui hydrolysent faiblement les Carbapénèmes mais leur cooccurrence avec d'autres mécanismes de résistance, tels que l'imperméabilité des membranes, peut entraîner une résistance élevée (**Roodsari et al., 2014**).

Le premier producteur d'OXA-48 identifié provenait d'une souche de *K. pneumoniae* isolée en Turquie en 2003. (**Azimi et al., 2014**). Puis, l'OXA-48 a été de plus en plus signalé chez les espèces d'*Enterobacteriaceae*, notamment *E. coli*, *Enterobacter* spp., *C. freundii*, *K. oxytoca*, *Providencia rettgeri* et *Salmonella marcescens* (**Poirel et al., 2012**). Cette classe de β -lactamases n'est pas inhibée par les inhibiteurs de β -lactamase disponibles dans le commerce et/ou par l'EDTA (**Roodsari et al., 2014**).

De plus, de rares céphalosporinases codées par les chromosomes (classe Ambler C) produites par les *Enterobacteriaceae* peuvent posséder une légère activité étendue contre les Carbapénèmes, mais leur rôle clinique reste inconnu (**Giske et al., 2009**).

Outre les mécanismes de résistance d'Entérobactéries aux bêta-Lactamines cité au-dessus, cette dernière a développé des mécanismes de résistance spécifique à plusieurs autres antibiotiques utilisés contre elles, surtout ceux qui appartiennent à la famille d'Aminoside et de Fluoroquinolones.

Concernant la résistance aux Aminoglycosides, le mécanisme le plus important pour l'émergence de cette résistance chez les Entérobactéries est l'inactivation enzymatique, qui est médiée par 3 classes différentes d'enzymes modifiant les Aminoglycosides (EMA) : les Acétyltransférases, les Nucléotidyltransférases et les Phosphotransférases. Ces enzymes modifient le noyau DOS ou les fragments de sucre et inactivent l'Aminoglycoside (**Lupo et al., 2013 ; Partridge, 2015**). Plus récemment, un nouveau mécanisme de résistance aux Aminoglycosides qui consiste en une protection ribosomale par méthylation enzymatique de

Introduction générale

résidus spécifiques au sein de l'ARNr 16S (empêchant la liaison des médicaments aux sous-unités ribosomiques 30S) a été décrit. Ces méthylases de l'ARNr 16S (ArmA, RmtA, RmtB, RmtC, RmtD, RmtF, RmtG, et NpmA) confèrent des niveaux élevés de résistance aux Aminoglycosides (**Bueno et al., 2013 ; Hidalgo et al., 2013**), c'est le cas par exemple de l'ArmA qui constitue le gène de méthylase le plus répandu, et elle peut être associée aux *bla*ESBL (**Lupo et al., 2013**).

La résistance aux Quinolones chez les Entérobactéries est généralement médiée par des mutations chromosomiques dans la région déterminant la résistance aux Quinolones (QRDR) qui code pour les gènes de l'ADN gyrase (*gyrA* et *parC*) (**Lupo et al., 2013**). Néanmoins, une résistance de faible niveau peut également provenir de l'expression de déterminants de la résistance aux quinolones médiée par les plasmides (PMQR), tels que les gènes *QnrA*, *B*, *S*, *C* et *D*, qui codent pour des protéines protégeant l'ADN gyrase de l'action des quinolones. L'enzyme Aminoglycoside acétyltransférase codée par le gène *Aac* (6')-Ib-cr qui acétyle les quinolones et les pompes d'efflux de quinolones à médiation plasmidique (*qepA*) qui diminuant la concentration cytoplasmique en médicament sont également des mécanismes augmentant la résistance aux Quinolones chez les Entérobactéries (**Yanat et al., 2017 ; Vieira et al., 2020**).

De nombreuses études ont montré qu'il existe une association dans certains cas entre la production des BLSE et la résistance acquise aux Quinolones chez les Entérobactéries, d'où la prévalence des gènes *Qnr* dans les E-BLSE est estimée à environ 10%, alors que celle des *Aac*(6')-Ib-cr est beaucoup plus élevée (15-50%) (**Lupo et al., 2013 ; Vervoort et al., 2014 ; Goudarzi et al., 2015**).

Les Entérobactéries multi-résistantes aux ATBs et productrices des bêta-lactamases de type BLSE, CHN et/ ou CP constituent un problème majeur de santé publique car elles entraînent des difficultés dans la prise en charge thérapeutique des infections, en raison de leur fréquence d'isolement et leur gravité en termes de morbidité et de mortalité. D'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies et surtout vers les végétaux qui ont toujours constitué une source potentielle de nouveaux composés bioactives d'intérêt thérapeutique. La dernière partie de notre travail est une étude fondamentale visant la détermination qualitative et quantitative de l'action antibactérienne *in vitro* des extraits polyphénolique et des huiles essentielles des plantes médicinales vis-à-vis des souches d'Entérobactéries productrice de différents types de bêta-lactamases (BLSE, CHN et CP).

Introduction générale

Les plantes aromatiques-médicinales (PAM) sont des drogues végétales dont au moins une partie contiennent une ou des substances pouvant être utilisées à des fins thérapeutiques ou qui sont des précurseurs dans la synthèse de drogues utiles (**Sofowora, 2010**). Les substances naturelles issues de ces plantes ont des intérêts multiples mis à profit dans l'industrie pharmaceutique. Parmi ces composés, on retrouve, dans une grande mesure, les métabolites secondaires qui se sont surtout illustrés en thérapeutique vue au leurs propriétés biologique telle que les propriétés antibactériens, antifongiques, anti-inflammatoire et antioxydants (**Silva et Fernandes Júnior, 2010 ; Oguntibeju, 2018 ; Tang et al., 2019**).

Différentes plantes sont caractérisées par la biosynthèse de molécules odorantes qui constituent ce qu'on appelle les huiles essentielles (HE), connues depuis longtemps pour leur activité antiseptique et thérapeutique dans la médecine populaire (**Hanif et al., 2019**). Ces huiles essentielles sont des extraits naturels des plantes médicinale-aromatiques ; il s'agit d'un mélange de composés aromatiques organiques obtenu par hydrodistillation (**Bousbia et al., 2009**). La composition chimique des HEs est assez complexe, il y a plus de 200 molécules chimiques dans le mélange d'huiles essentielles pures. Elles peuvent être classées en deux catégories, la première catégorie est la fraction volatile, représente 90 à 95 % du poids total de l'huile. Elle contient des monoterpènes, des sesquiterpènes et leurs dérivés oxygénés. Des alcools aliphatiques, des esters et des aldéhydes peuvent également être présents dans la fraction volatile. La deuxième catégorie des composants est celle constitué par des résidus non volatils, représente 1 à 10 % du poids total de l'huile essentielle, et il contient des acides gras, des hydrocarbures, des stérols, des cires, des flavonoïdes et des caroténoïdes (**Hanif et al., 2019 ; Jugreet et al., 2020**).

En plus des huiles essentielles, les polyphénols constituent aussi l'un des groupes les plus nombreux et les plus distribués des substances phytochimiques dans les plantes, avec plus de 8000 structures phénoliques connues (**Garcia-Salas et al., 2010 ; Vuolo et al., 2019**). Les polyphénols sont des produits du métabolisme secondaire des végétaux et présents dans tous les organes de la plante (feuilles, tiges, graines, racines ... etc). Ces molécules possèdent plusieurs groupements phénoliques, avec ou non d'autres fonctions (OH alcoolique, carboxyle...etc.), et ils peuvent être divisés en dix classes différentes en fonction de leur structure chimique de base (**Garcia-Salas et al., 2010 ; Saxena et al., 2013**).

On distingue plusieurs groupes de ces composés tels que, les phénols (les simples Phénols, les acides Phénoliques, les Quinones, les Flavonoïdes, les Flavones, les Flavonols, les

Introduction générale

Tannins, les Coumarines et les Lignanes), les Alcaloïdes, les Terpénoïdes, les Lectines et les polypeptides... etc. (Kurmuikov, 2013 ; Halake *et al.*, 2016). Ces groupes phénoliques ont des propriétés biologiques importantes telles que, les propriétés antioxydante, les propriétés antimicrobiennes, les propriétés anticancéreuses, la modulation des enzymes de détoxification, la stimulation du système immunitaire, la diminution de l'agrégation plaquettaire et la modulation du métabolisme des hormones (Saxena *et al.*, 2013 ; Liu *et al.*, 2018).

Dans le domaine des anti-infectieux, la recherche des nouvelles substances à partir des huiles essentielles et des composés polyphénolique des plantes médicinales attire tous les flashes et constitue une étape substantielle dans le développement de nouveaux médicaments, car la plupart des agents anti-infectieux (tels que les antibiotiques) ne répondent pas aux besoins des patients en tant qu'un traitement efficace et éventuellement, plusieurs accidents risquent d'être à l'origine d'un état indésirable (Petrovska, 2012). Dans ce contexte, la dernière partie de notre étude a porté sur l'extraction des principes actifs de trois plantes médicinal-aromatique qui sont : *Origanum majorana L.*, *Myrtus communis L.* et *Salvia officinalis* et l'évaluation de leurs effets inhibiteurs sur la croissance de différentes espèces d'Entérobactérie uropathogène productrice de bêta-lactamase à spectre élargie, de Carbapénèmase et de Céphalosporinase à haut niveau. Nous avons sélectionné les trois espèces végétales à cause de leurs propriétés médicinales et suite à une étude ethno-pharmacologique sur les plantes médicinales les plus largement utilisés par les populations Algérienne en médecine traditionnelles. (Voire chapitre matériels et méthodes).

À la lumière de ce qui a été évoqué, l'objectif principal de ce travail est d'établir la prévalence des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques et productrices de différents types des BLSE, des Carbapénèmases et des Céphalosporinases à haut niveau qui sont incriminées dans les infections urinaires diagnostiquées au niveau 06 établissement de santé dans la wilaya de Tébessa, de caractériser les gènes codant pour des BLSE, des CHN et des CP chez les souches de notre collection, et enfin de rechercher une alternative thérapeutique pour contrecarrer la dissémination des Entérobactéries multi-résistantes aux ATBs à travers le recoure aux molécules bioactives à activité antimicrobienne extraite de trois plantes médicinal-aromatique qui sont : *Origanum majorana L.*, *Myrtus communis L.* et *Salvia officinalis*.

Introduction générale

Ce manuscrit s'articule autour de 4 parties :

- La première partie est consacrée à un bref rappel sur les infections urinaires, la description des Entérobactéries, les antibiotiques, leur mode d'action et les mécanismes de résistance des Entérobactéries aux antibiotiques, notamment leur résistance au β -lactamine, avant de définir plus précisément les BLSE, les CHN, les CP, les plantes médicinales et des approches sur leurs composés bioactives (huiles essentielles et substances phénolique) et leurs propriétés biologiques.
- La deuxième partie présente le matériel et les méthodes expérimentales utilisées.
- La troisième partie présente l'ensemble des résultats obtenus dans notre travail et la discussion qui en découle.
- La quatrième partie est consacrée à la conclusion, aux perspectives de recherche à venir et aux recommandations.

Partie Expérimentale

i. Plan de l'étude

Le présent travail a été réalisé en trois parties :

La première partie a porté sur la caractérisation phénotypique de la production des bêta-lactamases à spectre étendu, des céphalosporinase haut niveau et des carbapénèmase par des souches d'Entérobactéries isolées à partir des patients admis au niveau de différents services des établissements publics de santé dans la wilaya de Tébessa. Les souches étudiées ont été isolées à partir prélèvements urinaires, l'isolement et la purification ont été réalisés selon les méthodes bactériologique classique, et l'identification a été effectuée par API 20^E (BioMérieux). Par la suite, une étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion des disques pour 22 ATB, suivi par la détection phénotypique de la production des BLSE, des CHN et des CP chez les souches testées.

La deuxième partie de notre travail a été concernée par la caractérisation moléculaire des BLSE, des CHN et des CP par PCR pour certaines souches de notre collection.

Ensuite, des alternatives thérapeutiques contre ces souches productrices de différents types d'enzymes de résistance aux bêta-lactamines ont été recherchées dans la troisième partie de notre étude. Il s'agit d'une évaluation in vitro de l'effet inhibiteur des extraits polyphénoliques et des huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*, de *Myrtus communis L.* et d'*Origanum majorana L.* sur différentes souches d'Entérobactérie uropathogènes productrice de BLSE, de CHN et de CP.

ii. Cadre d'étude (Lieu et période d'étude)

Notre étude a été effectuée sur une période de trois ans allant du Novembre 2018 au Décembre 2021. Les échantillons urinaires étudiés ont été prélevés essentiellement aux onze services différents répartis sur six EPH dans la wilaya de Tébessa ; (service de médecine interne, service de chirurgie interne, service d'orthopédie, service de pneumo-phtisiologie, service de dialyse, service de gynécologie, service de maternité, service de réanimation, service de Pédiatrie, service d'infectiologie et service externe.

Dans la première partie, 1267 prélèvements urinaires ont été analysés au niveau de Laboratoire de Molécules Bioactive et Application de la faculté de Sciences Exacte et Sciences de la Nature et de Vie, de l'université Echahid Cheikh Larbi Tebessi- Tébessa.

Pour la deuxième partie, la détermination des gènes de résistance hébergés par les entérobactéries productrices de bêta-Lactamases à spectre élargi (BLSE), des Carbapénèmase (CP) et des Céphalosporinase haut niveau (CHN) a été menée au sein du laboratoire Gene Life Science (GLS) à Sidi Bel Abbés.

Concernant la troisième partie, l'extraction des huiles essentielles et la détermination de leurs activités antibactériennes ont été réalisés au niveau de Laboratoire de Molécules Bioactive et Application et le laboratoire de l'eau et environnement de l'université Echahid Cheikh Larbi Tebessi- Tébessa. Tandis que la préparation des extraits polyphénolique et le dosage de composés phénoliques ont été effectuée au niveau de Laboratoire des Matériaux organiques et hétéro-chimie de la faculté de Sciences Exacte et Sciences de la Nature et de Vie, de l'université Echahid Cheikh Larbi Tebessi- Tébessa. Finalement, l'identification des composés chimiques des huiles essentielles ont été réalisées par une chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CPG-MS ou GC-MS), au niveau Centre de Recherche Scientifique et Technique en Analyses Physico – Chimiques (CRAPC) à Tipaza et à Ouargla.

iii. Objectifs du travail

- L'établissement d'un profil épidémiologique des Entérobactéries uropathogènes dans les établissements publics de santé de la wilaya de Tébessa (isolement et identification des Entérobactéries potentiellement responsables des infections urinaire dans cette région).
- L'évaluation de la résistance aux antibiotiques des souches identifiées.
- La détermination des mécanismes de résistance aux β -lactamines par la détection phénotypique de la production des béta-Lactamase à spectre étendu (BLSE), des Céphalosporinase à haut niveau (CHN) et des Carbapénèmases (CP).
- La détermination de la prévalence des Entérobactéries multirésistantes pour chacune des espèces suivantes :
 - ✓ Entérobactéries productrices de béta-Lactamase à spectre étendu (E-BLSE).
 - ✓ Entérobactéries productrices de Céphalosporinase à haut niveau (E-CHN).
 - ✓ Entérobactéries productrices de Carbapénèmase (EPC).
- Le contrôle d'évolution du profil épidémiologique des Entérobactéries uropathogènes productrices de BLSE, de CP et/ou de CHN dans la wilaya de Tébessa.
- La recherche des gènes de résistance codant pour les Bêta-Lactamases à spectre élargie (BLSE), les Céphalosporinases plasmidique (AmpC) et les Carbapénèmases CP.
- La recherche des alternatives thérapeutique contre ces souches par l'étude de l'activité antibactérienne des extraits polyphénolique et des huiles essentielles de trois plantes médicinales sur différentes espèces d'Entérobactérie uropathogènes productrice de BLSE, de CP et de CHN.
- Détermination des compositions chimiques des huiles testés par GC-MS, afin de mettre en évidence la relation « composition-activités antibactérienne ».

iv. Matériels

Les appareils, les réactifs et les différents milieux de cultures utilisées dans cette étude, et leurs compositions sont donnés dans les annexes (voire Annexes N° 01).

v. Méthodes

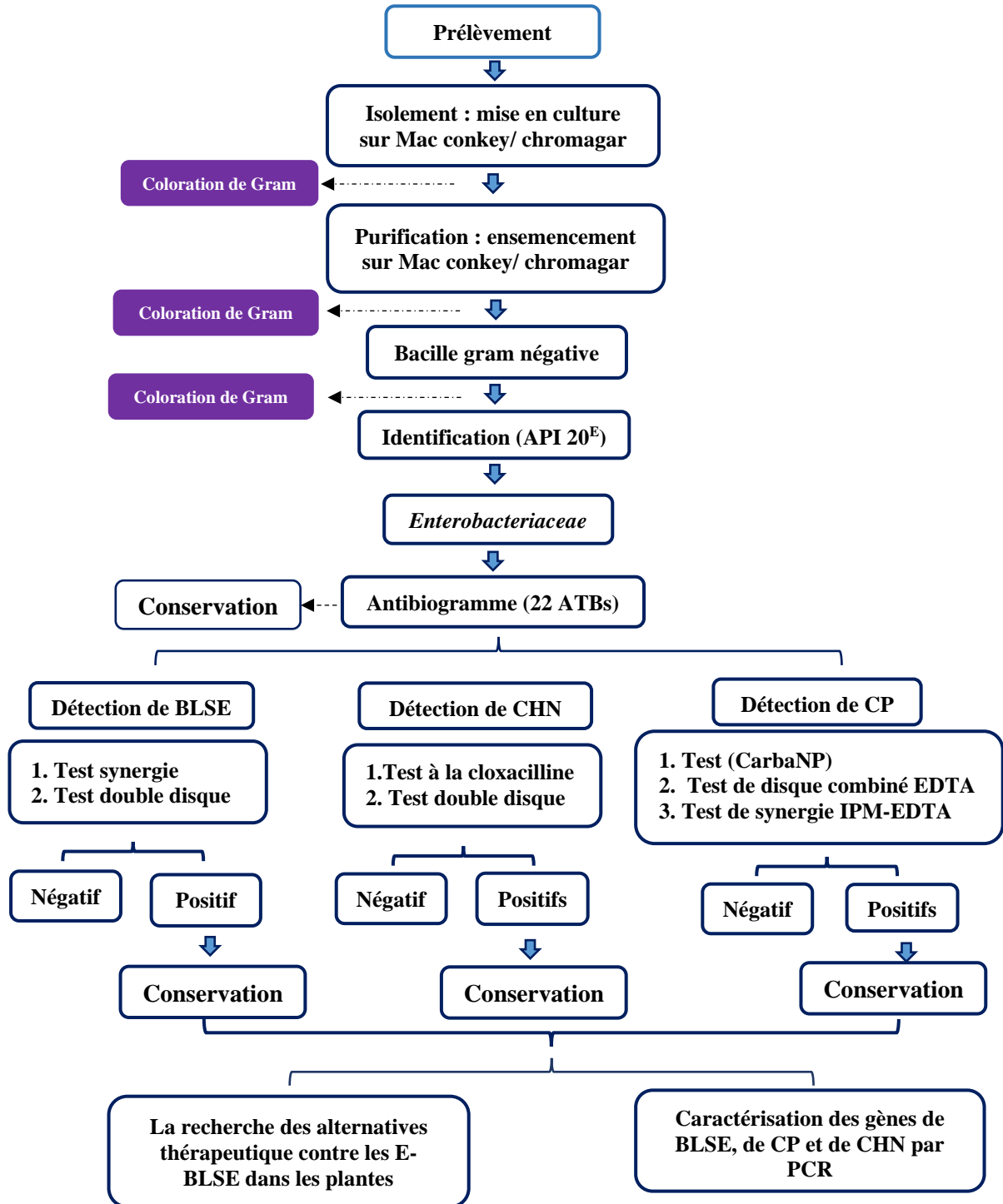


Figure 09 : schéma du protocole de recherche.

I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrices de BLSE, CHN et de CP

1. Prélèvement

Le recueil de prélèvement a été effectué idéalement au lever sur les premières urines du matin et avant toute prise antibiotique. Les échantillons ont été prélevés dans des conditions strictement aseptiques à partir de patients de plusieurs catégories, avec un nombre total des 1267 échantillons.

1.1. Techniques de Prélèvement

a) Cas d'adulte (Cas général)

Les prélèvements sont réalisés par les patients eux-mêmes ou par le personnel soignant. Après un lavage hygiénique des mains et une toilette soigneuse des organes génitaux externes à l'aide d'un antiseptique qui a été appliqué sur les extrémités des organes, un recueil d'urine a été fait selon la méthode dite du "milieu de jet", cette méthode consiste à éliminer le premier jet (20 ml environ) puis à recueillir les 20 à 30 ml suivants dans un flacon stérile (Berthélémy, 2016).

b) Cas du nourrisson :

1^{ère} possibilité ; recueil « à la volée » ou « milieu de jet »

Cette méthode est utilisée avec les enfants qui urinent en général toutes les 20 à 30 minutes. Elle consiste à recueillir l'urine au cours de la miction après une désinfection soigneuse de la vulve, du prépuce ou du gland (Berthélémy, 2016).

2^{ème} possibilité : recueil d'urines à l'aide d'un collecteur

Chez les bébés et les enfants qui ne contrôlent pas encore leur vessie, l'urine peut être recueillie dans un sac collecteur. Dans ce cas le recueil est réalisé à l'aide d'une poche à prélèvement spécifique posée après une désinfection de la zone où est placée la poche (périnée). Une fois les urines émises, la poche retirée doucement en veillant à ne pas renverser les urines (Diviney, 2020).

Remarque : Si l'enfant n'urine pas au bout d'une heure, la poche doit être retirée impérativement (risque de contamination urinaire), et une poche neuve est mise en place après une désinfection des parties externes des organes génitales (Diviney, 2020).

c) Cas du patient sondé

Le recueil de prélèvement urinaire est pratiqué dans des conditions particulières chez le patient porteur d'une sonde à demeure. Il est réalisé par ponction sur le site spécifique du dispositif de sonde (la chambre de prélèvement), après désinfection soignée et clampage de la tubulure 15 minutes avant le recueil, Cela permet d'obtenir un volume d'urine suffisamment important au niveau du site de prélèvement (**V. Phé *et al.*, 2010**).

1.2. Transport et conservation des prélèvements

Afin d'éviter toute contamination bactérienne, le transport des prélèvements urinaires a été effectué dans le respect des conditions pré-analytiques, il a été réalisé le plus vite possible (2 heures de temps au maximum). Au-delà de ce délai, le flacon d'urine sera placé dans la glace (**Béliveau *et al.*, 2010**).

Si l'échantillon d'urine ne peut être analysé moins de 4 heures après sa collecte, il peut être réfrigéré (entre 2 et 8 °C) sans modification de la bactériurie (en sachant que la réfrigération ne préserve pas les leucocytes) (**Froom *et al.*, 2000**).

Remarque : Les échantillons collectés sont soigneusement étiquetés. L'étiquette doit porter les renseignements suivants : le nom, le prénom et l'âge du patient, la date et l'heure de prélèvement, les symptômes ou bien les signes cliniques du patient, le service et l'EPH. Ces étiquettes sont attribuées d'un numéro d'ordre.

2. Isolement des germes

Afin d'obtenir des colonies bien isolées des entérobactéries uropathogènes, les souches ont été isolées sur deux géloses sélectives (MacConkey ou Chromagare). À l'aide d'une anse de platine, une öse de l'échantillon mère bien agité est prélevée et déposée sur la gélose par la technique de stries « Ensemencement Semi-quantitative », puis les géloses ensemencées sont incubées à 37°C pendant 24 H en atmosphère normale.

Après incubation, plusieurs caractères peuvent être étudiés pour l'identification des germes bactériens isolés dont les principaux sont : la taille, l'aspect, la couleur et le contour des colonies (**examen macroscopique**), la forme de bactéries et la nature biochimique de la paroi (**Examen microscopique**) (Annexe N°02).

2.1. Purification

Afin de confirmer la pureté de souches isolées, des repiquages successifs ont été effectués sur les mêmes milieux d'isolement (MacConkey ou Chromagare) par la méthode des cadrans.

Des observations microscopiques ont été réalisées suite d'une coloration de Gram pour confirmer la pureté des isolats (**Examen microscopique**).

2.2. Conservation des souches

Les isolats purifiés ont été conservés par deux méthodes : (**Brenner *et al.*, 2015**)

Conservation de courte durée : les isolats ont été conservés sous les formes cellulaires naturelles à vie ralentie (à température à 04 ° C) sur une gélose nutritive inclinée pendant 03 à 06 mois.

Conservation de longue durée : (cryogéniquement) : dans ce cas la conservation des isolats a été fait à des très basses températures (congélation à -20 °C) en utilisant un glycérol à 20 % en suspension dans un bouillon nutritif concentré. Cette méthode est adaptée à des conservations de l'ordre de 1 à 3 ans.

3. Identification des souches

Afin de confirmer la pureté des isolats à identifier des observations microscopiques sur les colonies des cultures jeunes pure sont refaite, puis nous procédons à l'identification de ces bactéries par l'utilisation des galeries biochimiques API 20E (BioMerieux, Marcy l'étoile, France).

3.1. Test préliminaire (Test de l'oxydase)

Le test d'oxydase est une procédure différentielle importante qui doit être effectuée sur toutes les bactéries Gram-négatives qui doivent être identifiées. Les Entérobactéries comme *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* sont dépourvues d'Oxydase (**Lister *et al.*, 2008**).

Principe

Ce test permet de mettre en évidence une enzyme « **la Phénylène Diamine Oxydase** » des bactéries à partir de leur culture en milieu gélosé.



Technique

A l'aide de pinces stérile, un disque d'oxydase a été placé sur une lame porte objet. Une colonie bien isolée et représentative de la culture fraîche à tester a été prélevée à l'aide d'un bâtonnet ou d'une öse et frottée doucement sur le disque pré-imprégné par le réactif (**Gadou, 2019**).

Lecture

Oxydase positive : l'apparition d'une coloration violette dans un délai de 10 secondes.

Oxydase négative : le disque reste incolore.

Remarque : ne pas utiliser d'öse de métal (à l'exception du platine) cela peut provoquer des réactions faussement positives.

Les isolats Oxydase-négatifs ont ensuite été identifiés à l'aide du système de test API 20E (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) et du logiciel d'identification correspondant (API Lab Plus) (**Kandhai, 2004**).

3.2. Identification de souches (Galerie API 20E)

L'utilisation et la lecture de la galerie Api 20E, ce sont faites en suivant les instructions des notices Api 20 E de Biomérieux, France.

Principe

La galerie **API 20 E**, sont des galeries miniaturisées et standardisées de tests biochimiques, exploitables avec des bases de données d'identification complètes (20 caractères pour les entérobactéries) (**Becker et al., 2004**), il s'agit de galerie présente sous la forme d'une série de petits tubes, chaque tube contient un substrat déshydraté défini (ONPG, ODC, CIT...) et avec lequel les micro-organismes réagissent différemment. Les réactions produites pendant la période d'incubation des galeries se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition des réactifs (**Ndoutamia et al., 2014**).

Technique

Pour chacune des API les étapes suivantes ont été réalisés (Figure 10) :

✓ Préparation de la galerie

Le fond et le couvercle d'une boîte d'incubation ont été réunis, 5 ml d'eau distillée ont été distribués dans les alvéoles du fond de la boîte pour créer une atmosphère humide, et la galerie a été déposée stérilement dans la boîte.

✓ Préparation d'inoculum

A l'aide d'une anse de platine, des colonies homogènes et bien isolées ont été prélevées à partir d'une culture jeune (18 à 24h) sur une gélose nutritive, une suspension bactérienne en 5 ml de solution saline (0,9 % NaCl) a été préparée en équivalente à 0,5 McFarland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml).

✓ Inoculation de Galerie

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, les micro-tubes de la galerie ont été remplis par la suspension bactérienne à analyser, (pour éviter la formation des bulles au fond des tubes, la pipette est posée sur le côté de la cupule et la boîte d'incubation doit être légèrement inclinée vers l'avant) :

- Pour les tests CIT, VP et GEL, le tube et la cupule sont remplis.
- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H₂S, URE, la cupule est remplie par l'huile de paraffine stérile pour la création de l'anaérobiose.
- Pour les autres tests, seuls les tubes sont remplis (et non les cupules).

Ensuite, la boîte d'incubation est fermée et placée dans l'étuve à 37°C, pendant 24 h.

✓ Lecture

La lecture des galeries est faite selon les indications du fournisseur. La détermination de la positivité et la négativité de chaque test consiste sur une lecture soit direct (sans ajout des réactifs) soit indirect (en ajoutant des réactifs spécifiques « TDA, IND et VP ») (Annexe N°03).

Matériels et Méthodes

✓ Interprétation

L'identification finale des souches a été obtenue à partir du profil numérique (score attribué selon la positivité ou la négativité du chaque paramètre) puis la recherche de ce profil dans le catalogue analytique et par un logiciel d'identification (API Lab Plus).

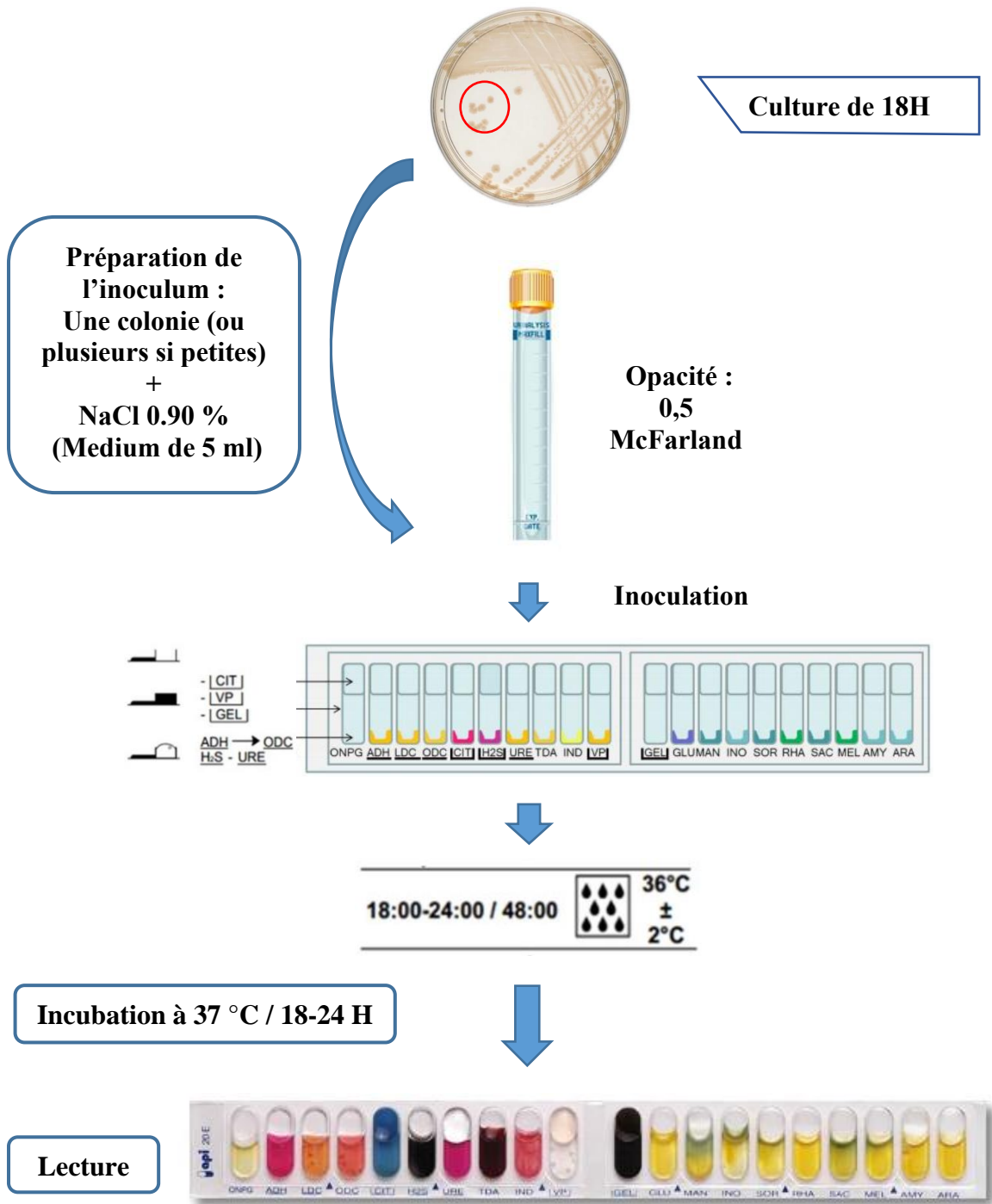


Figure 10 : Les étapes d'identification des souches par API 20 E.

4. Sensibilité aux antibiotiques

Principe

L'antibiogramme est réalisé par la technique de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques) selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**CA-SFM, 2018**) et de Clinical and Laboratory Standards Institute (**CLSI, 2018**). Ces recommandations concernent la préparation du milieu de culture, de l'inoculum, du choix et de la disposition des disques d'antibiotiques. La validité des disques et de la conformité du milieu Muller Hinton est vérifiée par la souche de référence ; *E. coli* / ATCC 25922. La vérification est réalisée avec chaque changement de lot de disques ou de milieu gélosé.

✓ Technique

a) Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 18H à 24H sur milieu ordinaire, une suspension en 5 ml d'eau physiologique (0,9 % NaCl) a été préparée et son opacité est ajustée à 0,5 McFarland (correspondant à environ 10^8 bactéries/ml).

b) Ensemencement des boîtes (Application des disques)

L'inoculum a été bien homogénéisée, puis ensemencée par écouvillonnage sur des boîtes de Pétri gélosées en Mueller-Hinton. 22 disques d'antibiotiques de différentes familles (**Tableau N° 01**) ont été disposés sur la gélose à l'aide d'un distributeur ou par une pince stérile. Les boîtes ont été ensuite incubées pendant 18-24 H à $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$.

c) Lecture interprétative de l'antibiogramme

A l'aide d'un pied à coulisse, les différents diamètres des zones d'inhibition obtenus autour des disques d'antibiotiques ont été mesurés avec précision ; puis ils sont comparés aux valeurs critiques figurant dans les abaques de lecture conformément aux normes de la **CA-SFM 2018** et de **CLSI 2018**. Les bactéries sont classées selon ces diamètres critiques en l'une des 3 catégories suivantes : sensible (S), intermédiaire (I), ou résistante (R).

Matériels et Méthodes

Tableau01 : Liste des antibiotiques testés par familles (CA- SFM, 2018 ; CLSI, 2018)

Familles	Antibiotiques	Abréviation	Charge	Diamètre Critique		
				S	I	R
Pénicillines	Amoxicilline	AMX	30 µg	≥ 19	-	< 19
	Pipéracilline	PIP	100µg	≥ 21	18 - 20	≤ 17
	Ticarcilline	TIC	75 µg	≥ 23	21 - 22	≤ 20
	Amoxicilline-Acide clavulanique	AMC	20/10 µg	19	-	19
	Ticarcilline-Acide clavulanique	TCC	75/10 µg	≥ 23	21 - 22	≤ 20
Céphalosporines	Céfalexine	CL	30µg	≥ 14	-	< 14
	Céfoxitine	FOX	30 µg	≥ 19	16 - 18	≤ 15
	Ceftazidime	CAZ	30 µg	≥ 21	18 - 20	≤ 17
	Cefotaxime	CTX	30 µg	≥ 26	23 - 25	≤ 22
	Céfixime	CFM	5 µg	≥ 17	-	< 17
	Céfépime	FEP	30 µg	≥ 27	22 - 26	≤ 21
Monobactames	Aztréonam	ATM	30 µg	≥ 26	22 - 25	≤ 21
Carbapénèmes	Ertapénème	ETP	10 µg	≥ 25	23 - 24	≤ 22
	Imipénème	IPM	10 µg	≥ 22	17 - 21	≤ 16
Aminosides	Amikacine	AN/ AK	30 µg	≥ 16	14 - 15	≤ 13
	Tobramycine	TOB	10 µg	≥ 17	13 - 16	≤ 14
	Gentamicine	GM/GN	10 µg	≥ 17	13 - 16	≤ 14
Quinolones	Ofloxacin	OFX	5 µg	≥ 24	23	≤ 22
	Ciprofloxacine	CIP	5 µg	≥ 26	25	≤ 24
Autres familles	Sulfaméthoxazole-Triméthoprime	SXT	25 µg	≥ 14	12 - 13	≤ 11
	Nitrofurantoin	NIT	300µg	≥ 11	-	< 11
	Fosfomycine	FOS	50 µg	≥ 19	-	<19

5. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines

5.1. Détections phénotypiques des β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

La production d'une β -lactamase à spectre élargi a été recherchée pour les isolats qui présentaient des diamètres de zone ≤ 22 mm pour la Céfotaxime et/ou des diamètres ≤ 27 mm pour la Céfotaxime et l'Aztréonam. (CA-SFM, 2020). Les tests qui nous ont utilisés sont : le test de synergie et des tests complémentaires tels que le test à la Cloxacilline (pour la détection des CHN) et le test de double disque (Figure 11).

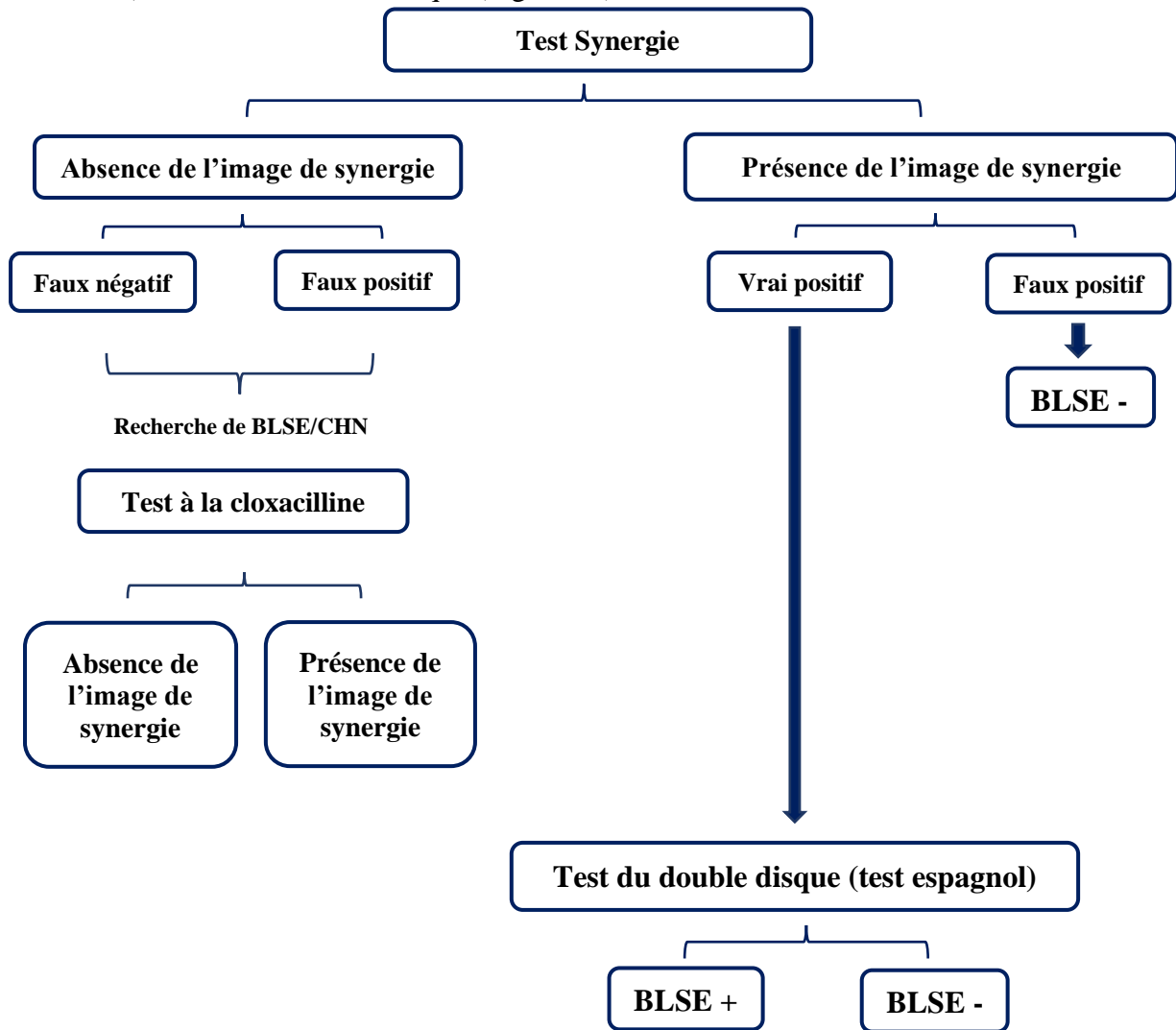


Figure 11 : Protocol suivie pour la détection de la production de BLSE (seul ou associé au Céphalosporinase) (CA-SFM, 2020).

5.1.1. Test de synergie

Principe

La détection des BLSE par le test de synergie consiste à l'utilisation des inhibiteurs de β -lactamases tels que l'acide clavulanique, en combinaison avec une Céphalosporine de troisième génération et l'Aztréonam (**Rakotovao-Ravahatra *et al.*, 2021**). La réduction de niveau de résistance aux Céphalosporines et l'inhibition des enzymes de type BLSE par l'acide clavulanique se traduit par l'apparition d'une image de synergie entre les disques. Cette image dite "bouchon de Champagne" (**Drieux *et al.*, 2008**).

Technique

Ce test qualitatif réalisé directement sur l'antibiogramme, en disposant un disque d'Amoxicilline + acide Clavulanique (AMC 20/10) et des disques de C3G (Céfotaxime (CTX 30 μ g) et Céfotazidime (CAZ 30 μ g)), un disque de C4G Céfépime (FEP 30 μ g) et un disque de monobactam (l'Aztréonam (ATM 30 μ g)) à une distance de 20 à 30 mm sur une boîte de gélose Mueller Hinton (Figure N° 12). La boîte de Pétri est ensuite incubée pendant 18 à 24 H à 37° C (**Hélène *et al.*, 2011 ; Nedjai *et al.*, 2012**). Le contrôle de la qualité a été réalisé avec la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 (**Sinha *et al.*, 2007**).

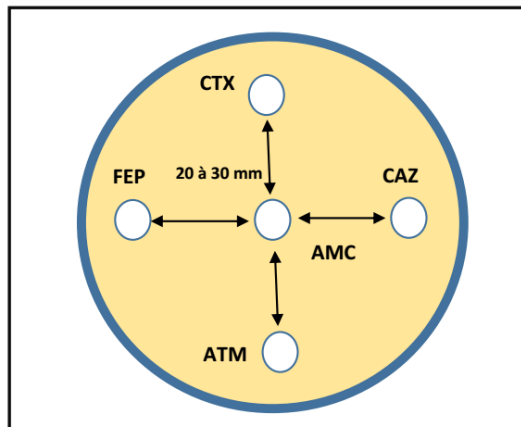


Figure 12 : Disposition des disques pour le test de synergie (**Hélène *et al.*, 2011**).

Lecture

L'apparition d'une image de synergie (un aspect bouchon de champagne) entre le disque d'AMC et les disques des Céphalosporines indique la présence d'une BLSE.

5.1.2. Test de confirmation (Technique du double disque)

Principe

Le principe de cette méthode est de mesurer la zone d'inhibitions autour d'un disque de Céphalosporine de 3^{ème} génération et d'un disque de Céphalosporine plus l'acide clavulanique. Selon le type de disque, une différence de 5 mm entre les deux diamètres ou une expansion de zone de 50 % sont considérées comme indicateur de la production de BLSE (CA-SFM, 2020).

Technique

Ce test décrit par (Ashrafian *et al.*, 2013), il a été réalisé dans les mêmes conditions standards de l'antibiogramme (préparation de l'inoculum et l'ensemencement des boîtes). Ensuite, deux disques d'AMC et de C3G (Céfotaxime) ont été placés à une distance de 30mm (centre à centre). Les antibiotiques ont été laissés à diffuser pendant une heure à température ambiante (sur la paillasse). Après la diffusion, le disque d'AMC a été enlevé et remplacé par un disque de Céfotaxime (Figure 13), La boîte est ensuite incubée pendant 18 H à 37°C ± 1°C.

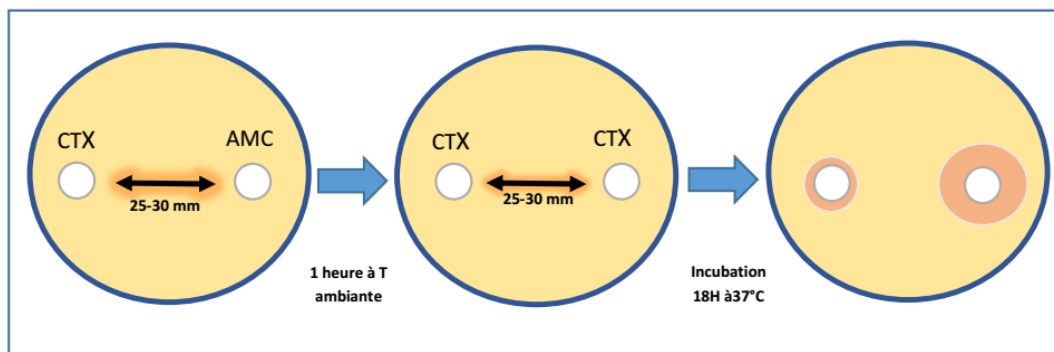


Figure 13 : Technique de test double disque (test de confirmation d'une BLSE (Ashrafian *et al.*, 2013)).

Lecture

Ce test est considéré positif si le diamètre d'inhibition autour du C3G, appliqué après pré-diffusion de l'AMC est supérieur ou égale à 4 - 5 mm par rapport au diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de C3G (Figure 13).

5.2. Détections phénotypiques des Céphalosporinases à haut niveau (CHN)

5.2.1. Test à la Cloxacilline

Principe

Pour certaines Entérobactéries elle est parfois difficile de distinguer les β -lactamases à spectre élargi « BLSE », la production de ces dernières peut être masquée par l'hypersecretion des Céphalosporinases « CHN » (Hélène *et al.*, 2011).

Dans ce cas, le test à la Cloxacilline est réalisé pour détecter une BLSE associée qui serait masquée par l'hyperproduction d'une Céphalosporinase, par la réalisation un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de Cloxacilline (inhibiteur de Céphalosporinase) (CA-SFM, 2020).

Technique

a) Préparation des géloses à la Cloxacilline

À l'aide d'une balance de précision, les quantités de Cloxacilline indiquées dans le tableau suivant ont été pesées et dissoutes dans 10 ml d'eau distillée stérile (la concentration de la Cloxacilline est déterminée selon le groupe bactérien). Ensuite, des dilutions décimales (1/10) des solutions mères ont été réalisées dans la gélose Mueller Hinton tiède (Tableau N° 02). (Rahal, 2005 ; OMS, 2011).

Tableau 02 : Préparation des boites de gélose à la Cloxacilline. (Rahal, 2005 ; OMS, 2011).

	entérobactéries du Groupe 1 et2	entérobactérie groupe 3
concentration en Cloxacilline	0,25mg/ml	0,3mg/ml
Préparation de la solution de Cloxacilline	25mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée stérile	30mg de Cloxacilline + 10ml d'eau distillée stérile
Pour une boîte (90mm)	2ml de la solution de Colxacilline +18ml de Mueller Hinton	2ml de la solution de Colxacilline +18ml de Mueller Hinton

b) Application des disques

Les disques d'antibiotiques (β -lactamines) ont été placés de la même manière que pour le test de synergie sur la surface glosée ensemencée, puis l'incubation des boîtes a été faite pendant 18 H à 24 H à 37°C. Le contrôle de qualité a été réalisé avec la souche *E. coli* ATCC 25922.

c) Lecture

Le test à la Cloxacilline est interprété par comparaison entre les résultats de l'antibiogramme réalisé sur MH additionné de Cloxacilline et celui réalisé sur MH sans Cloxacilline.

d) Interprétation

- Une restauration de l'activité des bêta-lactamines indique la présence de Céphalosporinase. (Phénotype sauvage)
- Une restauration de l'activité des Céphalosporines de 3^{ème} génération, ou bien, une restauration de l'activité des bêta-lactamines associées aux inhibiteurs des bêta-lactamase sans apparition de l'image de synergie indique la présence d'un Céphalosporinase hyperproduite.
- Une restauration de l'activité des bêta-lactamines testés avec apparition de l'image de synergie indique la présence d'un Céphaloporinase avec la présence d'une BLSE. (Rahal, 2005 ; Abid *et al.*, 2007).

5.3. Détections phénotypiques des Carbapénèmases

La production des Carbapénèmases a été détectée pour toute souche présentant une diminution de sensibilité à l'Ertapénème, Il s'agit des isolats qui présentaient des diamètres de zone <25 mm pour un disque d'Ertapénème de 10 μ g. Ces isolats suspects d'EPC selon l'algorithme illustré dans la figure 14, et elles sont soumis aux tests de confirmation de production de Carbapénémase (CASFM, 2020).

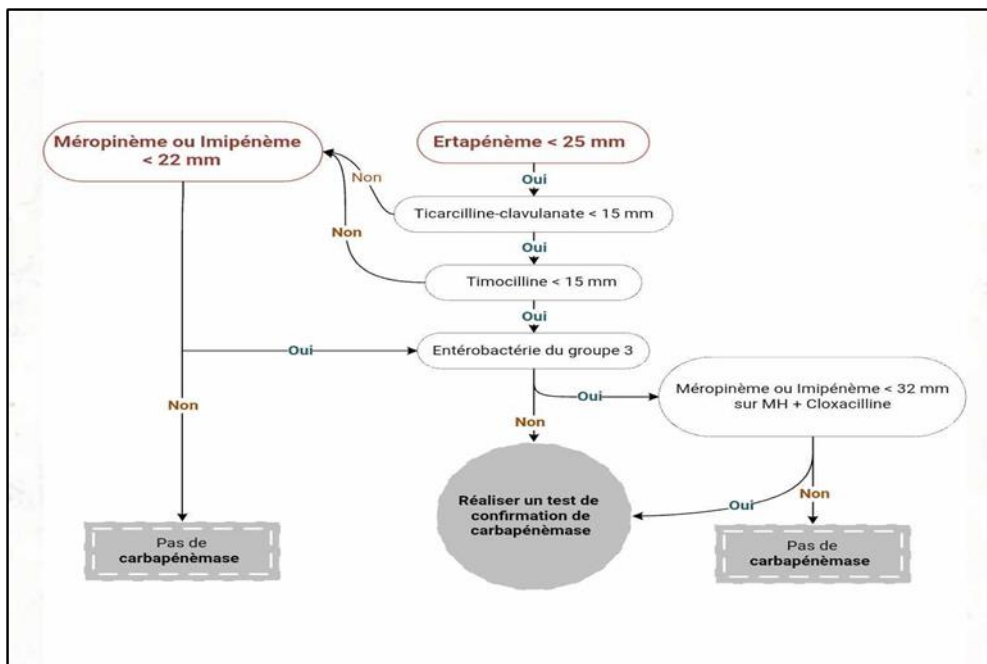


Figure 14 : Algorithme phénotypique de criblage des souches d'Entérobactéries productrices de Carbapénémases (CA-SFM, 2020).

5.3.1. Test Carbapenemase Nordmann-Poirel (carba NP)

Ce test a une spécificité et une sensibilité de 100%, et a été validé sur plus de 1500 souches d'Entérobactéries ayant une diminution de sensibilité aux Carbapénèmes. (Dortet *et al.*, 2013). L'un d'avantages de ce test est de mettre en évidence la production de n'importe quel type de Carbapénémases (classes A, B, ou D).

Le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2020) avec quelques modifications a recommandé le test CNP comme test de confirmation pour la production de Carbapénémase.

Principe

Le test Carba NP (CNP) basé sur le principe de l'acidimétrie a été développé par (Nordmann *et al.*, 2020). Dans la méthode acidimétrique, l'hydrolyse du cycle Bêta-lactame de l'Imipénème entraîne une baisse du pH, provoquant un changement de couleur de l'indicateur rouge de phénol du rouge au jaune (Figure 15).

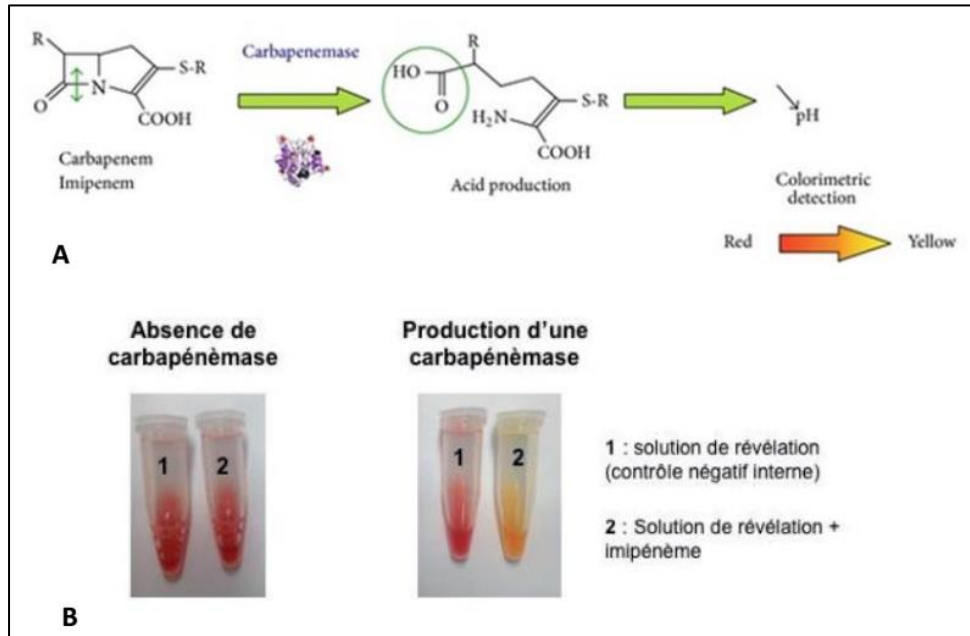


Figure 15 : (A) Principe du test Carba NP, (B) Résultats du test Carba NP. (Dortet *et al.*, 2013 ; Nordmann *et al.*, 2013).

Technique

a) Préparation des composants de test

- **Préparation d'une solution de sulfate de zinc 10 mM**

A l'aide d'une balance de précision 1,4 g de sulfate de zinc ($ZnSO_4$) a été pesée et ajouté à 500 ml d'eau distillée, le mélange a été bien homogénéisé et conservé à température ambiante (CLSI, 2020).

- **Préparation d'une solution de rouge de phénol à 0,5%**

Une quantité de 1,25g de poudre de rouge de phénol a été pesée par une balance de précision. Ensuite, la poudre a été ajoutée à 250 ml d'eau distillé. La solution obtenue a été mélangée, homogénéisée et conservée à température ambiante (CLSI, 2020).

- **Préparation d'une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) 0,1 N**

Pour préparer la solution d'hydroxyde de sodium, 40 g NaOH solide a été incorporée dans une 1000 ml d'eau distillé. A l'aide d'un agitateur magnétique la solution a été bien homogénéisée (Kurt *et al.*, 2006). Puis un volume de 20 ml de cette solution (NaOH 1 N) a été

Matériels et Méthodes

ajouté à 180 ml d'eau distillée afin d'obtenir une solution à concentration molaire 0,1N, la solution est ensuite conservée à la température ambiante (CLSI, 2020).

- **Préparation de tampon de lyse Tris-HCl**

Pour une solution 1 M, 121,1 g de base Tris « tris (hydroxyméthyl) aminométhane » a été dissoute dans 800 ml d'H₂O. Le pH de la solution a été ajustée par l'ajoute du l'HCl concentré. Après une homogénéisation le mélange a été ajouté à 1 litre d'H₂O à et conservé à 4° C ou à la température ambiante (jusqu'à 6 mois) (Current, 2001).

b) Préparation et conservation de la Solution A

La préparation de la solution A, a été réalisée comme décrit par (Nordmann, 2013 ; Rudresh *et al.*, 2017). 2 ml de la solution concentrée de rouge phénol a été mélangée dans 16.6 ml d'eau distillée, le pH de la solution a ensuite été ajustée à 7,8 par l'ajout de la solution de NaOH (0,1 N) goutte à goutte. Puis, 180 µl d'une solution de ZnSO₄ (10 mM) a été ajoutée afin d'obtenir une concentration finale de ZnSO₄ à 0.1 mM. La solution a été conservée à 4°C dans des flacons de couleur ambrée jusqu'à 15 jours.

c) Préparation et conservation de la Solution B

La solution B a été fraîchement préparée selon (Rudresh *et al.*, 2017), en ajoutant 12 mg/ml d'Imipénem-Cilastatine injectable (la quantité a été utilisé en double pour compenser le composant Cilastatine ; équivalent à 6 mg/ml de poudre d'Imipénem de qualité standard) à une solution A.

Protocole

Une boucle calibrée (10µl) de la souche testée directement récupérée de l'antibiogramme a été remise en suspension dans 200 µl de tampon de lyse bactérienne préparé (Tris-HCL 20 mmol/L) et vortexées pendant 5 Sec. Un lysat bactérien (100 µl) a été ajouté à deux tubes d'Eppendorf étiquetés « A » et « B ». 100 µl des solutions A et B ont été ajoutés aux tubes A et B, respectivement. Ensuite, Les tubes ont été vortexés et incubés pendant 2H à 37°C ± 1°C. Les tubes ont été examinés pour la couleur à des intervalles de temps de 10, 30, 60 et 120 min au cours de l'incubation (Rudresh *et al.*, 2017 ; Nordmann *et al.*, 2020).

Lecture

Un résultat positif a été interprété comme un changement de couleur du rose ou du rouge au jaune ou à l'orange/jaune, à condition que le contrôle négatif reste rose ou rouge. Les résultats positifs après 30 min ou 1 h ont été interprétés à ce moment-là sans tarder pour éviter des tests faussement négatifs en raison de la décoloration ultérieure de la réaction positive (CLSI, 2020).

Tableau 03 : Interprétation des résultats de test Carba NP (CLSI, 2020).

Tube A : Solution A (Contrôle négative)	Tube B: Solution B	Interpretation
rouge ou rouge orange	rouge ou rouge orange	Négative, pas de Carbapénémase
rouge ou rouge orange	Orange claire, jaune foncé, ou jaune	Positive, production de carbapénémase
rouge ou rouge orange	Orange	Invalide
Orange, orange claire, jauné foncé, ou jaune	N'importe quelle couleur	Invalide

5.3.2. Recherche des Carbapénémase classe B « Métallo Béta-Lactamase MBL »

5.3.2.1. Test de disque combiné « Imipénem (IMP) - EDTA ou Erthapénème (ETP) -EDTA »

Principe

Ce test est fait pour mettre en évidence la production des Carbapénémases de la classe B d'Amblor (Métallo-Béta-Lactamases) qui confèrent une résistance au Carbapénèmes, Ces enzymes utilisent un cation Zn^{2+} pour hydrolyser le cycle β -lactame et leur activité peut être ainsi, inhibée par des agents chélateurs comme l'EDTA (acide éthylène-diamine tétra-acétique) qui se fixe sur les cations de Zinc (Roll et al., 2010 ; Gill et al., 2020).

Technique

a) Préparation de solution d'EDTA

Une solution d'EDTA 0,5 M a été préparée en dissolvant 186,1 g d'EDTA dans 100 ml d'eau distillée, et le pH a été ajusté à 8 en ajoutant du NaOH (Hashemizadeh et al., 2020).

b) Application des disques

Le test de disque combiné IMP-EDTA (ou Erthapénème ETP-EDTA) a été effectué comme décrit par (Ismail *et al.*, 2018 ; Chitrabanu *et al.*, 2021). Les souches testées ont été ensemencées sur la gélose Mueller Hinton comme recommandé par le CLSI. Ensuite, deux disques d'Imipénem de 10 µg ont été placés sur la gélose, et des quantités appropriées de 10 µL de solution d'EDTA (acide éthylène-diamine-tétraacétique) ont été ajoutées à l'un d'eux pour obtenir la concentration désirée 0,5M (750 µg ; pH 8,0). Les zones d'inhibition des disques Imipénem et Imipénem-EDTA ont été comparées après 16 à 18 heures d'incubation à 37°C. (Figure N° 16).

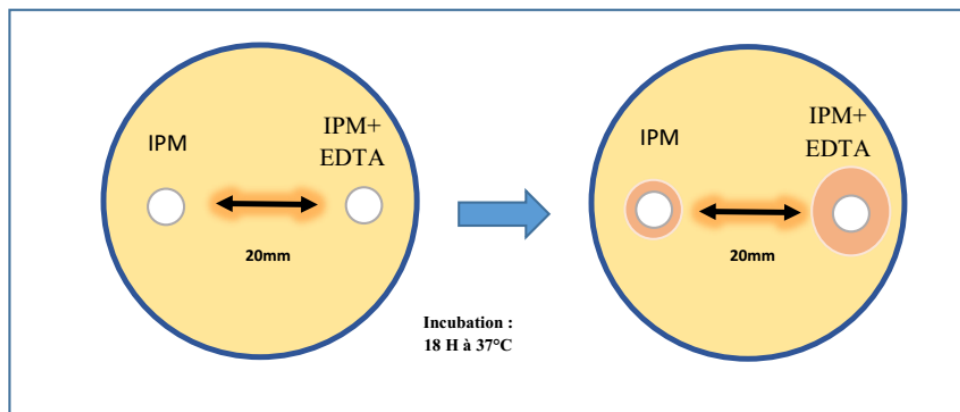


Figure 16 : Technique de test de disque combiné « Imipénem (IMP)-EDTA » (Chitrabanu *et al.*, 2021).

Lecture

Dans le test du disque combiné, si l'augmentation de la zone d'inhibition avec le disque Imipenem et EDTA était $\geq 7\text{mm}$ que le disque Imipenème seul, il était considéré comme MBL positif (Figure 16) (Ismail *et al.*, 2018 ; Chitrabanu *et al.*, 2021).

5.3.2.2. Test de synergie à double disque Imipénem-EDTA

Pour confirmer la production de MBL (métallo-bêta-lactamase) par les isolats phénotypiquement, nous avons effectué un test de synergie à double disque. Brièvement, une turbidité de 0,5 McFarland de la suspension microbienne a été étalée sur Mueller Hinton. Ensuite, un disque d'Imipénème (10 µg) ou d'Erthapénème (ETP) a été placé à 20 mm centre à centre d'un disque vierge contenant 10 µL d'EDTA 0,5 M (750 µg ; pH 8) sur la gélose (Figure N° 17). Après une période d'incubation d'une nuit à 37°C, le diamètre de la zone d'inhibition de tous les disques a été enregistré et comparé (Chitrabanu *et al.*, 2021).

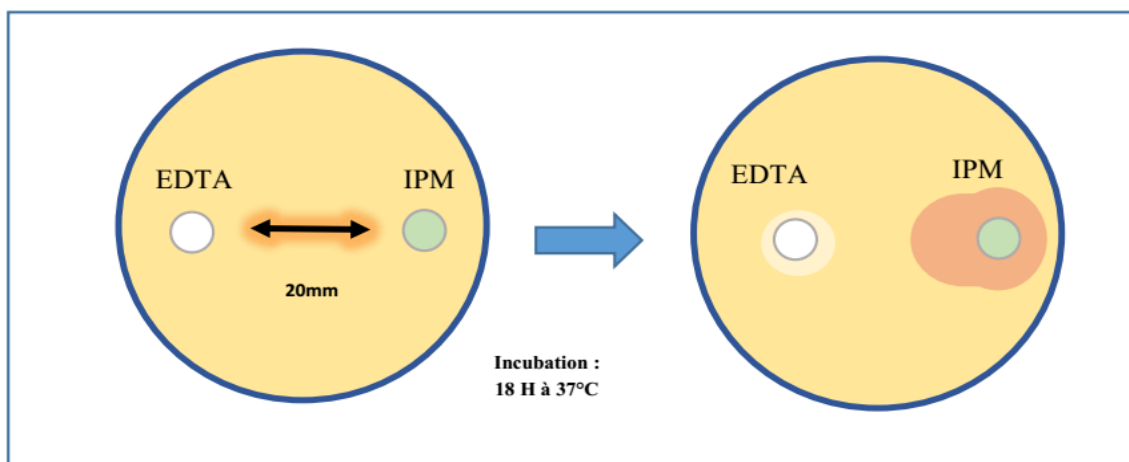


Figure 17 : Technique de test de synergie à double disque Imipénem-EDTA (Chitrabanu *et al.*, 2021).

Lecture

L'augmentation de la zone d'inhibition dans la zone entre l'Imipénème et le disque EDTA par rapport à la zone d'inhibition de l'autre côté du l'Imipénème a été interprétée comme un résultat positif (Hashemizadeh *et al.*, 2020 ; Chitrabanu *et al.*, 2021).

II. Caractérisation moléculaire des gènes codant les BLSE, les CP et les CHN

1. Extraction de l'ADN total

L'extraction de l'ADN total bactérien a été réalisée à l'aide du kit d'extraction d'acide nucléique GF-1 (Vivantis Technologies Sdn Bhd, Selangor DE, Malaysia) selon les instructions du fabricant. Ce kit applique le principe d'une technologie de spin mini-colonne et l'utilisation de tampons optimisés pour garantir que seul l'ADN est isolé tandis que les protéines cellulaires, les métabolites, les sels et autres impuretés de faible poids moléculaire sont éliminés lors des étapes de lavage suivantes. L'ADN extrait a été stocké à 4 ° C jusqu'à ce qu'il soit utilisé pour la PCR.

NB : les concentrations d'ADN ont été vérifiées à l'aide du spectrophotomètre Nanodrop (NanoDrop™ 2000, USA)

2. PCR (Polymerase Chain Reaction)

La détection des gènes codants les β -lactamases à spectre élargi (BLSE), les Carbapénèmase (CP) et les Céphalosporinases hyperproduites (AmpC) a été réalisée par PCR (Polymerase Chain Reaction)

Principe

La PCR permet d'obtenir par réplification *in vitro* des copies multiples d'un fragment d'ADN à partir d'un extrait. Il s'agit d'une technique permettant d'obtenir de grandes quantités d'une séquence d'ADN spécifique à partir d'un échantillon d'ADN. Cette amplification est basée sur la réplification d'une matrice d'ADN double brin. Elle se décompose en trois phases : une phase de dénaturation, une phase d'hybridation avec des amorces et une phase d'élongation. Les produits de chaque étape de synthèse servent de modèle pour les étapes suivantes, ainsi une amplification exponentielle est obtenue (**van Pelt-Verkuil et al., 2008 ; Staněk, 2013**). L'amplification en chaîne par polymérase est réalisée dans un mélange réactionnel qui comprend l'extrait d'ADN (ADN modèle), la Taq polymérase, les amorces et les quatre désoxyribonucléoside triphosphates (dNTP) en excès dans une solution tampon. Les tubes contenant le mélange réactionnel sont soumis plusieurs dizaines de fois à des cycles de température répétitifs dans le bloc chauffant d'un thermocycleur (**Kadri, 2019**).

Technique

Les conditions de la réaction

Le mélange de réaction PCR contient : 25 µl de master mix ; 2,25 U Taq ADN polymérase (Solis Biodyne, Estonie), 3 µl de matrice d'ADN, 5 µl de chaque amorce, 0,2 mM de chaque déoxynucléosides triphosphates « dTTP, dCTP, dGTP, DATP » (Solis Biodyne, Estonie), 1,5 mM de chlorure de magnésium (MgCl₂) et 1X tampon PCR (Solis Biodyne, Estonie) et complété jusqu'à 50 µl de volume de réaction avec H₂O distillé (**Shacheraghi et al., 2010**).

Les gènes *bla_{TEM}*, *bla_{SHV}*, *bla_{CTX-M}*, *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}*, *bla_{OXA-48}* et *bla_{AmpC}* (*DHA*) ont été amplifiés à partir de l'ADN total, en utilisant des amorces spécifiques (Tableau 04).

Protocole

L'ADN a été amplifié dans un thermocycleur (icycler Bio-Rad, USA), L'amplification a consisté en une étape de dénaturation initiale de l'ADN pendant 02 min à 94 °C. Cette étape a été suivie de 30 cycles d'amplification comprenant une dénaturation à 94 °C pendant 1 min, une hybridation à 55 °C pendant 1 minute, une élongation à 72 °C pendant 1 min, finalement l'amplification a été suivie d'une étape d'élongation finale de 7 min à 72 °C (Figure 18) (**Kadri, 2019**).

Témoins

Pour chaque PCR, un témoin positif et un témoin négatif ont été testés. Nous avons utilisé une souche d'Entérobactérie pour laquelle le gène d'intérêt a été préalablement identifié comme un contrôle positif ce qui nous ont permet de confirmer le bon déroulement de la technique de PCR. Pendant que nous utilisons une souche d'Entérobactérie ne possédant pas le gène recherché comme un témoin négatif correspond (elle permet de déceler une éventuelle contamination).

Après la réaction PCR, le produit de PCR a été séparé sur un gel d'agarose à 1,5% (Sigma-Aldrich, USA). Le gel a été soumis sous UV pour la révélation.

Matériels et Méthodes

Tableau 04 : Les Amorces utilisés pour les PCR.

Gènes	Amorces	TM	Tailles	Référence
<i>bla</i> _{TEM}	F : ATTCTTGAAGACGAAAGGGC R : ACGCTCAGTGGAACGAAAAC	60	1150 pb	(Tayh <i>et al.</i> , 2020)
<i>bla</i> _{CTX-M}	F : CGATGTGCAGTACCAGTAA R : TTAGTGACCAGAATCAGCGG	50	585 pb	(Sahoo <i>et al.</i> , 2019)
<i>bla</i> _{SHV}	F : CACTCAAGGATGTATTGTG R : TTAGCGTTGCCAGTGCTCG	52	885 pb	(Tayh, G <i>et al.</i> 2020)
<i>bla</i> _{AmpC} (DHA)	F: TGATGGCACAGCAGGATATTC R: GCTTTGACTCTTTCGGTATTCG	65	997 pb	(Salamandane <i>et al.</i> , 2022)
<i>bla</i> _{OXA-48}	F : TTGGTGGCATCGATTATCGG R : GAGCACTTCTTTTGTGATGGC	61	743 pb	(Khan <i>et al.</i> , 2019)
<i>bla</i> _{VIM}	F : GATGGTGTTTGGTCGCATA R : CGAATGCGCAGCACCAG	52	390 pb	(Vahhabi <i>et al.</i> , 2021)
<i>bla</i> _{NDM}	F : GGTTTGGCGATCTGGTTTTC R : CGGAATGGCTCATCACGATC	52	621 pb	(Vahhabi <i>et al.</i> , 2021)

Matériels et Méthodes

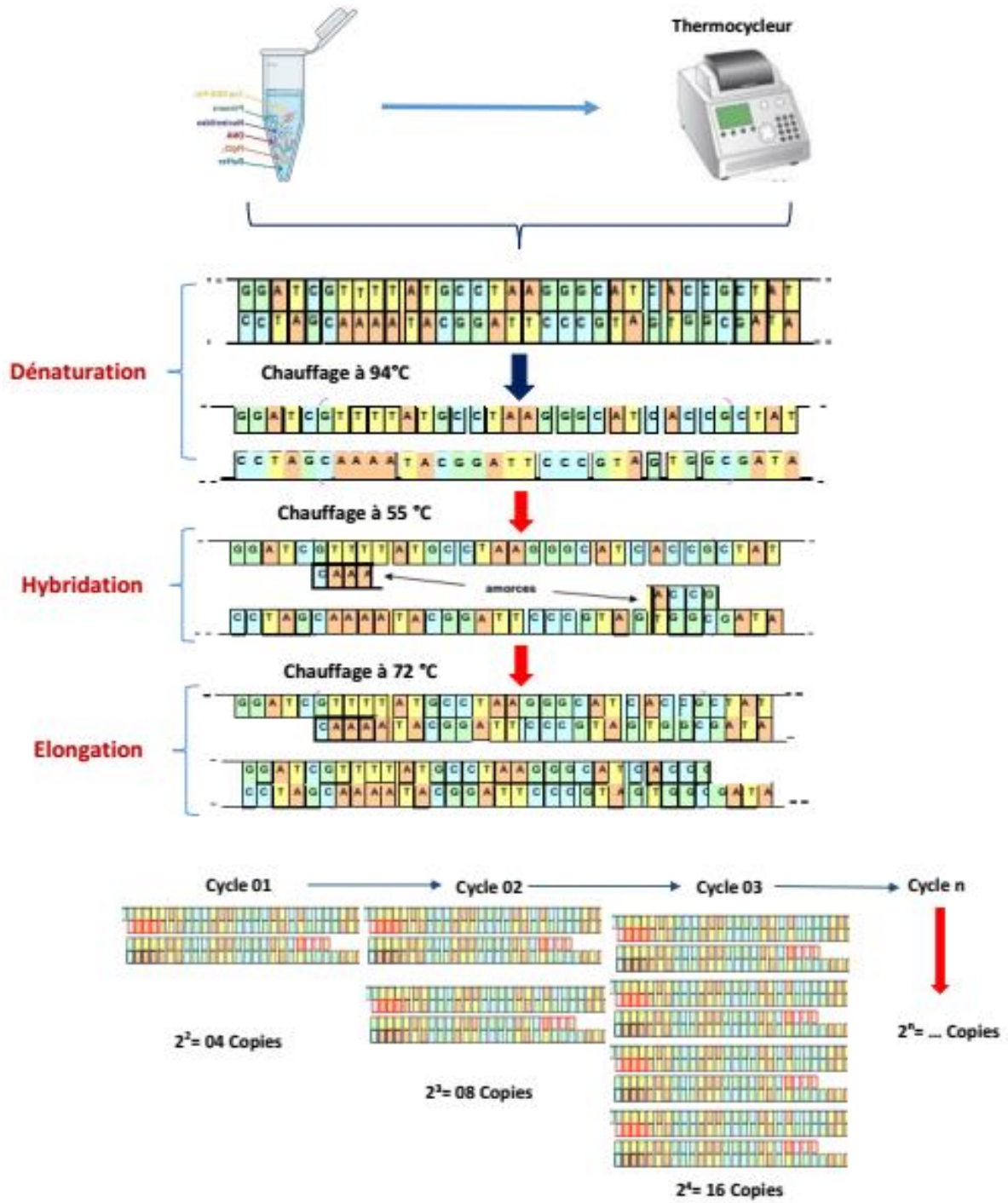


Figure 18 : Les étapes de la Polymerase Chain Reaction (PCR) (Kadri, 2019).

3. Electrophorèse sur gel d'agarose

Principe

L'électrophorèse sur gels d'Agarose est une méthode standard utilisée pour séparer, identifier et purifier les acides nucléiques (**Barril *et al.*, 2012**). Leur principe est basé sur la séparation des acides nucléiques chargés négativement sous l'effet d'un champ électrique (**Lee *et al.*, 2012**). Les fragments d'ADN de petites tailles migrent plus rapidement et plus loin que les fragments de grandes tailles (**Sambrook *et al.*, 2001**), ainsi la durée de la migration et le voltage employé sont fonction de la taille du fragment d'ADN amplifié (**Lee *et al.*, 2012**).

Technique

a) Préparation de gel

La concentration d'Agarose dans un gel dépend des tailles des fragments d'ADN à séparer, avec la plupart des gels comprises entre 0,5% à 2% (**Lee *et al.*, 2012**).

Dans la présente étude, le produit PCR a été séparé sur un gel à 1,5% (Sigma-Aldrich, USA). 6 g de la poudre d'Agarose ont été introduits d'abord dans fiole conique stérile et dissoute avec 400 ml de tampon d'électrophorèse approprié (TAE). Le flacon est fermé et chauffé à la micro-onde jusqu'à dissolution complète de l'agarose et l'obtention d'un mélange homogène. Ce mélange a été laissé au repos quelques minutes sous la hotte chimique (refroidissement à 45°C), et le colorant d'acide nucléique (HY-K1004 MCE SYBR Green I Nucleic Acid Gel Stain) a été ajouté. Enfin, le gel a été coulé dans des moules contenant d'un peigne creusant des puits, permettant de déposer les échantillons. L'épaisseur du gel est de 3 à 5mm. Une fois le gel est solidifié (refroidissement de gel à température ambiante pendant 30 à 60 minutes), le peigne est retiré et l'ensemble gel et moule est placé dans la cuve d'électrophorèse (Figure N° 19).

b) Migration électrophorétique des produits d'amplification

Le gel est immergé horizontalement dans le tampon d'électrophorèse TEA (Tris-EDTA -Acétate). Un mélange contenant la solution d'ADN et la solution de dépôt a été déposé dans les différents puits laissés par les peignes en commençant par le deuxième puits. Le premier puits a été rempli par le marqueur de poids moléculaire d'ADN (Une échelle d'ADN de cent paires de bases (100 pb) « Solis Biodyne, Estonie »). La cuve d'électrophorèse a été recouverte et la migration a été effectuée pendant 1 h et 30 min sous une tension de 80 V (Figure 19).

c) Révélation

Lorsque la migration est terminée, le gel est retiré de la cuve et exposé aux rayons UV après coloration avec Midori Green Advance (Nippon Genetics, Japon) et inspecté avec un transilluminateur UV afin de visualiser les bandes d'ADN.

d) Interprétation

La lecture de résultats s'effectue par une comparaison de taille de fragment amplifié (l'ADN de la souche étudiée) avec celle de la souche de contrôle.

- Si les tailles sont identiques, le résultat est positif.
- Si les tailles ne sont pas identiques, le résultat peut être rendu négatif.
- Si les tailles sont proches, le résultat est interprétable et peut nécessiter la détermination de la séquence du produit d'amplification (Séquençage).

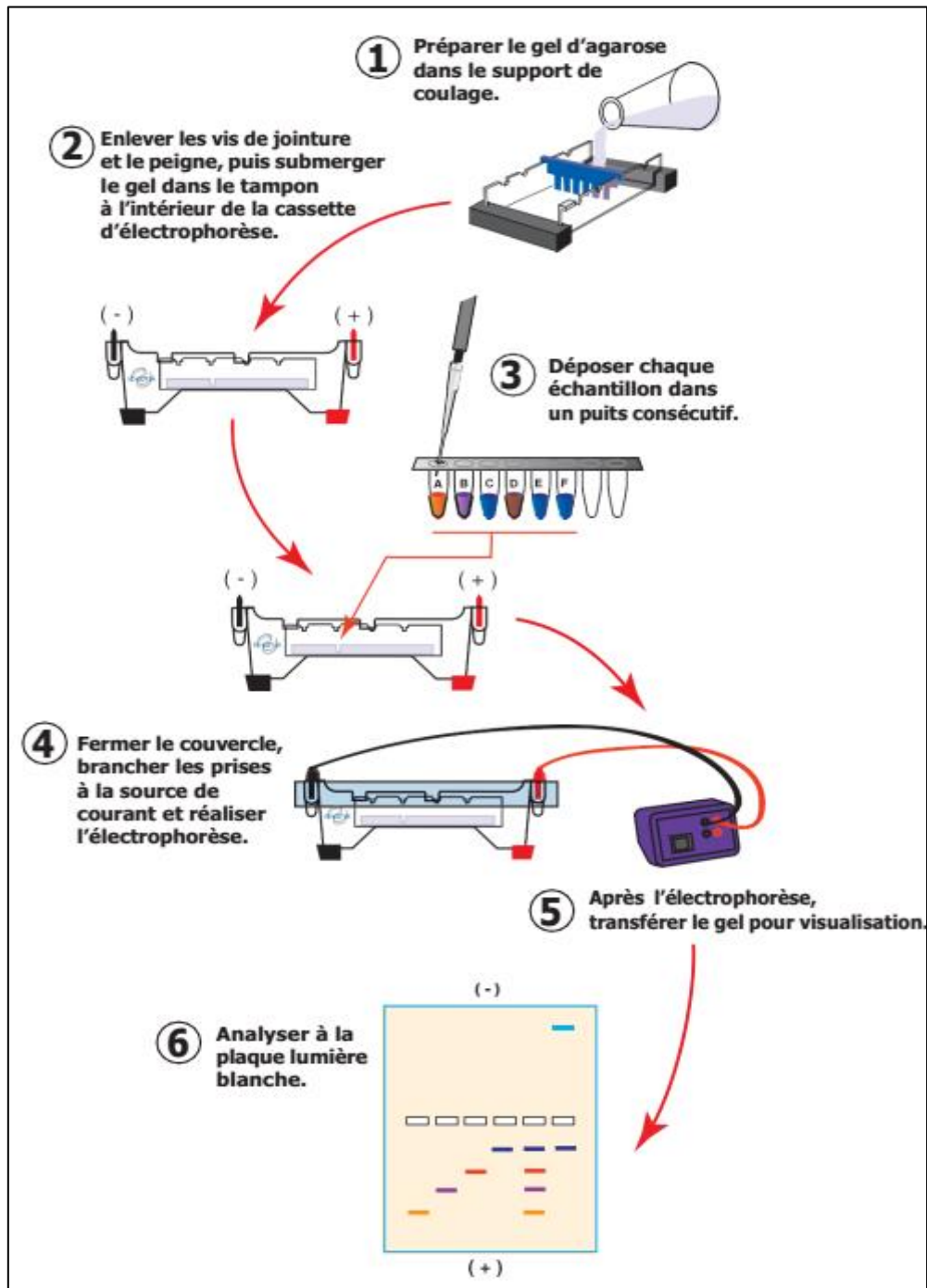


Figure 19 : Les étapes de la technique d'électrophorèse sur gel d'agarose (<https://www.edvotek.com/site/pdf/101fr.pdf>)

III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatifs thérapeutique contre les Entérobactéries productrice de BLSE, de CHN et de CP

La résistance des Entérobactéries aux antibiotiques et leur production de différents types des enzymes de dégradation des bêta-lactamine pose un vrai problème de santé publique. Dans le but de trouver des alternatifs de lutte contre cette résistance, cette partie de notre étude est menée pour évaluer l'effet inhibiteur des huiles essentielles et des extraits poly-phénolique de trois plantes médicinales utilisées traditionnellement par la population Algérienne sur des souches d'Entérobactéries sécrétrices de BLSE, de CHN et de CP.

1. Matériel végétal et identification botanique

Suite à une étude Ethnopharmacologique et Ethnobotanique (une enquête préliminaire chez des herboristes experts de la ville de Tébessa) sur les principales plantes médicinales utilisées pour la prévention et pour traiter les affections urinaires (voir le questionnaire en Annexe N° 04). Nous avons ciblé trois espèces qui sont : *Origanum majorana L.*, *Myrtus communis L.* et *Salvia officinalis L.*

Ces trois espèces végétales ont été sélectionnées pour les raisons suivantes :

1. Les trois plantes sont utilisées en médecine traditionnel par la population algérienne, pour traiter les infections urinaires et les infections uro-génitales.
2. La disponibilité du matériel végétal des trois plantes en Algérie.
3. Les trois plantes ayant des propriétés médicamenteuses à forte valeur, notamment ses propriétés antimicrobiennes (Almasi *et al.*, 2020 ; Mir *et al.*, 2020 ; Ovidi *et al.*, 2021).

Les trois plantes ont été identifiées au niveau du laboratoire de Biologie Végétale de Faculté de Science Exacte et Science de Nature et de Vie – Tébessa (Algérie) par la botaniste experte : M^{me}. Haioun S. Les données sur les trois plantes sont résumées dans le tableau suivant :

Matériels et Méthodes

Tableau 05 : Données sur les espèces végétales retenues et leurs utilisations

Plantes	Appellation commun	Famille	Utilisations	Origine (lieu et période)	Parties étudiés
<i>Origanum majorana</i> L.	Origan ou Marjolaine	Lamiaceae (Al Dhaheri et al., 2013).	Le diabète et ulcère gastrique (Pimple et al., 2012). Infection bactérienne (Abdel Massih et al., 2010), Mycoses (De Souza et al., 2010), la prévention des métastases, (Al Dhaheri et al., 2013).	Guelma (Mars 2020)	Feuille
<i>Myrtus communis</i> L.	Le Myrte	Myrtaceae (Hennia et al., 2019)	Brûlures, hémorroïdes, toux, maladies respiratoires, diarrhée, troubles des voies urinaires, acidité gastrique et problèmes menstruels (Hennia et al., 2019)	Souk Ahras (Avril- Mai 2020)	Feuille
<i>Salvia officinalis</i> L.	Sauge officinale ou Sage herb	Lamiacées (Es-sbihi et al., 2021)	La diarrhée et l'ulcère et les maladies gastrointestinales, hypoglycémiant, maladies génitale (Jedidi et al., 2018) Des infections bactériennes (Khiya et al., 2021)	Ain Oualmen – Sétif (Avril 2020)	Feuille

Matériels et Méthodes

1.1. Préparation de l'échantillon végétale pour l'extraction

Les plantes, fraîchement récoltées, ont été nettoyées des débris et lavées par l'eau distillé, puis déposées dans un endroit sombre, sec et aérés afin de les sécher. Ensuite, les plantes ont été conservées dans des sacs en papier jusqu'à son utilisation.

Un mortier a été utilisé pour écraser les feuilles séchées avant d'être réduites en poudre dans un broyeur électrique.

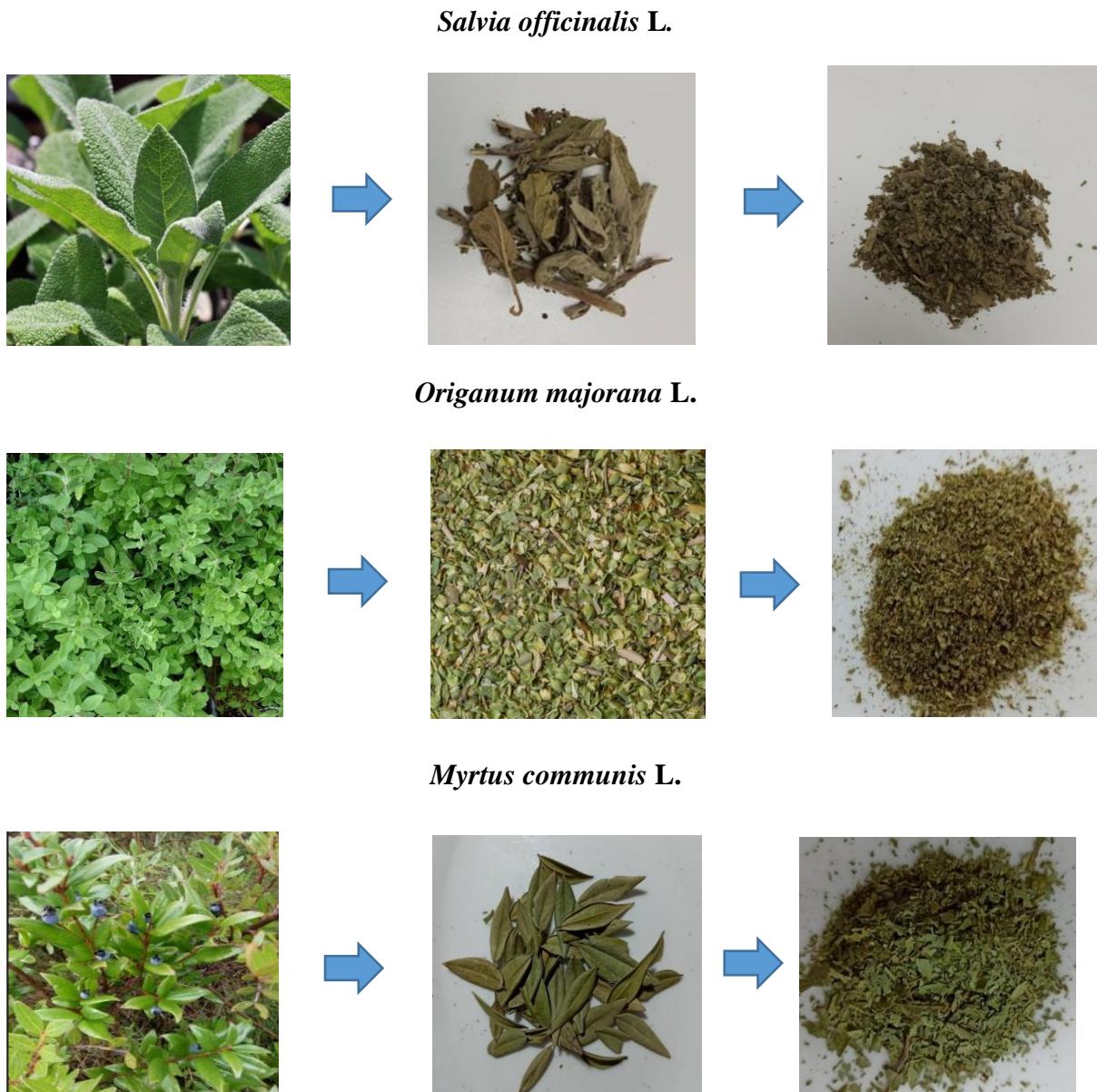


Figure 20 : Préparation matériel végétale pour l'extraction.

2. Souches bactériennes

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits polyphénoliques de trois plantes a été évaluée contre une souche de référence (*Escherichia coli* ATCC 25922) obtenue du laboratoire de microbiologie de la CHU-Annaba et 20 souches d'Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP recueillies à partir de patients atteints d'infection urinaire grave recrutés aux six EPH de la wilaya de Tébessa (Algérie), dans les services suivants : Médecine interne, Chirurgie interne, Gynécologie, Dialyse, Maternité, infectiologie et Pédiatrie.

3. Activité antibactérienne

3.1. Activité antibactérienne des Huiles essentielles

3.1.1. Extraction des huiles essentielles

L'huile essentielle de chaque plante a été extraite par hydrodistillation à l'aide d'un appareil de type Clevenger (Figure N° 20), comme décrit par (**Elyemni *et al.*, 2019**). Dans un ballon de 2L, 100g de la plante sèche est imprégné dans un litre d'eau distillée. L'ensemble est porté à l'ébullition pendant 1h 30 jusqu'à 2h de temps, le ballon est lié à une colonne qui communique avec un réfrigérant, permettant la condensation des vapeurs d'eau chargée de gouttelettes d'HE, et la chute de ces derniers dans une ampoule à décanter, où l'eau et l'huile se séparent par différence de densité.

Une fois l'extraction d'HE terminée, la partie huileuse flottante est récupérée puis déshydratée sur du sulfate de magnésium ($MgSO_4$) et conservée à 4 °C dans des flacons en verre ambré hermétiquement fermés (**Do Evangelho *et al.*, 2019**).



Figure 21 : Montage d'un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger.

3.1.2. Détermination des rendements en huiles essentielles

Selon (Laib, 2012), le rendement en HE est défini comme étant le rapport entre le poids de l'huile essentielle obtenu et le poids du matériel végétal traité. Le rendement en pourcentage (R) est calculé selon la formule suivante :

$$R_{at}\% = M/M_0 \times 100$$

R_{at}% : Rendement en huile essentielle

M : Masse d'huile essentielle récupéré (g)

M₀ : Masse de matière végétale à traiter (g)

3.1.3. Chromatographie en phase gazeuse couplée au spectromètre de masse (GC-MS)

L'identification de la composition des huiles essentielles a été réalisée par chromatographie en phase gazeuse-spectrométrie de masse (GC-MS) (GCMS-TQ8040 NX ; Shimadzu, Japon). Selon la méthode décrite par (Bassolé, *et al.*, 2011). Le dispositif est équipé d'un injecteur unique avec deux colonnes capillaires en silice fondue (30 m 0,25 mm de diamètre, épaisseur de film 0,25 µm) qui ont été utilisées pour déterminer les indices de rétention. L'Hélium a été utilisé comme gaz porteur, à un débit de 0,5ml/min. La température du four a été maintenue à 50° C pendant 1 min et augmentée de 50 à 150 (5 min), de 150 à 200 (10min), et de 200 à 250

Matériels et Méthodes

(5min). En mode fractionné (Split), les échantillons (1µl) ont été injectés à 250° C et le rapport de division était de 50 :1.

Les constituants de l'HE ont été identifiés par la comparaison des temps de rétention et de spectre de masse enregistrés avec ceux de la base de données atomiques (bibliothèque Wiley 275 et base de données NIST98/Chem Station data system) (Köning *et al.*, 2001).

3.1.4. Activité inhibitrice des HE des plantes sur les Entérobactéries productrice de béta-Lactamases (BLSE, CP et CHN)

3.1.4.1. Aromatogramme : La méthode de Vincent

Technique

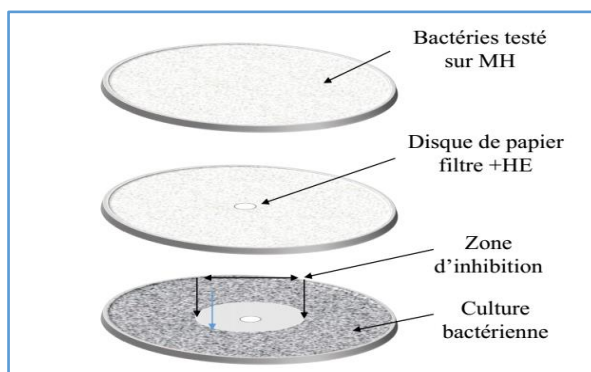


Figure 22 : Activité antibactérienne par la méthode de diffusion du disque (NCCLS, 2001).

L'activité antibactérienne des huiles essentielles a été testée par la méthode de diffusion de disque en milieu gélosé selon les recommandations de la Comité National pour les Normes de Laboratoire Clinique (NCCLS, 2001).

Des cultures bactériennes jeunes de 20 souches d'Entérobactéries testés ont été mises en suspension dans l'eau physiologique (0,9 % NaCl) à des concentrations de 10^8 CFU/ml (0,5 McFarland). Ces inocula ont été étalés avec des écouvillons stériles sur la surface de boîtes de Pétri contenant de la Mueller-Hinton Agar. Ensuite, des disques de papier (Wattman n°4) stériles de 6mm de diamètres (Laborclin) ont été disposés sur la gélose et 05 µl d'HE ont été ajoutés à chaque disque (Figure N° 22). Les boîtes de Pétri ont été maintenues à 4 °C pendant 1 H, puis incubées à 37 °C pendant 18 à 24 H. (Chebaibi, 2016 ; da Silva, 2019).

Le test a été réalisé avec trois répétition pour chaque souche et le contrôle de la qualité a été réalisé avec la souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922.

Lecture

Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition (mm) ont été mesurés, y compris le diamètre des disques. Selon la fourchette proposée par (**Ponce *et al.*, 2003 ; Mouas, 2017**), les souches seront ainsi classées selon l'effet inhibiteur d'HE comme suit :

- HE non active (-) : si le diamètre d'inhibition ne dépasse pas 8mm ($6 \text{ mm} \leq \text{Ø} \leq 8 \text{ mm}$)
- HE active (+) : si $9 \leq \text{diamètre} \leq 14\text{mm}$.
- HE très active (++) : si $15 \leq \text{diamètre} \leq 19 \text{ mm}$.
- HE extrêmes active (+++) : si le diamètre dépasse 20 mm ($\text{Ø} \geq 20 \text{ mm}$).

3.1.4.2.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

Principe

Cette méthode consiste à ensemencer, par une suspension bactérienne standardisée (0,5 McFarland), une série des dilutions de l'HE. L'observation de cette série après un temps d'incubation de 18 à 24 H permet d'accéder à la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui correspond à la plus petite concentration en HE pour laquelle il n'y a pas de croissance visible à l'œil nu (inhibition de la croissance de 90% de la population microbienne). (**Brahmi *et al.*, 2021**).

Technique

Une microdilution des huiles essentielles à tester, a été réalisée dans des microplaques à 96 puits selon le protocole décrit par (**Oumaskour *et al.*, 2021**). Le milieu de culture utilisé est constitué de Muller Hinton liquide additionné avec 0,5% de tween 80.

20 µl d'huile essentielle sont ajoutés dans le premier puits qui contient 170 µl de bouillon Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%) les autres puits contiennent déjà 95µl Mueller-Hinton (tween 80 : 0,5%). Après homogénéisation du premier puits 95 µl du mélange du premier puits sont transférés dans le deuxième puits et ainsi de suite, les 95 µl du dernier puits sont retirés (une dilution géométrique de base 2). Ensuite, chaque puits a été inoculé avec 5µl de la suspension bactérienne à tester ($3,5 \times 10^7$ UFC/ml). Des puits contenant de BMH (tween 80 : 0,5%) ont été inoculés par la souche à tester sont utilisés comme contrôles positifs, ceux contenant le HE et BMH (tween 80 : 0,5%) non inoculés sont utilisés comme contrôle négatif.

Lecture

Après 18 heures d'incubation à température de 37° C, les résultats sont lus à l'œil nu sur la table UV et/ou sur la table de lumière blanc, la CMI de l'huile essentielle est défini comme la plus faible concentration de l'huile essentielle à laquelle le micro-organisme testé ne présente pas de croissance visible dans le bouillon (**Kengne et al., 2019 ; Oumaskour et al., 2021**).

3.1.4.3.Détermination de la concentration minimale bactéricide (CMB)

La CMB a été déterminée à partir des résultats obtenus en CMI. Des aliquotes de 10 µl de chaque puits des microplaques, qui n'ont montré aucune croissance bactérienne visible, ont été ensemencées sur gélose MH, après 24 H d'incubation à 37 °C. La CMB a été considérée comme la concentration la plus faible à laquelle aucune croissance bactérienne n'a été observée (la première boîte dépourvue de bactéries) (**Chebaibi et al., 2016 ; da Silva et al., 2019**). Pour chacun des tests réalisés (CMI et CMB) le nombre de répétition est de trois fois.

Le rapport CMB / CMI a également été calculé pour mettre en évidence la nature de l'effet antimicrobien de l'huiles essentielle testée. Lorsque le rapport est égal ou inférieur à 2, l'huile essentielle est considérée comme une huile essentielle bactéricide et lorsque le ratio est supérieur à 2, elle est considérée comme une huile essentielle bactériostatique (**Sabir et al., 2017**).

3.2.Activité antibactérienne des extraits polyphénolique

3.2.1. Préparation des extraits

Des extraits de matières végétales séchées ont été préparés en utilisant des solvants de polarités différentes (**Leela, 2011**). Selon (**Parekh, J et al., 2006 ; Jeong et al., 2009 ; Akkal et al., 2012**) l'extrait méthanolique (70%) a été préparé, la poudre de chaque plante (OM, MC et SO) a été immergés dans une solution hydroalcoolique (Méthanol - eau distillée : 70/30 (V/V)) pendant 24 heures à température ambiante sous l'agitation (extraction liquide-solide). Le mélange a été filtré deux fois en utilisant le papier Whatman no. 1. Le processus de macération a été répété trois fois avec renouvellement du solvant pour extraire le maximum du produit bioactif, ensuit le filtrat a été concentrée sous vide à sec en utilisant un évaporateur rotatif (Eyela N-1000, Japon). Puis l'extrait brut a été dissous dans de l'eau bouillante et maintenu une nuit à température ambiante (**Benahmed et al., 2016**). Après filtration, la solution aqueuse a été successivement fractionné dans une ampoule à décanter avec des solvants de

Matériels et Méthodes

polarité différente ; Chloroforme, l'Acétate d'éthyle et n-Butanol (extraction liquide-liquide) pour donner trois fractions (Figure N° 23) (Deghima *et al.*, 2020 ; Benahmed *et al.*, 2016 ; Akkal *et al.*, 2010).

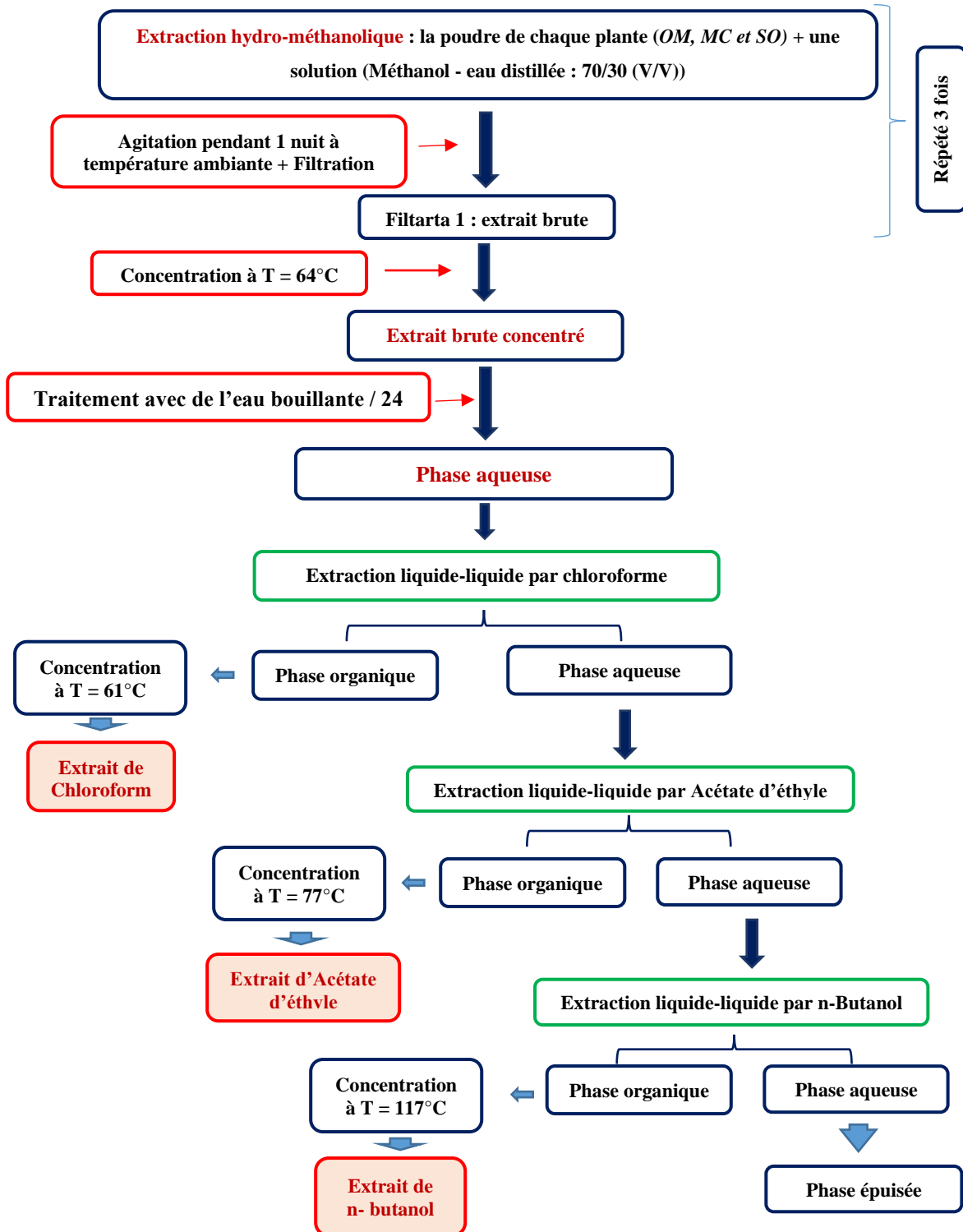


Figure 23 : Les étapes de fractionnement de l'extrait hydro-méthanolique (extraction des polyphénole).

3.2.2. Détermination de rendement d'extraction

Le rendement représente le rapport entre le poids des extraits secs et le poids du matériel végétal utilisé. Le résultat de chaque extraction est exprimé en % selon la formule donnée par (Ait Taadaouit *et al.*, 2012).

$$R (\%) = (Ps/ Pv) \times 100$$

R(%) : rendement des extractions en %.

Ps : poids sec des extraits végétaux en gr.

Pv : poids du matériel végétal en gr.

3.2.3. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux a été déterminé par spectrophotométrie, selon la méthode colorimétrique utilisant le réactif de Folin-Ciocalteu (Singleton *et al.*, 1999). Ce dosage est basé sur la quantification de la concentration totale de groupements hydroxyles présents dans l'extrait.

Le protocole utilisé est décrit par (Mouas *et al.*, 2021). Brièvement, Un volume de 20 μ L de chaque extrait (1mg/ml) ont été mélangés avec 100 μ l de réactif Folin-Ciocalteu dilué (1 :10) et 75 μ l de solution de carbonate de sodium (7,5%) dans les puits d'une microplaque à 96 puits. Le mélange incubé à température ambiante et à l'obscurité pendant 2h, l'absorbance a été mesurée à 765 nm dans le lecteur de microplaques. Un blanc est préparé de la même manière en remplaçant l'extrait par le solvant utilisé (Méthanol). Une courbe d'étalonnage a été réalisée en parallèle dans les mêmes conditions opératoires en utilisant l'acide gallique à différentes concentrations (25-200 μ g/ml).

La concentration des polyphénols totaux a été calculée à partir de l'équation de régression de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique et exprimée en milligramme équivalents d'acide gallique par gramme du poids d'extrait (mgE.AG/gE).

3.2.4. Activité antibactérienne des extraits polyphénoliques

3.2.4.1. Méthode de diffusion sur disque

L'activité antimicrobienne de trois extraits (Chloroforme, Acétate d'éthyle, n-Butanol) de chaque plante a été étudiée par la méthode de diffusion sur disque (Köksal, 2017 ; Leela, 2011).

Technique

Des cultures bactériennes pures (inocula standardisés au 0,5 McFarland) ont été repiquées sur gélose Mueller-Hinton par la technique d'écouvillonnage à l'aide de cotons-tiges stériles. (NCCLS, 2002). Des solutions mères concentrées à 25mg/ml pour chaque extrait (Chloroforme, Acétate d'éthyle, n-Butanol) ont été préparés, on utilise le méthanol comme un solvant. Des disques de papier buvard Wattman (Wattman n°4) stériles de 6mm de diamètres (Laborclin) sont imprégnés avec 05µl de solutions mères de chaque extrait. Des disques témoins sont inclus dans les essais, Il s'agit de disques imprégnés de méthanol (Témoin négative) et de disques d'antibiotique « l'Amoxicilline » (Témoin positive). Les boîtes sont incubées à une température de 37°C pendant 18 à 24 heures, et le diamètre moyen de la zone d'inhibition a été enregistré. Chaque expérience a été réalisée en triple (Erdogrul, 2002 ; Leela, 2011).

L'échelle d'estimation de l'activité antimicrobienne est donnée par (Mouas *et al.*, 2017). Le diamètre des zones d'inhibition (D) de la croissance microbienne est classé comme suit :

- Non sensible (-) : $D \leq 8$ mm
- Sensible (+) : $9 \leq D \leq 14$ mm
- Très sensible (++) : $15 \leq D \leq 19$ mm
- Extrêmement sensible (+++) : $D \geq 20$ mm

3.2.4.2. Détermination de MIC et CMB pour les extraits polyphénolique

La concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (MBC) ont été évaluées pour les souches qui ont été confirmées sensibles aux extraits des plantes par la technique de diffusion sur gélose (NCCLS, 1999).

A. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

En utilisant la méthode de microdilution dans les plaques de microtitration de 96 puits décrit par (Olivier *et al.*, 2018) avec une modification légère. Dans les puits de même ligne, on introduit stérilement 100 μ L de bouillon MH, on introduit également dans le puits 1, 100 μ L de chaque extrait de plante (l'E EtOAc, l'E CHCl₃ et l'E n-BuOH) à raison de 100 mg/mL. 100 μ L du mélange sont reportés de puits en puits, de 1 à 10, soit une suite géométrique de raison $\frac{1}{2}$. 100 μ L d'inoculum bactérien sont introduits dans chaque puits. Les concentrations finales ainsi obtenues varient de 25 mg/ml à 0,048 mg/ml. Un mélange de chaque extrait avec le milieu de culture et remplis à chaque fois dans le 11ème puit ce qui a servi de contrôle négatif, cependant le douzième puits contenant la souche et le milieu de culture a servi de contrôle positif. Les extraits testés dans cette étude ont été criblés trois fois contre chaque souche. Les plaques ont été alors incubées à 37 °C pendant 18 à 24H. La lecture a été faite par appréciation de l'opacité des puits (ou dépôt au fond des puits).

B. Détermination de Concentration Minimale Bactéricide (CMB)

La détermination de Concentration Minimale Bactéricide (CMB) des extraits s'est effectuée conjointement à celle de la CMI. Elle a été déterminée par ensemencement de tous les puits en partant de la CMI vers les concentrations les plus élevées sur milieu gélosé Mueller Hinton (l'ensemencement a été fait par stries parallèles de 5 cm de long à la surface de la gélose). Ensuite, les boites ont été incubées à 37 °C pendant 24 H.

Lecture

A l'observation, la plus faible concentration de l'extrait qui ne laisse survivre la bactérie (absence de croissance) correspond à la Concentration Minimale Bactéricide (CMB) (Elshikh *et al.*, 2016).

Le rapport CMB/CMI de chaque extrait a été calculé afin d'apprécier son pouvoir antibactérien. Ainsi, en nous référant aux travaux d'Ouattara et son équipe (Ouattara *et al.*, 2017), $CMB/CMI \leq 2$, $CMB/CMI > 2$ indiquent respectivement une activité bactéricide absolue, bactéricide, et bactériostatique.

Analyses statistiques

Les données expérimentales ont été traités par les logiciels : R Project version 4.1.0, logiciels GraphPad Prism9 et Minitab Statistical Software Version 19. Le test de Tukey et l'analyse de la variance (ANOVA) ont également utilisés afin de tester la signification statistique des différences entre les souches étudiées et les facteurs de risque possibles sur la base des données épidémiologiques collectées. La signification statistique généralement interprétée comme $P < 0,05$.

Résultats

Résultats

I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrice de BLSE, CHN et de CP

1. Prélèvements

Sur une période de 03 ans (Novembre 2018 - Décembre 2021), 1267 prélèvements urinaires ont été recueillis, dont 77,66% (984/ 1267) des prélèvements issus des patients hospitalisés et 22,34% (283/ 1267) des prélèvements issus des patients non hospitalisés.

Parmi les 1267 prélèvements exécutés pendant la durée d'étude, 557 ont été retenus comme positifs, ce qui correspond à un taux égal à 43,96% (Tableau 06).

Tableau 06 : Répartitions des résultats en fonction des prélèvements.

Prélèvements	Culture positif		Culture négatif		Total
	Prélèvements Monomicrobien	Prélèvements Polymicrobien	Prélèvements négatif	Prélèvements Contaminé	
Effectif	526	31	668	42	1267
Pourcentage	41,52%	2,45%	52,72%	3,31	100%

2. Profil épidémiologique des Entérobactéries responsables d'infections urinaires

2.1. Identification des souches

Sur la totalité de 557 Bacille à Gram négatif isolés dans la présente étude, 400 isolats ont été identifiées comme des Entérobactéries, soit 71,81%.

L'analyse des espèces identifiées par rapport à l'ensemble des souches d'Entérobactéries isolées, a montré une prédominance d'*E.coli* avec 155 souches soit 38.75%, les deux espèces *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella pneumoniae* occupe la deuxième position avec 39 souches (9.75%), suivi par *Raoultella ornithinolytica* 25 souches (6.25%), *Kluyvera spp* 22 souches (5.5%), *Serratia liquefaciens* 15 souches (3,75%), *Raoultella terrigena* 12 souches (3%), *Serratia marcescens* 11 souches (2,75%) et *Proteus mirabilis* 11 souches (2.75%). Alors que, les autres Entérobactéries ont constitué 17,75%, soit 71 souches (Tableau 07).

Résultats

Tableau 07 : Répartition des Entérobactéries isolées selon les genres et les espèces

Genre	Espèce	Effective d'Espèce	% d'Espèce	Effective de genre	% de Genre
<i>Escherichia</i>	<i>E. coli</i>	155	38,75 %	156	39%
	<i>Escherichia fergusonii</i>	01	0,25 %		
<i>Enterobacter</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	39	9,75 %	49	12.25%
	<i>Entérobacter sakazakii</i>	08	2 %		
	<i>Enterobacter aerogens</i>	01	0,25 %		
	<i>Enterobacter amnigenus</i>	01	0,25 %		
<i>Klebsiella</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	39	9,75 %	48	12%
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	07	1,75 %		
	<i>Klebsiella pneumoniae ssp ozanae</i>	02	0,5 %		
<i>Serratia</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	15	3,75%	41	10.25%
	<i>Serratia marcescens</i>	11	2,75 %		
	<i>Serratia odorifera</i>	09	2,25 %		
	<i>Serratia ficaria</i>	03	0,75 %		
	<i>Serratia fonticola</i>	02	0,5 %		
	<i>Serratia plymuthyca</i>	01	0,25 %		
<i>Raoultella</i>	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	25	6,25%	37	9.25%
	<i>Raoultella terrigena</i>	12	3 %		
<i>Kluyvera</i>	<i>Kluyvera spp</i>	22	5,5 %	22	05.5 %
<i>Citrobacter</i>	<i>Citrobacter freundii</i>	09	2,25 %	17	04.25 %
	<i>Citrobacter koseri</i>	06	1,5 %		
	<i>Citrobacter braakii</i>	02	0,5 %		
<i>Proteus</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	11	2,75 %	11	02.75 %
<i>Salmonella</i>	<i>Salmonella arizonae</i>	02	0,5 %	07	01.75 %
	<i>Salmonella choleraesuis ssp arizonae</i>	02	0,5 %		
	<i>Salmonella enterica</i>	01	0,25 %		
	<i>Salmonella choleraesuis</i>	01	0,25 %		
	<i>Selmonella paratyphi</i>	01	0,25 %		
<i>Providencia</i>	<i>Providencia rettigri</i>	03	0,75 %	04	01 %
	<i>Providencia alcalfaciens</i>	01	0,25 %		
<i>Pantoea ssp 1</i>	<i>Pantoea ssp 1</i>	01	0,25 %	04	01 %
	<i>Pantoea ssp 2</i>	01	0,25 %		
	<i>Pantoea ssp 3</i>	01	0,25 %		
	<i>Pantoea ssp 4</i>	01	0,25 %		
<i>Cedecea</i>	<i>Cedeceae deviser</i>	01	0,25 %	02	0.50 %
	<i>Cedecea lapagei</i>	01	0,25 %		
<i>Yersinia</i>	<i>Yersinia pestis</i>	01	0,25 %	01	0.25 %
<i>Morganella</i>	<i>Morganella morganii</i>	01	0,25 %	01	0.25 %

Résultats

2.2. Répartition globale des Entérobactéries

2.2.1. Répartition des Entérobactéries isolées en fonction des services

Notre collection des souches (400 Entérobactéries) a été isolées à partir des prélèvements urinaires des patients admis dans onze services différents répartis sur six hôpitaux dans la wilaya de Tébessa – Algérie (Figure 24).

Les isolats venaient majoritairement de patients hospitalisés avec 84,75% (n=339). Le service le plus représenté était celui de médecine interne (Med) avec un pourcentage de 25% (n=100), suivi par le service de chirurgie interne (CI) avec 16,25% (n= 65), le service de Gynécologie (Gyn) avec 15,75% (n= 63), le service externe (SE) avec 12,25% (n= 49), et celui de maternité (Mat) avec 10,5% (n= 42). Cependant, les services d'Orthopédie (Ort), d'unité de soins intensifs (USI), de pneumo-physiologie (PP), de pédiatrie (Ped) et des maladies infectieuses (MI) partageaient des fréquences allant de 0,25 % à 7,75 % du total des cas inclus dans notre étude. La répartition des espèces dans ces services sont montrés dans la (Annexe N° 05).

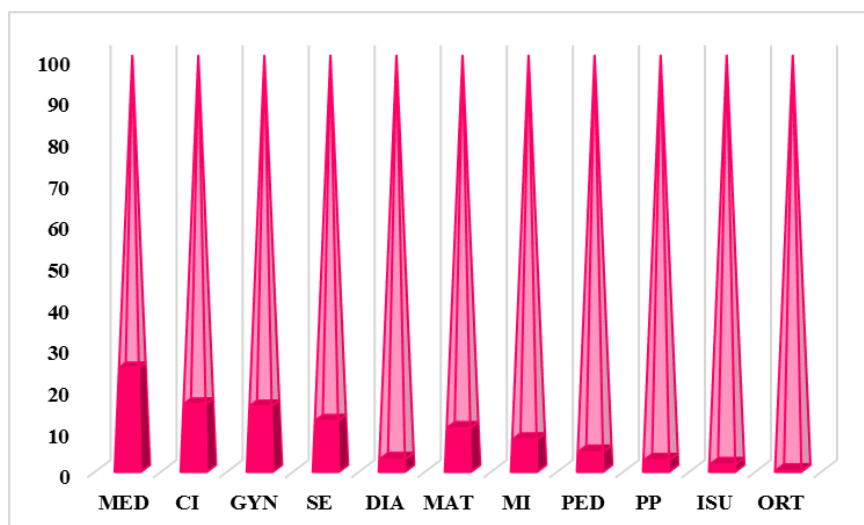


Figure 24 : Répartition des souches d'Entérobactéries isolées par services.

2.2.2. Répartition des Entérobactérie en fonction de l'âge et de sexe (Caractéristiques des patients)

L'âge moyen des patients atteints d'une infection urinaire aux Entérobactéries était de 33,9 ans. La fourchette d'âge était de 4 à 84 ans et une sous-classification supplémentaire a montré que, le groupe d'âge le plus touché est celui de 20 à 39 ans, soit 50 % des cas d'infections notées. Concernant la répartition des isolats en fonction de sexe des patients, nos résultats ont

Résultats

montré une prédominance des souches isolées chez des patients du sexe féminin avec 57% (n= 228) contre 43% (n= 172) des souches isolées chez des patients de sexe masculin, avec un sexe ratio égal à 0,75. La Figure 26 et Annexe N° 05 montrent la répartition des souches étudiées en fonction de l'âge et le sexe des patients.

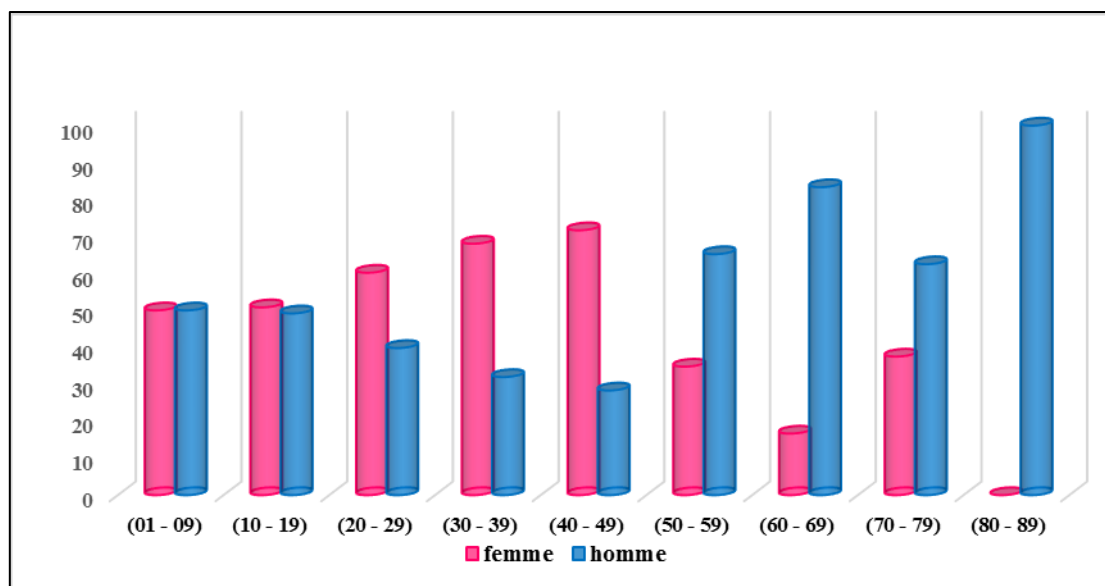


Figure 25 : Répartition des souches d'Entérobactéries isolés selon les tranches d'âge et le sexe de patients.

2.3. Etude de la résistance aux antibiotiques

2.3.1. Résistance des Entérobactéries aux antibiotiques

Les 400 souches ont été testées vis-à-vis de 22 molécules d'antibiotiques appartenant aux différentes familles dont ; 14 β -lactamines, 3 Aminosides, 2 Quinolones, 1 Nitrofuranes et d'autres. Les taux de résistances des isolats vis-à-vis des antibiotiques choisis sont donnés dans le Tableau 08, et les profils de résistance sont illustrés dans l'Annexe N° 06.

Tableau 08 : Profil de sensibilité des Entérobactéries testés aux antibiotiques

Antibiotiques		Entérobactéries N = 400 (100 %)					
		Résistante		Intermédiaire		Sensible	
		Effectif	%	Effectif	%	Effectif	%
β -Lactamines	AMX	357	89,25	0	0	43	10,75
	PRL	289	72,2	24	6	87	21,8
	TIC	309	77,25	13	3,25	78	19,5
	TTC	290	72,5	26	6,5	84	21

Résultats

	AMC	186	46,5	1	0,25	213	53,25
	CL	242	60,5	0	0	158	39,5
	FOX	147	36,75	34	8,5	219	54,75
	CAZ	215	53,75	51	12,75	134	33,5
	CTX	136	34	17	4,25	247	61,75
	CFM	180	45	0	0	220	55
	FEP	166	41,5	12	3	222	55,5
	ATM	161	40,25	13	3,25	226	56,5
	IPM	34	8,5	15	3,75	351	87,8
	ETP	98	24,5	20	5	282	70,5
Aminosides	AK	44	11	22	5,5	334	83,5
	GN	84	21	92	23	224	56
	TOB	141	35,25	155	38,75	104	26
Quinolones	OFX	175	43,75	34	8,5	191	47,75
	CIP	153	38,25	19	4,75	228	57
Nitrofurane	NIT	32	8	0	0	368	92
Autres	FOS	166	41,5	0	0	234	58,5
	COT	213	53,25	4	1	183	45,75

Selon les résultats de l'antibiogramme présenté dans le tableau ci-dessus, nous avons constaté que les antibiotiques testés ont montré des fréquences de résistance différentes entre les souches d'Entérobactéries en fonction de la famille d'antibiotique testés. Les taux de résistance les plus élevés ont été marqués à l'égard des β -lactamines, à savoir ; l'Amoxicilline, au carboxypenicillines y compris le Ticarcilline + Acide clavulanique (TCC) 72.5 %, aux Céphalosporine de différentes générations et au Monobactame (Aztréonam). Nous avons noté également une diminution de sensibilité des souches vis- à- vis à Amoxicilline + acide clavulanique (AMC) avec un taux de 46,5 %. Cependant, les Carbapénèmes comme les bêta-lactamines se sont montrés plus efficaces sur les souches testées avec des taux de résistance de 24,5% et 8,5% pour l'Ertapénème et l'Impénème respectivement.

Pour les Aminosides, des taux de résistance moyenne à faible ont été enregistrés respectivement pour la Tobramycine, la Gentamicine et l'Amikacine. Par ailleurs, des taux de

Résultats

résistance plus élevés ont été marqués avec les Quinolone, où les taux résistances des souches ont été maintenus à 38,25% et à 43,75% pour Ciprofloxacine et l'Ofloxacine respectivement.

Pour les autres familles d'antibiotiques testés, les taux de résistance étaient moyens pour la Fosfomycine 41,5% et la Cotrimoxazole 53,25%. Tandis que, un taux de résistance beaucoup plus faible a été observé pour Nitrofurantoïne 08%.

2.3.2. Profil de résistance aux antibiotiques des espèces les plus dominantes

2.3.2.1. Résistance d'*E. coli* aux antibiotiques

Les résultats d'étude de la sensibilité des souches d'*E. coli* (n= 155) aux antibiotiques sont présentés dans la Figure 26 (voir Annexe N° 06).

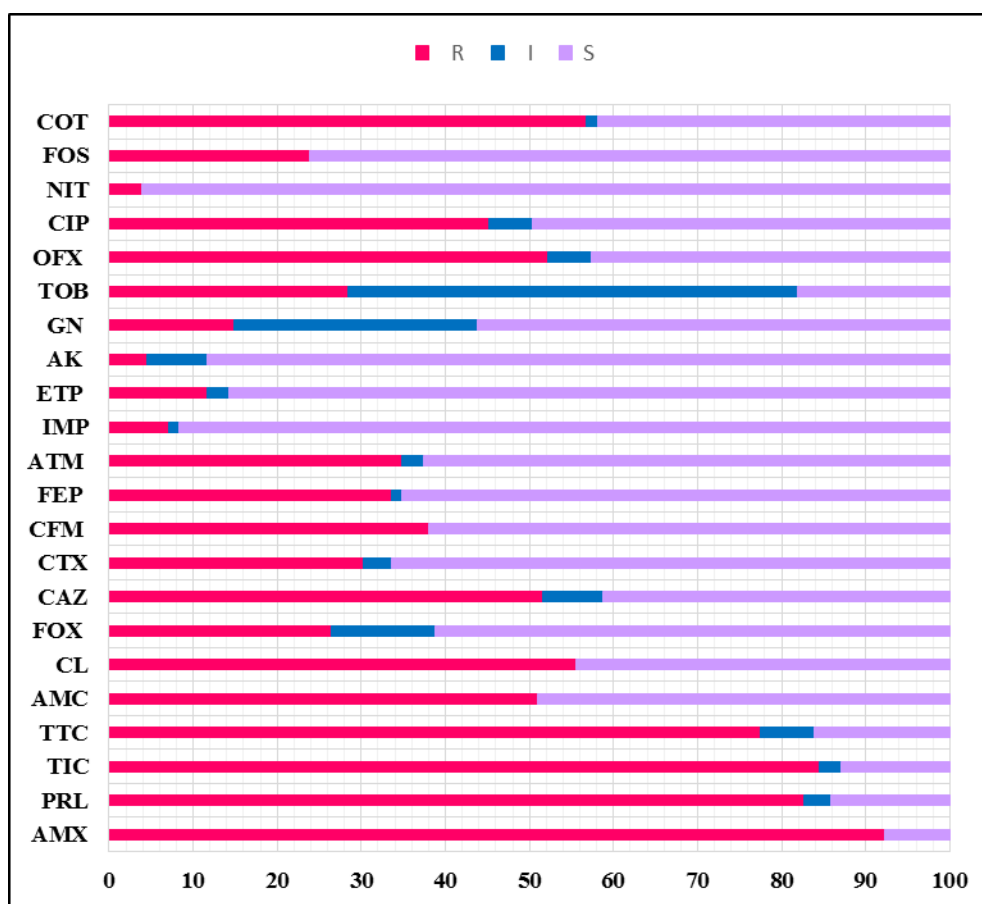


Figure 26 : Profil de résistance aux antibiotiques de l'espèce *Escherichia coli*

L'analyse des résultats (figure 27), nous a permis de constater que les taux de résistance les plus élevés sont observés avec les pénicillines (Amoxicilline 92,25%, Ticarciline 84,58%, Pipéraciline 82,58%). L'association des pénicillines avec les inhibiteurs de β -lactamase a permis de récupérer l'activité de ces molécules légèrement, où des taux de résistance de 77,41%

Résultats

et 51% ont été enregistré pour l'association de l'acide clavulanique avec l'amoxicilline et le Ticarcilline respectivement. Pour les Céphalosporines de troisième génération on note des résistances importantes notamment pour le Ceftazidime 56,62%. En revanche, le taux de résistance des *E. coli* vis-à-vis des Carbapénèmes était la plus faible en comparaison avec toutes les bêta-lactamines testés.

En dehors des bêta-lactames, des niveaux de résistance élevés ont été marqué pour la Cotrimoxazole (56,77%), l'Ofloxacin (52,25%) et la Ciprofloxacine (45%). Cependant, la résistance aux aminosides était plus faible, notamment pour l'Amikacine qui montre une efficacité sur 88% des isolats d'*E. coli*. Tout de même, une activité antimicrobienne plus notée a été rapportée pour Nitrofurantoïne avec un taux de 96% sur la totalité des souches d'*E. coli*.

2.3.2.2. Résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux antibiotiques

Le profil de résistance de l'ensemble des souches de *Klebsiella pneumoniae* vis à vis des antibiotiques testés est illustré dans la Figure 27 (voir Annexe N°06).

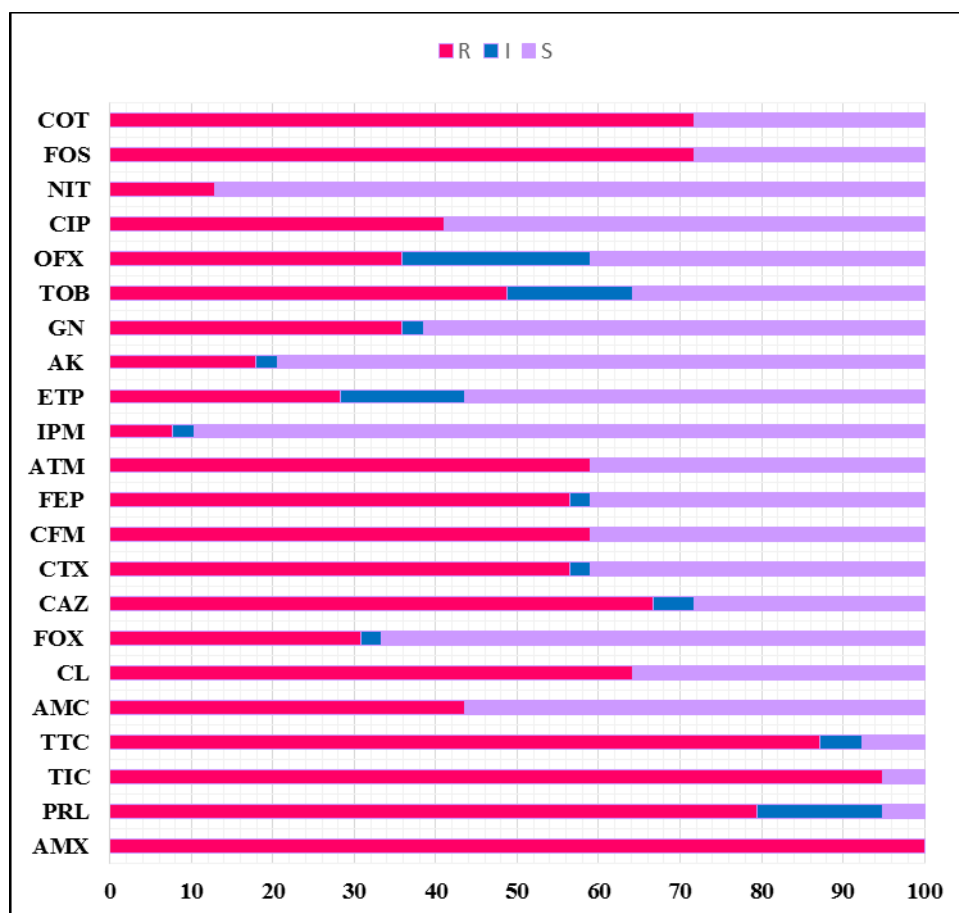


Figure 27 : Profil de résistance aux antibiotiques des *Klebsiella pneumoniae* isolées.

Résultats

A l'exception de l'Imipénème, les souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans notre étude ont montrés des taux de résistance élevés vis-à-vis de la plupart des antibiotiques de la famille de β -lactamine à savoir, l'Amoxicilline 100 %, la Ticarciline 94,87%, le Pipéraciline 79,50%, la Ceftazidime 66,66%, l'Aztréonam 59% et la Céfexime 58,97%. De plus, l'ensemble des isolats de *K. pneumoniae* a enregistré des taux de résistance plus au moins élevé contre des antibiotiques utilisés pour le traitement des infections urinaires dues au BGN à savoir la Fosfomycine 71%, la Cotrimoxazole 71%, la ciprofloxacine 41%, la Tobramicine 48% et la gentamicine 36%. Alors que, l'Amikacine et le Nitrofurantoine ont conservé leur efficacité contre les isolats de *K. pneumoniae*.

2.3.2.3. Résistance d'*Enterobacter cloacae* aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme réalisé pour les souches de l'espèce *Enterobacter cloacae* sont illustrés dans la Figure 28 (Voir Annexe N°06).

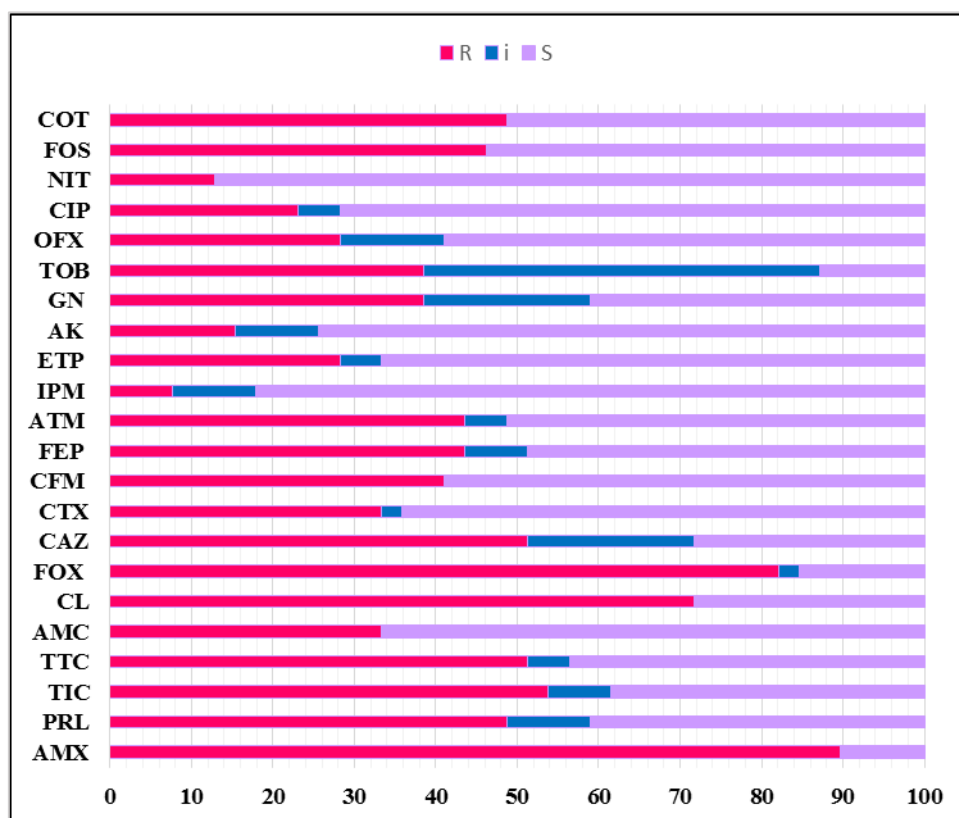


Figure28 : Profil de résistance aux antibiotiques d'*Enterobacter cloacae* isolées.

Le taux de résistance des souches de d'*Enterobacter cloacae* a été de 89% pour l'Amoxicilline, 82% pour la Céfoxitine, 51,28% pour la Céftazidime et 43,58 % pour la Céfipime et l'Aztréoname respectivement. Pour cette espèce, également 82% des souches ont

Résultats

été sensibles à l'Imipénème, cependant 28,20 % des souches ont été résistantes à l'Ertapénème. Le taux résistance des souches de d'*E. cloacae* a été de 33,33 % à l'Amoxicilline acide clavulanique. Concernant la famille des Aminosides, le taux de résistance à l'Amikacine a été de 15,38 % et celui à la Gentamicine et Tobramicine a été de 38,46%. Par ailleurs, les taux de résistance pour la Ciprofloxacine, l'Ofloxacine, la Cotrimoxazole, la Fosfomycine et la Nitrofurantoïne ont été 23%, 28,20%, 48,71%, 46,16 et 12,82% respectivement.

2.3.2.4. Résistance des *Raoultella ornithinolytica* isolée antibiotiques

Les profils de résistance aux antibiotiques des souches de *Raoultella ornithinolytica* étudiées sont représentés dans la figure 29 (voir Annexe N° 06).

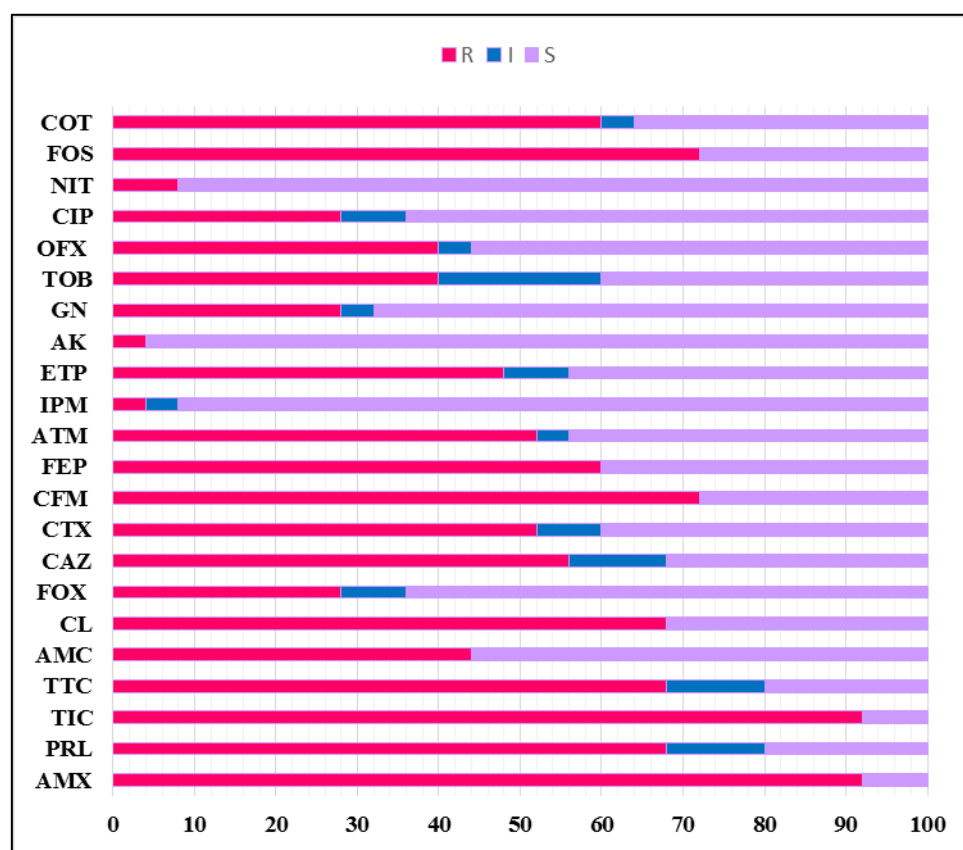


Figure 29 : Profil de résistance aux antibiotiques des *Raoultella ornithinolytica* isolées.

L'analyse des résultats du test de sensibilité aux antibiotiques a montré que pour les antibiotiques de la famille des β -lactamines, 44 % des souches de *R. ornithinolytica* ont été résistantes à l'association Amoxicilline-acide clavulanique et 68% ont été résistantes à l'association Ticarcilline-acide clavulanique. Le taux de résistance aux céphalosporines était de 72%, 68%, 60%, 56%, 52% et 28% respectivement pour le Céfixime, la Céfalexine, le

Résultats

Céfipimme, la Céfotaxime, la Céfotaxime et le Cefoxitine. Cependant 52% des souches ont été résistantes à l'Aztréonam, 48% à l'Erthapénème et seulement 4% à l'Imipénème. Pour la famille des Aminosides, le taux de résistance à l'Amikacine a été très faible (4%), tandis que 28% des souches ont été résistantes au Gentamicine et 40% au Tobramicine. Par ailleurs, des taux de résistance élevés de 72% et 60% ont été marqués contre la Fosfomycine et la Cotrimoxazole successivement. Alors que, les taux de résistance à l'Ofloxacine, la Ciprofloxacine et la Nitrofurantoïne sont estimés à 40%, 28% et 4% respectivement.

2.3.2.5. Résistance de *Kluyvera* spp isolée antibiotiques

Les taux de résistance de l'espèce *Kluyvera* spp à différentes familles d'antibiotiques sont donnés dans la figure N° 30 (Voir Annexe N° 06).

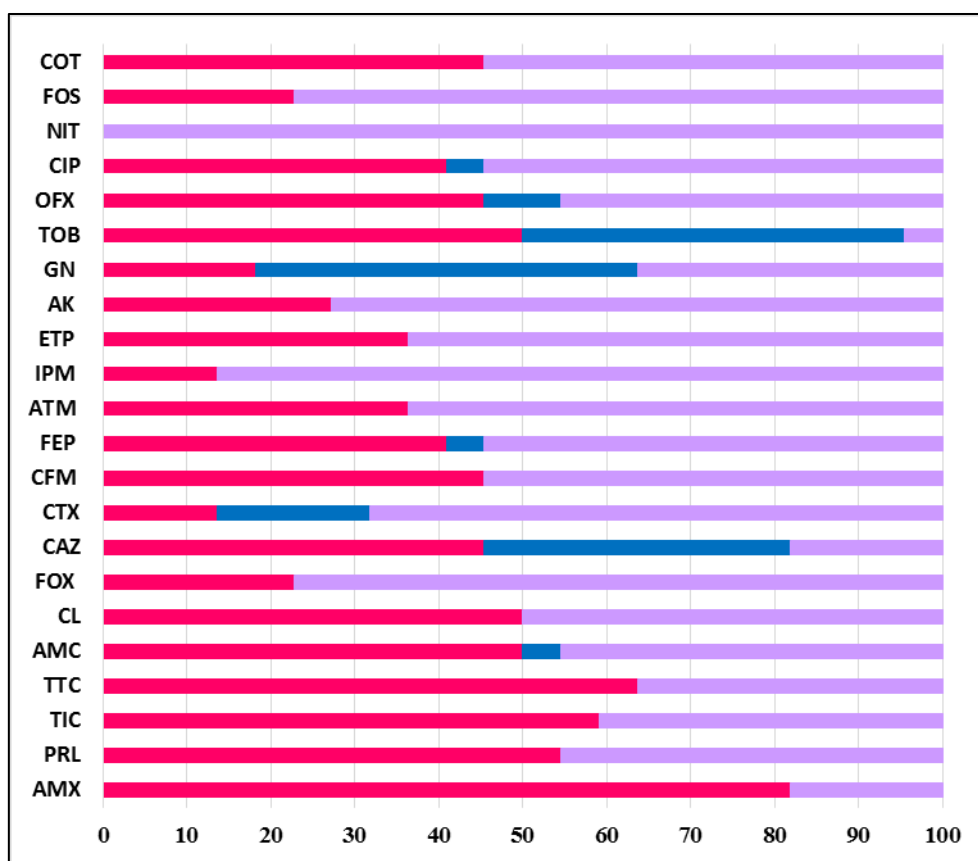


Figure 30 : Profil de résistance aux antibiotiques des *Kluyvera* spp isolées.

D'après l'analyse de profils de résistance de souches de *Kluyvera* spp, nous avons noté des taux de résistance importante vis-à-vis des pénicillines à savoir 81,81% pour l'amoxicilline, 63% pour le Ticarcilline-acide clavulanique, 59% pour la Pipéracilline, 54,54% pour le Ticarcilline et 50% pour l'amoxicilline -acide clavulanique. En revanche, des taux de résistance

Résultats

entre 13% à 50% et 13% à 36% ont été enregistrés respectivement pour les Chéfalosporine et les Carbapénèmes testés. Concernant la résistance des souches de *Kluyvera* spp aux autres familles d'antibiotiques, on a noté que 45,45% et 22,72% des souches étaient résistantes au Cotrimoxazole et au Fosfomycine respectivement. Tandis que, la résistance aux Aminosides était de 50% à la Tobramicine, 27,27 à l'Amikacine et 18,18% à la Géntamicine. Des taux de résistance de 45,45% et 40,90% pour l'Ofloxacine et la Ciprofloxacine sont observés, cependant aucune résistance des souches de *Kluyvera* spp n'a été observée vis-à-vis de la Nitrofurantoïne.

3. Profil épidémiologique des Entérobactéries multi-résistantes (EMR)

D'après l'analyse du profil de résistance aux antibiotiques de l'ensemble des souches d'Entérobactéries étudiées, nous avons sélectionné 255 souches multi-résistantes aux antibiotiques (BMR), soit 63,75%.

3.1. Répartition des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (EMR) selon les espèces

Sur le total des souches d'Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques, *E. coli* représente 36,47% (n= 93), suivi par *Klebsiella pneumoniae* 10,59% (n= 27), *Enterobacter cloacae* 9,41% (n= 24), *Raoultella ornithinolytica* 8,62% (n= 22), *Kluyvera* spp 5,09% (n= 13), *Raoultella terrigena* 4,31% (n= 11), *Serratia liquefaciens* 3,92% (n=10) et autres germes 21,56% (n=55) (Figure 31).

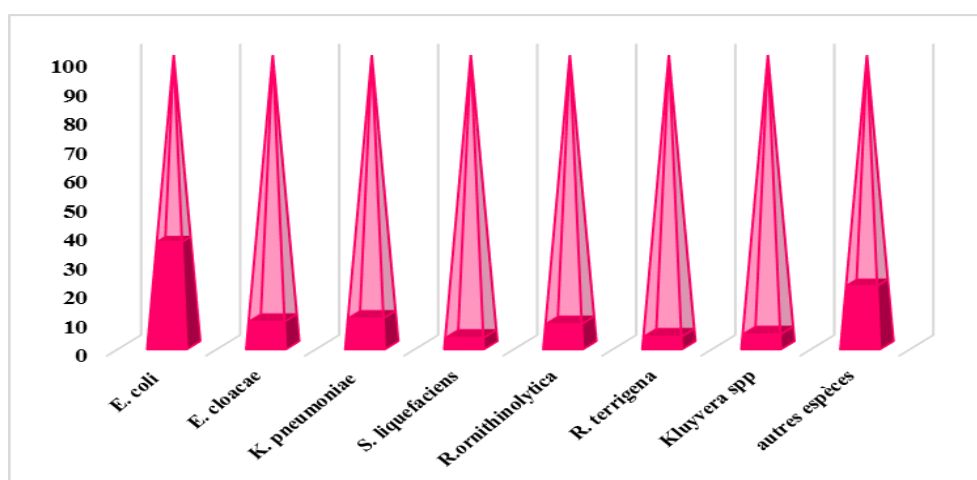


Figure 31 : Répartition des souches d'entérobactéries multi-résistantes en fonction de l'espèce.

Résultats

3.2. Répartition globale des Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques

D'après l'analyse du profil épidémiologique des Entérobactéries étudiées, des prévalences élevées des souches multi-résistantes aux antibiotiques ont été enregistrées dans les trois communes : Tébessa, Bekkaria et Bir El Ater avec des fréquences de 35%, 24% et 21% respectivement. De plus, une analyse approfondie de la propagation de ces bactéries a montré que les services de médecine interne, de gynécologie, de chirurgie interne, d'infectiologie et de maternité sont les services médicaux les plus fréquentés par les patients atteints d'infections urinaires due entérobactéries multi-résistantes au ATB. La fourchette d'âge de ces patients était de 8 ans à 82 ans et 52% des patients étaient des femmes. Cependant, 31% de ces patients sont des porteurs des sondes urinaires à demeure. Notamment ceux qui ont été infectés par les espèces *E. coli* et *K. pneumoniae*.

3.3. Résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries multi-résistantes (BMR) isolées

3.3.1. Profil de résistances globales des EMR

Comme mentionné précédemment, les tests de sensibilité aux antibiotiques ont montré que 63,75% des isolats d'Entérobactéries étudiées étaient BMR (Annexe N° 07). Les observations les plus notables comprennent une résistance généralisée à l'amoxicilline (96 %), la Ticarcilline (92%), la Pipéracilline (89%), la Ticarcilline-acide clavulanique (87), la Cefalexin (80%), la Ceftazidime (77%), le Céfexime (71%), l'Aztréonam (66%), l'Amoxicilline -acide clavulanique (65%), la Céfepime (65%), le Céfotaxime (57%), l'Ofloxacin (67%), la Ciprofloxacine (61%), la Fosfomycine (53%), le Cotrimoxazol (71%) et la Tobramicine (52%).

3.3.2. Profile de résistance des Entérobactérie multirésistantes aux ATB selon l'espèce

Les résultats illustrés dans la figure 34 nous ont permis classer les isolats étudiés en deux grands groupes en fonction de leur résistance vis à vis les 22 antibiotiques testés. Dans le premier groupe les espèces, *E. cloacae*, *E. coli*, *R. terrigena*, *P. mirabilis*, *R. ornitholytica*, *K. pneumoniae*, *S. odorifera*, *kluyvera* spp, *E. sakazakii*, *Selmonella* spp, *S. plymuthyca*, *S. ficaria*, *C. freundii*, *S. marcescence*, *K. oxytoca*, et *Morganella morganii* présentant les plus fortes prévalences de multirésistance, notamment en ce qui concerne les taux de leurs résistance aux antibiotiques qui appartiennent au Pénicillines, au Céphalosporines, au Quinolones et au

Résultats

certaines Aminoside, plus précisément à la Tobramycine. Alors que, tous ces isolats ont montré une très bonne sensibilité à l'imipénème, à la Nitrofurantoïne, à la Gentamycine et à l'Amikacine, où pourraient être considérés comme le médicament de choix. Au contraire, le deuxième groupe d'espèces qui englobe les souches de *E. aerogens*, *Pantoea* spp, *P. rettgeri* et *P. alcafaciens* montre des taux de résistance élevés même contre ces quatre molécules, principalement contre l'Imipénème avec une certaine sensibilité pour l'Ofloxacine et l'Aztréoname.

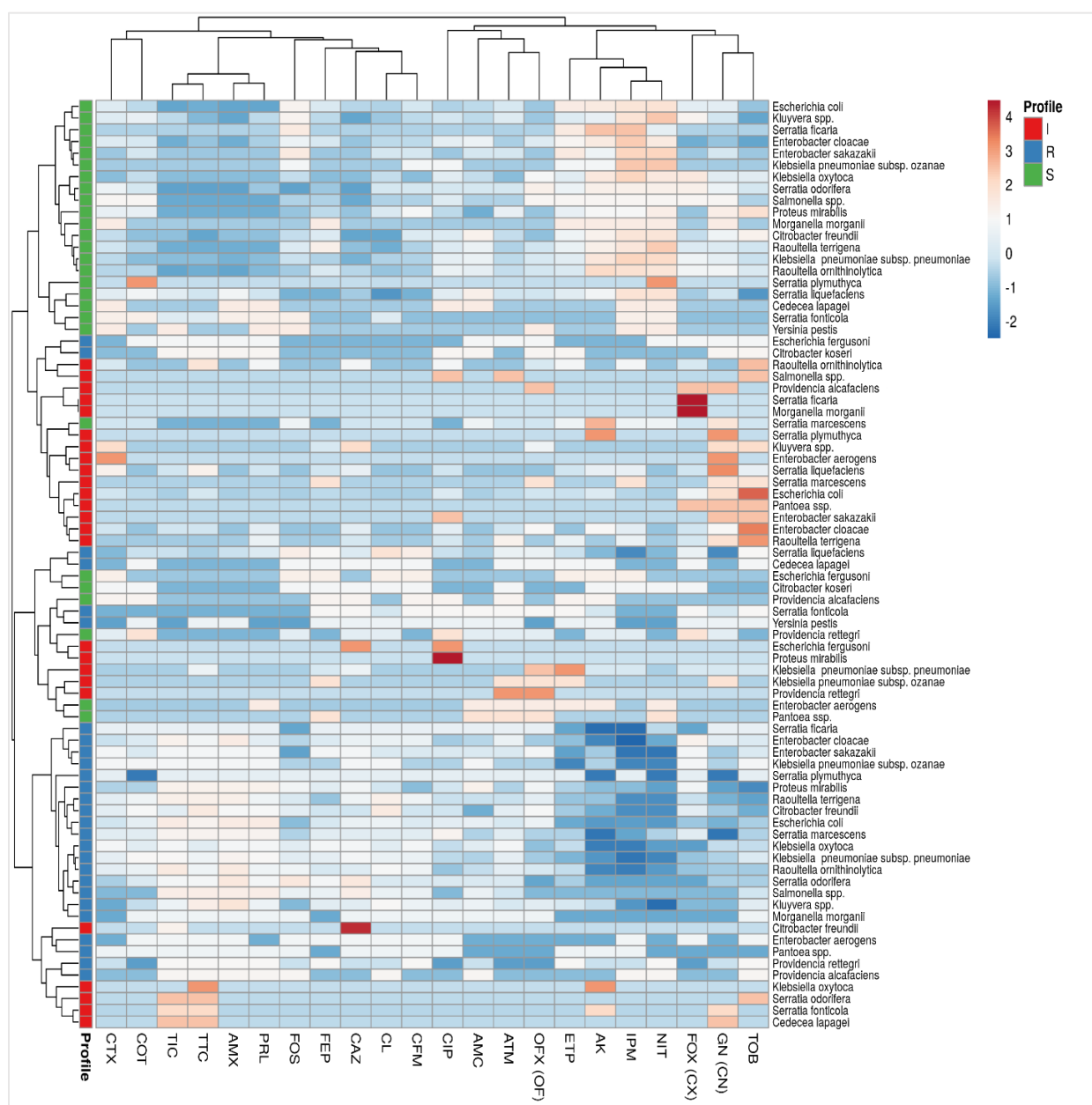


Figure 32 : Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-BMR

Résultats

4. Les Entérobactéries pan-résistantes (BPR)

Sur les 400 souches *d'Enterobacteriaceae* identifiées, nous avons constaté la présence de 10 souches pan-résistante ou toto-résistante (BPR ou BTR). Les dix isolats ont été identifiés comme étant *Klebsiella pneumoniae* (n= 02), *E.coli* (n= 2), *Klebsiella oxytoca* (n= 01), *Citrobacter freundii* (n= 01), *Pantoea ssp1* (n= 01), *Enterobacter cloacae* (n= 01), *Serratia liquefaciens* (n= 01), et *Serratia marcescens* (n= 01). La majorité des patients infectés étaient des femmes (60%), et l'intervalle d'âge de ces patients était de 19 ans à 69 ans. De plus, les patients infectés par ces isolats pan-résistantes ont été reçus dans diverses unités médicales réparties dans quatre grands hôpitaux de la wilaya (Tableau N° 09).

Tableau 09 : Caractéristiques clinique et démographiques des patients infectés par les Entérobactéries pan-résistantes.

Espèces	Age	Sexe	Service	Hopital
<i>Citrobacter freundii</i>	20	Homme	Médecine homme	EPH Bekkaria
<i>E.coli 1</i>	31	Femme	Chirurgie femme	EPH Bir El Ater
<i>E.coli 1</i>	19	Homme	Médecine homme	EPH Bir El Ater
<i>Enterobacter cloacae</i>	59	Femme	Gynécologie	EPH Cheria
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	35	Femme	Médecine femme	EPH Bir El Ater
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	27	Femme	Maternité	EPH Bir El Ater
<i>Klebsiella oxytoca</i>	29	Femme	Gynécologie	EPH Tebessa
<i>Pantoea ssp 1</i>	55	Homme	Dialyse	EPH Tebessa
<i>Serratia marcescens</i>	69	Homme	Chirurgie homme	EPH Cheria
<i>Serratia liquefaciens</i>	57	Femme	Dialyse	EPH Tebessa

La résistance de ces bactéries à tous les agents de toutes les classes d'antibiotiques indique la possibilité de la production de BLSE, de Carbapénémase et de Céphalosporinases plasmidiques de type AmpC. Ce qui constitué une menace pour la santé de population, car celles-ci peuvent se transmettre et diffuser entre les individus, particulièrement en milieu de soins.

Résultats

5. Analyse des phénotypes de résistance aux β -lactamines

5.1. Détections phénotypiques des β -lactamases à spectre élargi (BLSE)

Dans la présente étude, la production des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) a été enregistrée chez 238 isolats, ce qui représente 59,5% de l'ensemble des Entérobactéries isolées pendant la période d'étude (Figure N° 33).

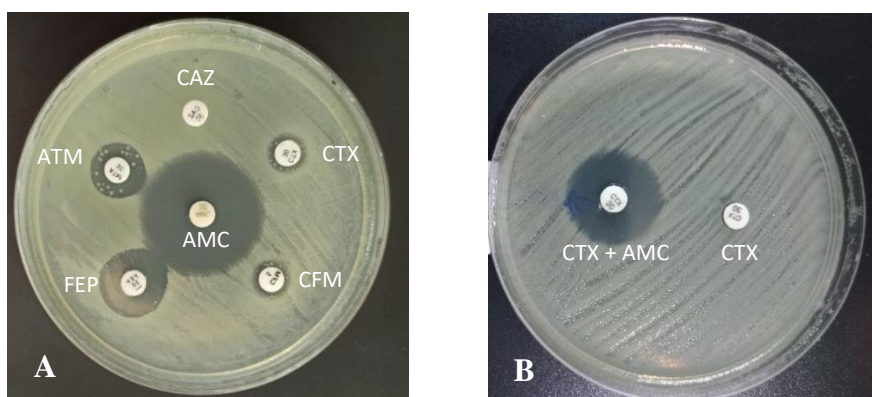


Figure 33 : Résultats de la recherche de β -lactamases à spectre élargi (BLSE) par la technique de la synergie (A) et double disque (B)

5.1.1. Répartition des Entérobactéries-BLSE (E-BLSE) selon les espèces

E.coli était la première espèce isolée parmi les E-BLSE avec une proportion de 35,71%. *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* constituent les espèces les plus fréquemment isolées après *E. coli*, représentant respectivement 13,86% et 10,08% des E-BLSE, suivi par la suite par *Raoultella terrigena* (5,88%), *Raoultella ornithinolytica* (4,20%), *Serratia liquefaciens* (3,78%), *Proteus mirabilis* (3,36%), *Serratia marcescens* et *Kluyvera* spp avec des proportions de 2,94% du total des souches productrice des BLSE. Un autre résultat important de notre étude est que certaines espèces d'Entérobactéries qui sont rarement responsables d'infections urinaires chez l'homme à savoir les espèces *Pantoea* spp, *Providencia rettgeri* et *Cedecea lapagei* ont été détectées à des faibles pourcentages comme des uropathogènes multirésistantes aux ATBs et productrice de BLSE au sein des souches étudiées (figure 34).

Résultats

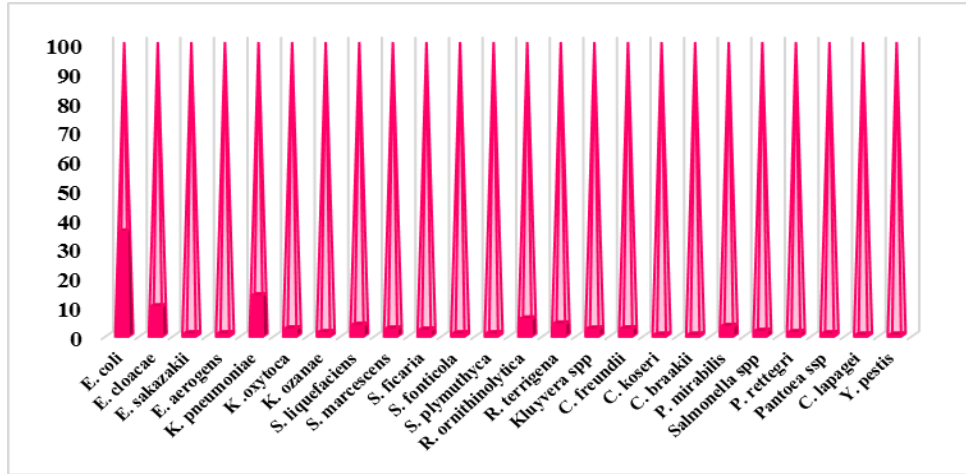


Figure 34 : Répartition des Entérobactéries-BLSE (E-BLSE) selon les espèces.

5.1.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de BLSE

La figure ci-dessous récapitule la répartition des espèces d'Entérobactéries BLSE isolées dans notre étude en fonction des caractéristiques socio-démographiques et médicales des patients infectés.

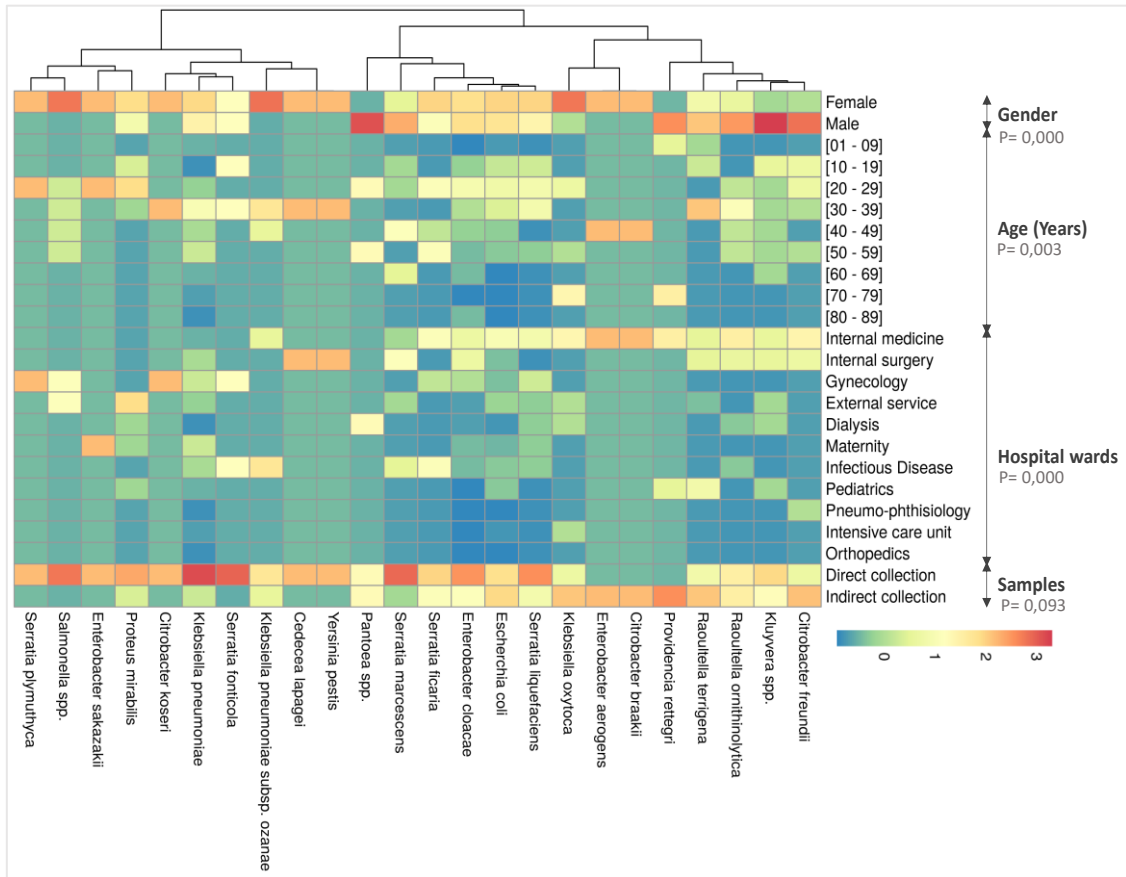


Figure 35 : Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de BLSE.

Résultats

Selon la figure 35, les femmes représentent une majeure partie des patients infectés par les E-BLSE avec une proportion de 51,26%. Bien que, la distribution de certaines espèces d'E-BLSE est à peu près semblable chez les deux sexes, où presque les mêmes fréquences ont été déterminées pour *E. coli*, *E. cloacae*, *K. pneumoniae*, *S. liquefaciens*, *S. ficaria*, *S. fonticola* et *P. mirabilis*. En revanche, d'autres espèces étaient réparties différemment chez les deux sexes, tels que les *S. marcescens*, *kluyvera* spp, *C. freundii*, *R. terregina* et *R. ornitholytica*, qui ont été isolées principalement chez des patients de sexe masculin.

L'âge des 238 patients porteurs d'une souche d'E-BLSE varie de 8 à 79 ans. *E. coli*, *S. liquefaciens*, *C. freundii*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *R. ornitholytica* et *Kluyvera* spp sont les espèces productrices de BLSE majoritairement retrouvées dans les prélèvements urinaires chez les patients de l'âge de 10 à 49 ans. Cependant, la plupart de ces espèces ont été isolées à des taux inférieurs chez les patients âgés de plus de 50 ans.

En ce qui concerne la propagation des Entérobactéries BLSE dans les différents services médicaux inclus dans notre étude, nous avons remarqué que certains services hospitaliers sont apparus plus concernés par le problème de résistance liée à la production de BLSE, notamment, les services de médecine interne (28,57%) et de chirurgie interne (15,12%) qui ont reçu la majorité des cas portant des espèces d'E-BLSE. Plus précisément d'*E. coli*, d'*Enterobacter* spp, des *Serratia* spp, des *klebsiella* spp, des *Raoultella* spp et des *Citrobacter* spp.

Pour l'analyse des facteurs de risques liés aux patients infectés par les E-BLSE, on a utilisé les fiches médicales de patients. A part les maladies chroniques telle que le diabète signalé chez certains patients, notamment celles de l'âge supérieur à 50 ans, le sondage à demeure est le principal facteur extrinsèque qui a été contribué dans l'augmentation de risque infectieux chez les malades inclus dans notre étude. 42% des souches productrices de BLSE ont été isolées chez des patients porteurs d'une sonde urinaire à demeure.

5.1.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries BLSE

5.1.3.1. Profil de résistances globales des E-BLSE aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques testés chez les Entérobactéries productrices de BLSE montre que, la majorité des souches E-BLSE sont résistantes aux bêta-Lactamine dont les aminopénicillines (Amoxicillin 94,54%), les Carboxypénicillines (Piperacillin 91,18%), les Chéphalosporine de troisième génération (Ceftazidime 89,08%, Cefotaxime 73,53%), les Monobactames (Aztréoname 77,73%), et les Carbapénème (Erthapénème 40,34%). En outre,

Résultats

cette étude a enregistré également des taux de co-résistance importantes sont les suivants : amikacine 18,49%, Gentamicine 37,39%, Tobramicine 55,04%), Ciprofloxacine (56,3%), Ofloxacine (56,97%), Fosfomycine (47,9 %), Cotrimoxazole (69,75%) et Nitrofurantoïnes (12,2 %) (Annexe N° 07).

5.1.3.2. Profil de résistance des E-BLSE aux ATB selon l'espèce

Les profils de résistances et sensibilités de toutes les espèces BLSE étudiés en détail sont illustré dans la figure suivante.

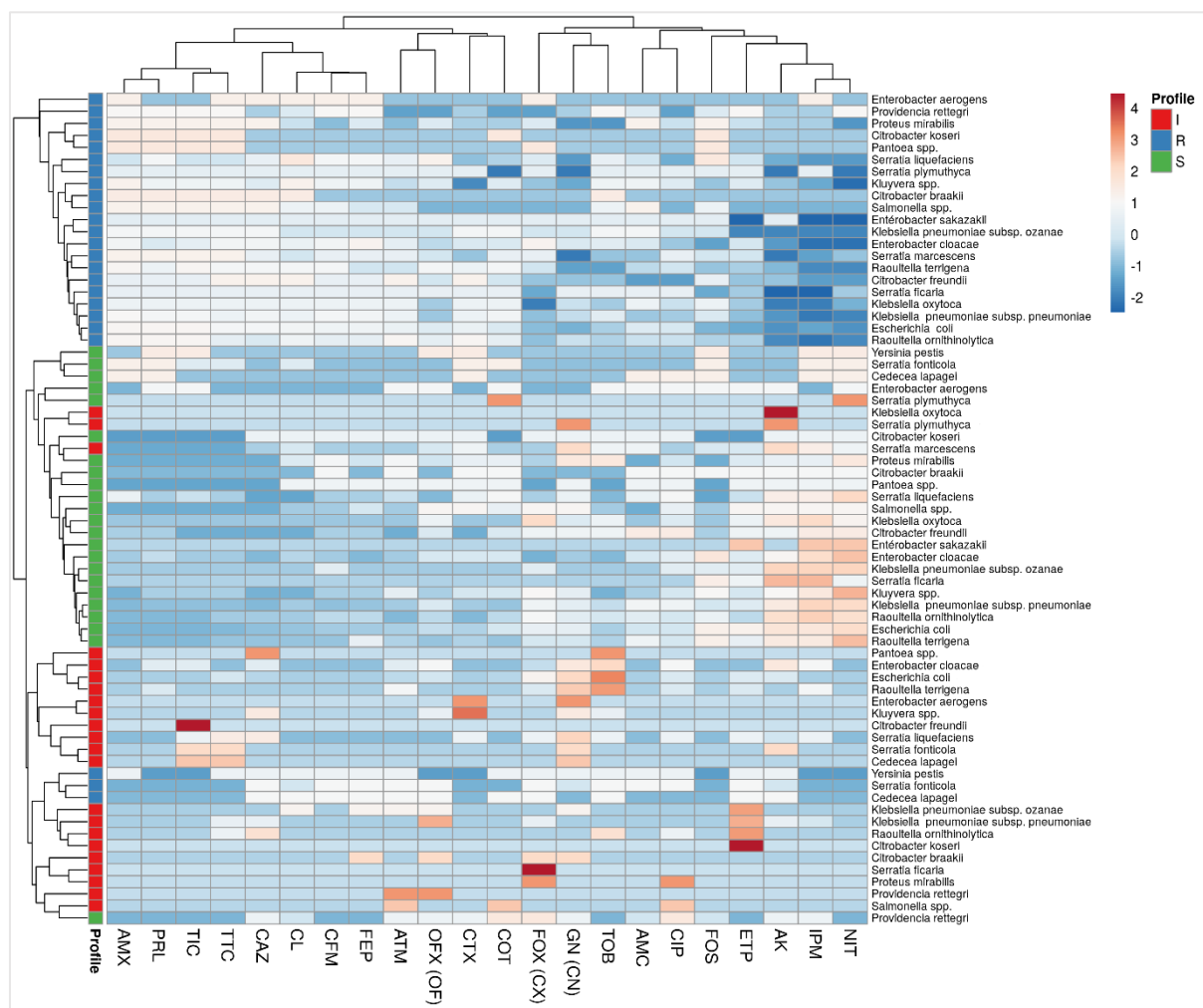


Figure 36 : Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-BLSE.

D'après l'analyse de ces profils, nous avons remarqué qu'à l'exception des taux de résistance des souches de *C. koseri*, *P. mirabilis* et *Pantoea* spp des augmentations importantes et remarquables des taux résistance des espèces BLSE ont été enregistré contre toutes les bêta-Lactamines testés (notamment aux Céphalosporines), en comparaison avec les taux de

Résultats

résistance enregistré chez les Entérobactéries BMR. De plus, une diminution légère de la sensibilité au Carbapénèmes, plus précisément à l'Erthapénème a été notée pour la majorité d'espèce BLSE, ou` une grande part des isolats de *kluuvera* spp, *P. mirabilis*, *S. liquefaciens*, *S. marcesence*, *E.cloacae*, *S. fonticola*, *cedecae* spp, *K. pneumoniae*, *R. ornitholytica*, et *R. terrigena* ont été distribuées dans les deux catégories résistante et intermédiaire. Cependant, la Gentamicine et la Nitrofurantoïne ont conservé leur efficacité contre la plupart des espèces BLSE isolés.

5.2. Détections phénotypiques des Céphalosporinase haut niveau (CHN)

Dans notre étude, l'association des mécanismes de résistance « BLSE et Céphalosporinase de haut niveau (CHN) » a été observé chez 93 isolats sur la totalité des Entérobactéries étudiés. Ce phénotype de résistance a été confirmé la restauration de l'activité des céphalosporines de 3ème génération et l'apparition d'image de synergie en présence de concentration définie de la Cloxacilline (figure N° 37).

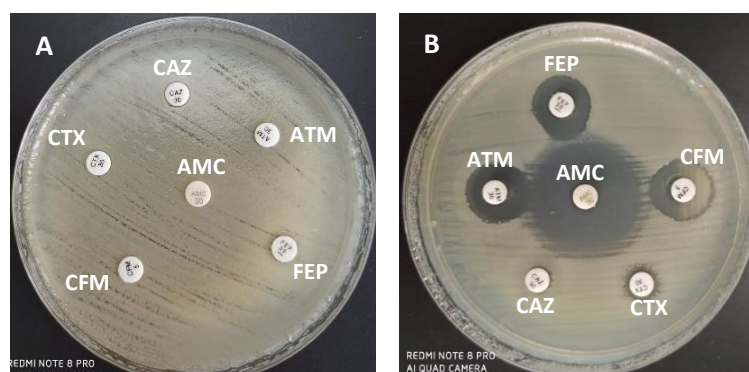


Figure 37 : résultat du test à la Cloxacilline pour une souche de *K. pneumoniae*

A : milieu MH / B : milieu MH + Cloxacilline

5.2.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-CHN en fonction de l'espèce

L'espèce dominante des Entérobactéries produisant une CHN est d'*E. coli* 43,01% (n= 40), suivie de *K. pneumoniae* 13,97% (n= 13), *E. cloacae* 11,82% (n= 11), *R. terrigena* 6,45% (n= 6), *R. ornitholytica* 3,22% (n= 3), *S. liquefaciens* 3,22% (n= 3) et d'autres espèces 18,27% (n= 17) (figure N° 38).

Résultats

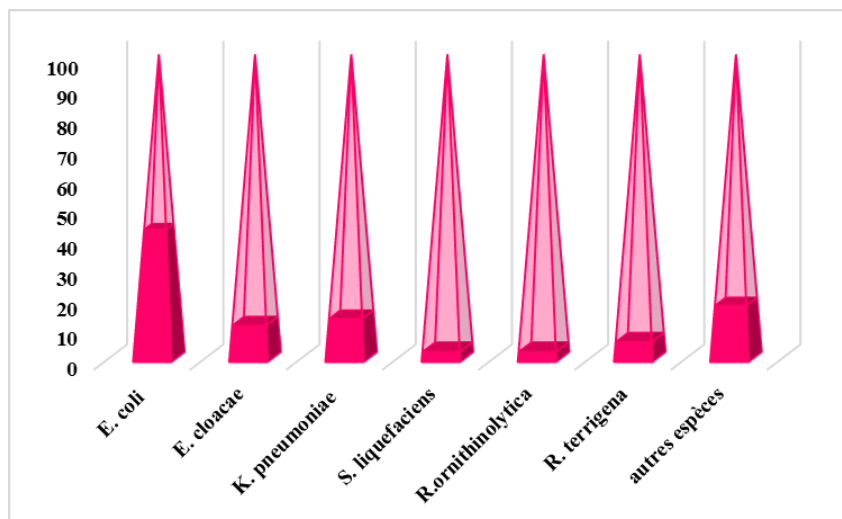


Figure 38 : Répartition des souches d'Entérobactéries productrice de CHN en fonction de l'espèce.

5.2.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de CHN

Le tableau suivant représente la répartition globale des espèces d'Entérobactéries hyper-productrices de Céphalosporinase en fonction d'âge, de sexe de patients, service médicale, hôpital et le mode de prélèvement.

Tableau 10 : Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de CHN

	Entérobactéries-CHN n= 93 (100%)						
	<i>E. coli</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>R. terrigena</i>	<i>R. ornitholytica</i>	<i>S. liquefaciens</i>	Autres espèces
Sexe							
Féminin	20 (21,05)	5 (5,38)	7 (7,53)	2 (2,15)	1 (1,07)	2 (2,15)	9 (9,68)
Masculin	20 (21,05)	6 (6,45)	6 (6,45)	4 (4,30)	2 (2,15)	1 (1,07)	8 (8,60)
Tranche d'âge							
01 – 09	2 (2,15)	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)
10 – 19	8 (8,60)	2 (2,15)	0 (00)	1 (1,07)	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)
20 – 29	13 (13,98)	3 (3,22)	3 (3,22)	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)	6 (6,45)
30 – 39	10 (10,75)	2 (2,15)	4 (4,30)	4 (4,30)	1 (1,07)	1 (1,07)	3 (3,22)
40 – 49	3 (3,22)	1 (1,07)	2 (2,15)	0 (00)	1 (1,07)	0 (00)	2 (2,15)
50 – 59	4 (4,30)	1 (1,07)	2 (2,15)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)
60 – 69	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)
70 – 79	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	3 (3,22)

Résultats

80 – 89	0 (00)	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)
Services médicaux							
MI	14 (15,05)	4 (4,30)	1 (1,07)	2 (2,15)	2 (2,15)	1 (1,07)	5 (5,38)
CI	5 (5,38)	3 (3,22)	2 (2,15)	2 (2,15)	0 (00)	0 (00)	2 (2,15)
Gény	5 (5,38)	1 (1,07)	3 (3,22)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)	2 (2,15)
Dia	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)	2 (2,15)
SE	1 (1,07)	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)
Mat	3 (3,22)	1 (1,07)	4 (4,30)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)
MI	5 (5,38)	1 (1,07)	2 (2,15)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	4 (4,30)
Ped	5 (5,38)	0 (00)	1 (1,07)	2 (2,15)	0 (00)	0 (00)	0 (00)
ISU	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)
Hôpitaux							
EPH Tebessa	9 (9,68)	5 (5,38)	2 (2,15)	2 (2,15)	1 (1,07)	0 (00)	5 (5,38)
EPH Bekkaria	11 (11,83)	2 (2,15)	5 (5,38)	0 (00)	1 (1,07)	1 (1,07)	7 (7,53)
EPH Bir El Ater	10 (10,75)	0 (00)	5 (5,38)	1 (1,07)	1 (1,07)	1 (1,07)	1 (1,07)
EPH Cheria	8 (8,60)	3 (3,22)	0 (00)	3 (3,22)	0 (00)	1 (1,07)	3 (3,22)
EPH Ouinat	2 (2,15)	1 (1,07)	1 (1,07)	0 (00)	0 (00)	0 (00)	1 (1,07)
Mode de prélèvement							
Direct	18 (19,35)	6 (6,45)	10 (10,75)	2 (2,15)	1 (1,07)	2 (2,15)	11 (11,83)
Indirect	22 (23,65)	5 (5,38)	3 (3,22)	4 (4,30)	2 (2,15)	1 (1,07)	6 (6,45)

D'après les résultats obtenus, la différence entre la fréquence des Entérobactéries-CHN dans les deux sexes est très faible, où une fréquence de 50,53% a été rapportée chez des patients de sexe masculin par rapport à une fréquence de 49,46% chez le sexe féminin. En ce qui concerne la distribution de ces isolats par catégorie d'âge, la majorité des souches E-CHN est isolée à partir des adultes (19-50 ans) avec une proportion de 65%, suivie de la catégorie d'enfants-adolescents (02-19 ans) et des patients âgés qui dépassent l'âge de 50 ans. Les souches d'Entérobactéries sécrétrices de CHN ont été trouvées dans divers EPH et divers types de services. De plus, certains services hospitaliers sont apparus plus touchés que les autres tels que les services de médecine interne, chirurgie interne et de gynécologie.

5.2.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries CHN

Les isolats producteurs de CHN présentent une Co-résistance à de nombreuses autres classes d'antibiotiques, ce qui entraîne une limitation de l'option thérapeutique (Figure 39) (Annexe N°07).

Résultats

Les taux de résistance aux autres familles des antibiotiques ont donné les résultats suivants : Tobramycine : 58,06 % ; Gentamicine : 43,01% ; Amikacine 18,27 ; Ciprofloxacine : 61,29% ; Ofloxacine : 73,11% ; Fosfomycine : 43,93 % ; Nitrofurantoïnes : 43,93 % ; Cotrimoxazole : 73,11 %, on note alors une augmentation de la résistance par rapport au taux trouvé chez les E-BLSE (sauf pour le Fosfomycine) au sein de la plupart des espèces d'Entérobactéries-CHN tels que : *E.cloacae*, *E.coli*, *K. pneumoniae*, *R. ornitholytica*, *R. terrigena*, *S. liquefaciens*, *S. ficaria*, et *K. oxytoca*.

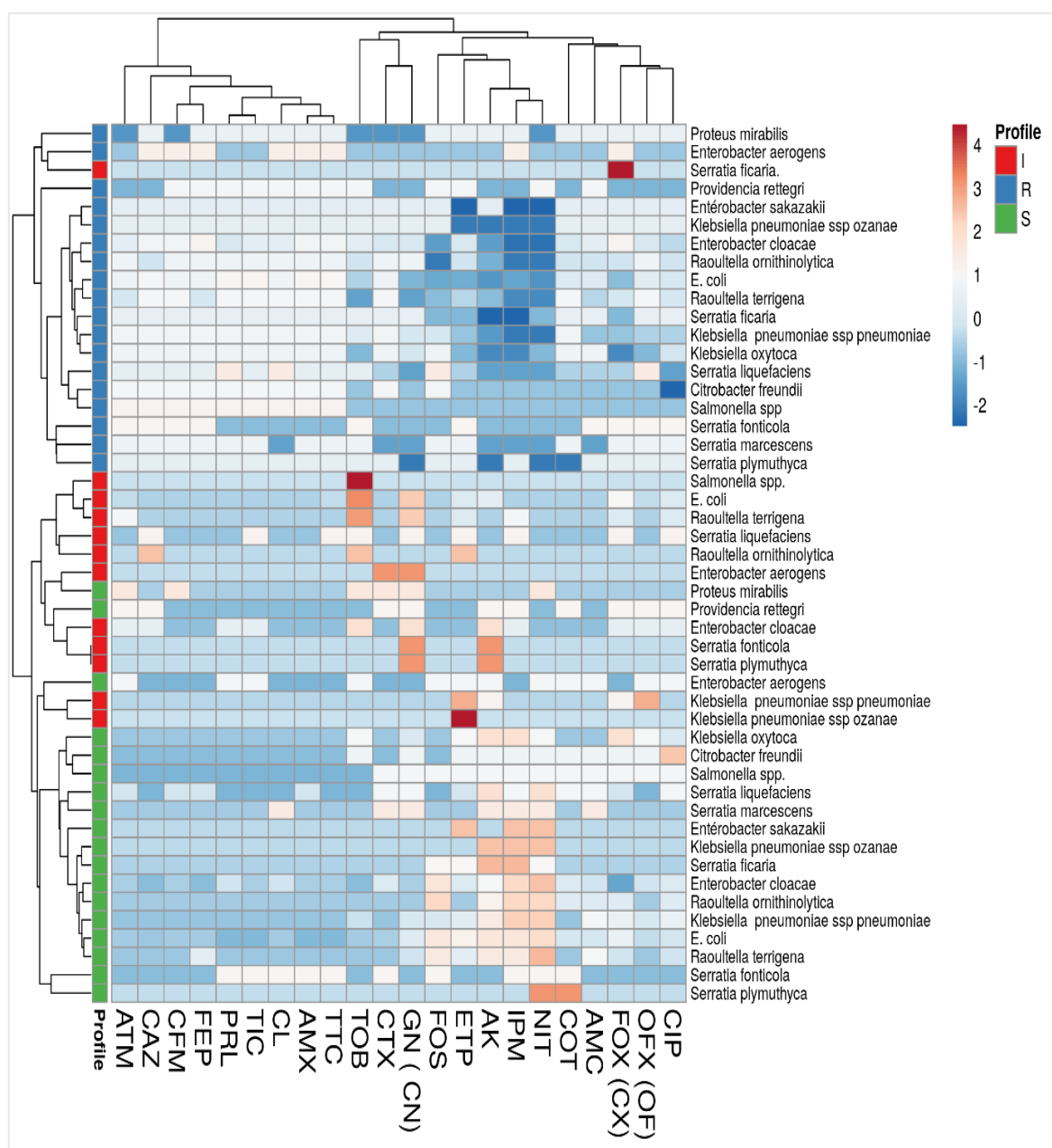


Figure 39 : Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-CHN

Résultats

5.3. Détections phénotypiques des Carbapénèmase (CP)

Durant la période d'étude, 108 souches présentant une diminution de sensibilité à l'Ertapénème, dont 78 souches ont été confirmées comme des productrices de Carbapénèmase (EPC) par le test de CarbaNP, représentant ainsi 19,5% de la totalité des entérobactéries isolées et 30,58% du total des isolats d'Entérobactéries multirésistantes étudiées (Figure 40).

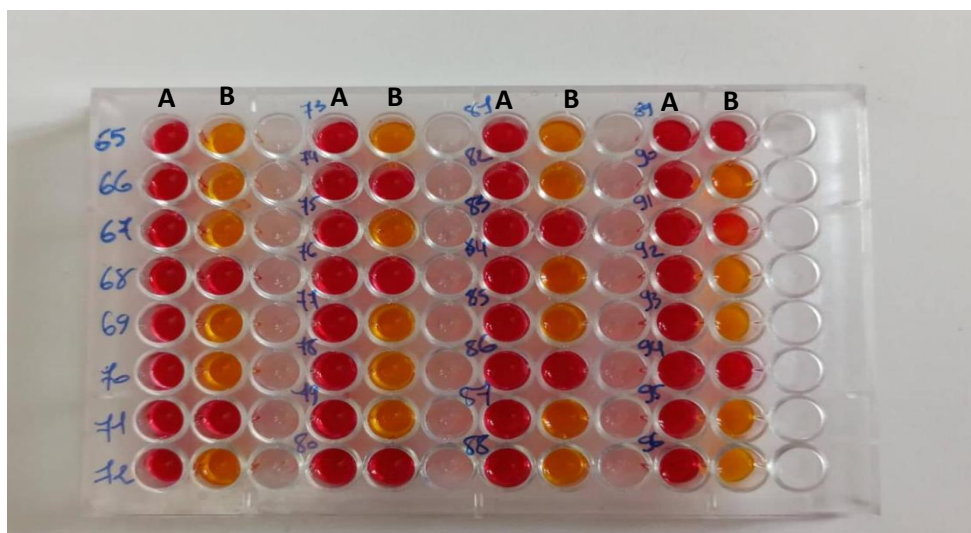


Figure 40 : Résultat représentatif du test de Carba NP.

A : Solution A. B : Solution A + imipénème (jaune = résultat positif / rouge = résultat négatif)

5.3.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-CP en fonction d'espèce

La figure 41 montre la répartition des Entérobactéries productrices de Carbapénèmase (EPC) par espèce.

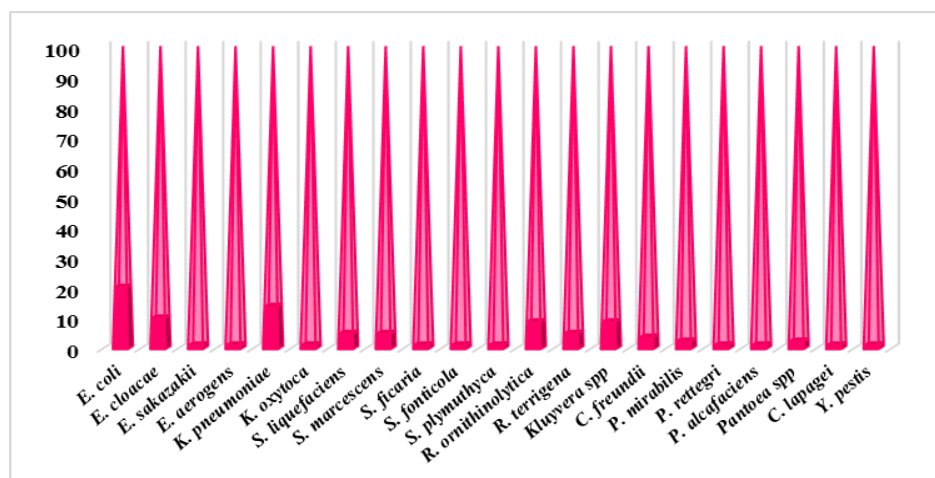


Figure 41 : Répartition des Entérobactéries-Carbapénèmase (EPC) selon les espèces

Résultats

Notre étude montre bien que *E. coli* est le producteur potentiel de Carbapénèmase, avec une prévalence de 20,51%, suivi de *klebsielle pneumoniae* avec une prévalence de 14,1%, d'*Enterobacter Cloacae* avec 10,25%, de *Raouletlla ornitholytica* et *kluuvera spp* avec 8,97% respectivement. Tandis que, une prévalence de 5,12% des isolats productrices de carbapénèmase est rapportée pour chacun des espèces de *S. liquefaciens*, *S. marcesence*, *R. terregina*, suivi par une proportion de 3,12% pour l'espèce *C. freundii* et 2,56% pour les deux espèces *P. mirabilis* et *pontoea spp*. Cependant, Toutes les espèces restantes constituaient 12,8% du total des EPC avec une proportion de 1,28% pour chaque espèce.

5.3.2. Répartition globale des Entérobactéries productrice de Carbapénèmases

La figure 42 illustre la distribution des germes d'Entérobactéries productrice de Carbapénèmases responsables d'infection urinaire selon le sexe, l'âge, le service, l'EPH et le mode de prélèvement, en prenant en compte les espèces.

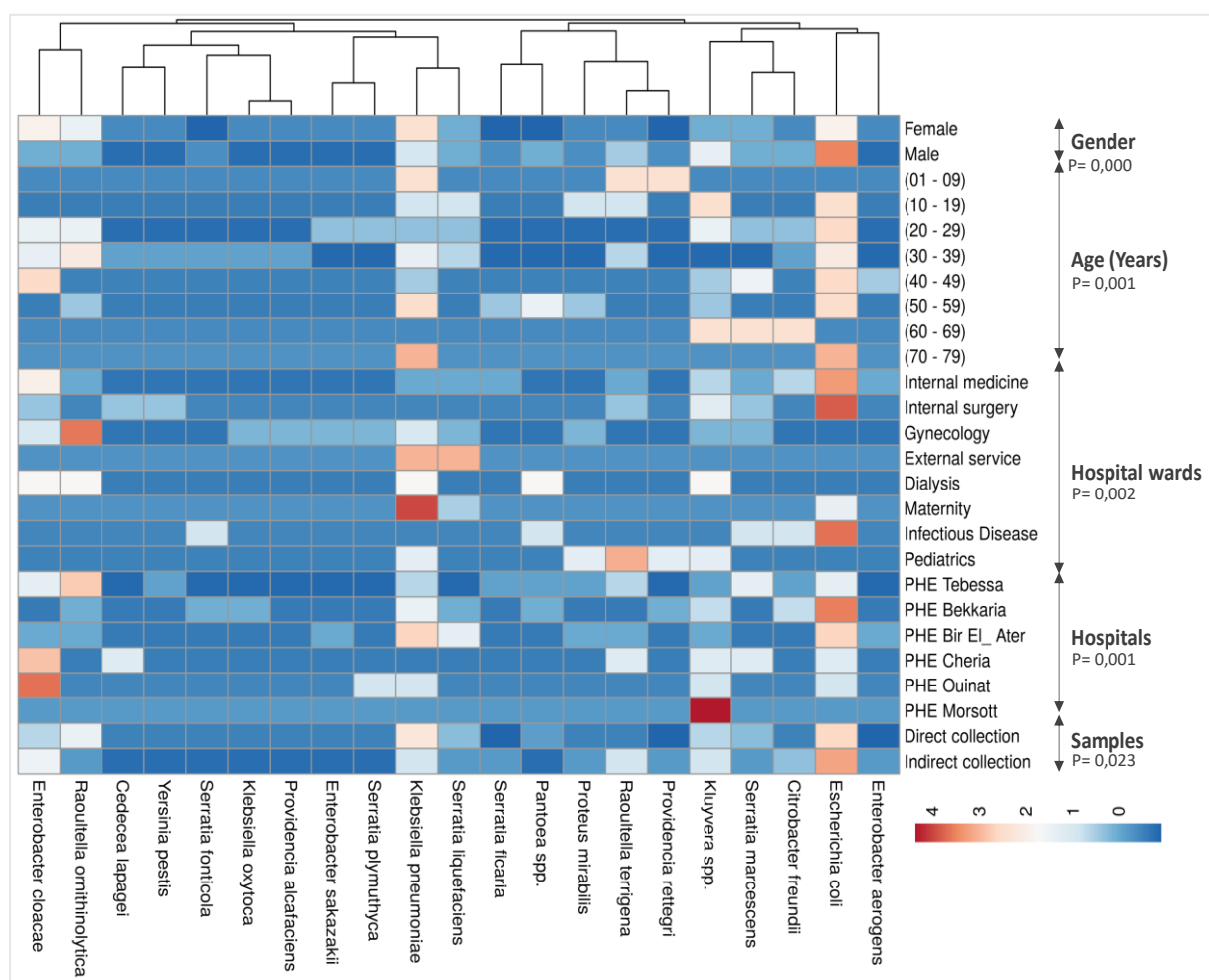


Figure 42 : Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de Carbapénèmase.

Résultats

L'analyse des données montre que les espèces *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella ornitholytica* sont plus fréquentes chez les femmes que chez les hommes dans notre série. Tandis que, *Escherichia coli*, *Raoultella terrigena* et *Kluyvera* spp reste plus fréquent chez les hommes que chez les femmes. Au contraire, notre analyse a montré la prédominance de nombreuses espèces comme *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens* et *Proteus mirabilis* chez les deux sexes.

La majorité des Entérobactéries sécrétrices de Carbapénèmase étudiées a été isolée des patients âgés de 20 à 59 ans. *E. coli* était la souche la plus répandue dans toutes les tranches d'âge étudiés, Alors que, d'autres espèces importantes tels que le *Klebsiella pneumoniae*, *Kluyvera* spp, *Serratia marcescens* et *Raoultella ornitholytica* sont répartis de manière inégale entre les différents groupes d'âge inclus dans notre étude.

L'analyse des données a montré également que les souches d'Entérobactéries-PC sont isolées beaucoup plus dans les services de médecine interne, de chirurgie interne, de gynécologie, de maternité et des maladies infectieuses. *Escherichia coli* a dominé le profil bactériologique de l'infection urinaire pris en charge en médecine interne, en chirurgie interne et en service des maladies infectieuses. Dans le service de maternité et le service externe, *Klebsiella pneumoniae* occupe la place la plus importante parmi les espèces isolées. Cependant, dans le service de gynécologie *Raoultella ornitholytica* reste le germe le plus fréquemment isolées et en service de pédiatrie le *Raoultella terrigena* était l'espèce la plus isolée.

Toutefois, notre étude a révélé que le plus grand nombre d'Entérobactéries productrice de Carbapénèmase a été détecté dans les hôpitaux de la commune de Tébessa, Bie El Ater et Bekkaria. Les espèces d'*E. coli*, de *Klebsiella pneumoniae*, de *kluyvera* spp et de *Raoultella ornitholytica* étaient les principaux représentants des EPC dans ces trois communes. En revanche, les patients admis dans les hôpitaux de la commune de Chraiaa, El Aouinet et Morsott étaient les moins exposés aux infections urinaires causées par les Entérobactéries sécrétrices de Carbapénèmases. Où un seul cas d'infection urinaire aigue due au *kluyvera* spp a été identifié à l'hôpital de Morsott. Alors que, les souches de l'espèce *Enterobacter cloacae* étaient les plus répandues chez les patients souffrant d'infections urinaires dans les deux hôpitaux de Chraiaa et El Aouinet.

Selon les fiches médicales des patients atteints d'une IVU due aux entérobactéries résistantes aux Carbapénèmes et comme la montre dans la figure 42, l'utilisation de dispositifs invasifs, tels que les cathéters urinaires, était l'un des facteurs affectant la propagation de ces

Résultats

bactéries chez les différents patients inclus dans la présente étude, en particulier chez ceux souffrant de maladies chroniques telles que le diabète, l'hypertension artérielle et les problèmes rénaux aigus.

5.3.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices des Carbapénèmases

5.3.3.1. Profil de résistances globales des EPC aux antibiotiques

L'analyse du spectre de sensibilité et de résistance des souches d'Entérobactéries sécrétrices de Carbapénèmases aux antibiotiques testés (Annexe N° 07) montre que la majorité de nos souches étaient résistantes à l'Ertapénème (82%). Tandis que, le test à l'Imipénème a donné des résultats différents avec 30% de résistance et 57% de sensibilité. Cette résistance aux Carbapénèmes est associée à une résistance à la majorité des bêta-lactamines testés tel que l'Amoxicillin (87%), la Céfalexine (87%), le Ceféxime (84,61%), le Céfepime (84,61%) et les pénicillines associées aux inhibiteurs des bêta-lactamase comme la Ticarcilline + acide clavulanique (79%) et l'Amoxicillin + acide clavulanique (56%). Cependant, la résistance de ces souches à l'Amikacine, à la Gentamicine et au Tobramicine a été de (33, 33%), (39,74%) et (69,23%) respectivement. En outre, les souches d'CPE a enregistré également des taux de co-résistance élevés vis-à-vis de la Ciprofloxacine (50%), à l'Ofloxacine (62,82%), de la Fosfomycine (50%) et de la Cotrimoxazole (61,53%). En revanche, La Nitrofurane c'est montré l'antibiotique le plus actif sur la majorité des souches testées, où seulement 15% des souches étaient résistantes à ce dernier.

5.3.3.2. Profil de résistance des Entérobactéries-CP aux ATB selon l'espèce

La figure suivante (Figure 43) montre le degré de résistance aux antibiotiques testés pour chacun des espèces d'Entérobactéries détectées comme des productrices de Carbapénèmases.

Résultats

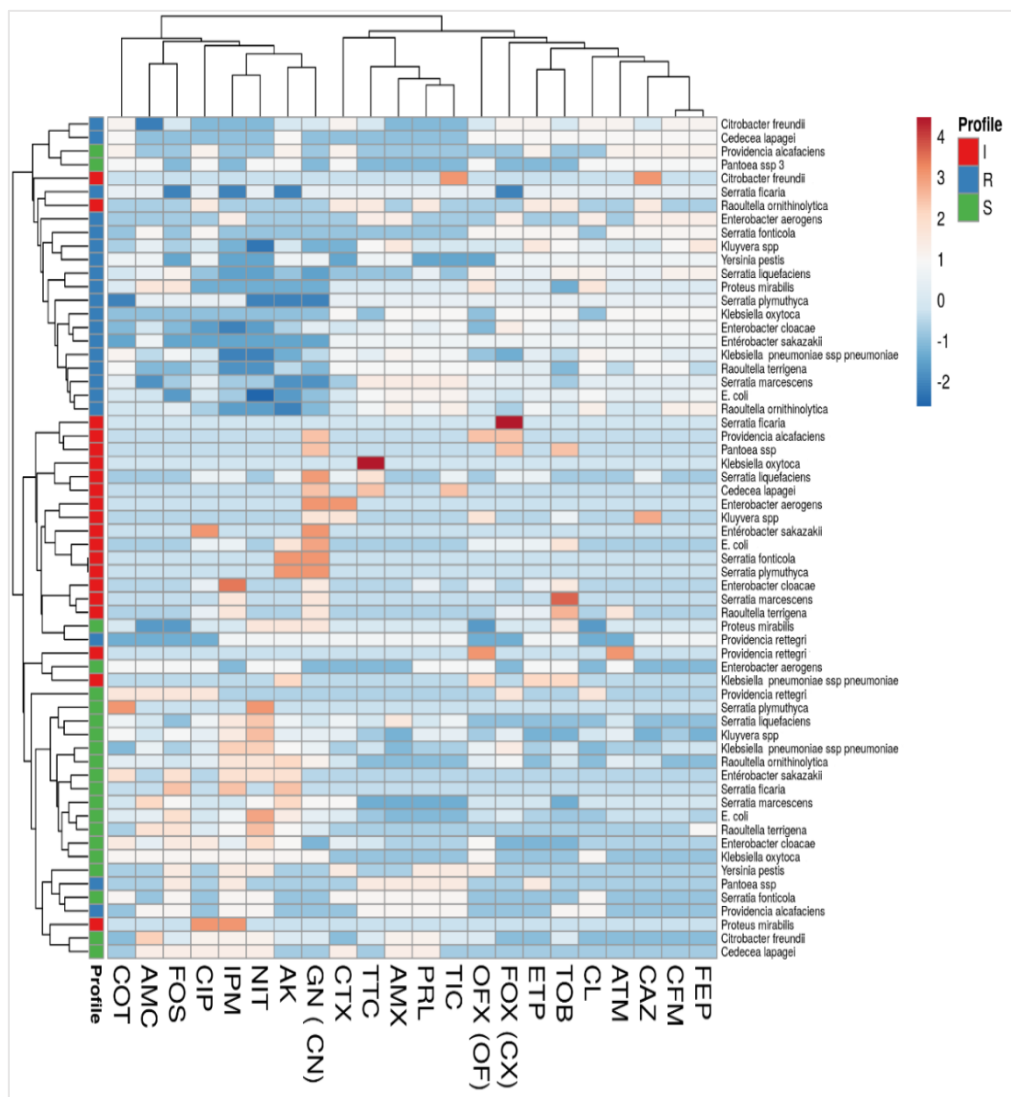


Figure 43 : Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-CP

Selon les résultats présentés dans l'image ci-dessus, les isolats d'Entérobactéries productrices de Carbapénèmase peuvent être divisés en deux grands groupes en fonction de leurs niveaux de résistance aux antibiotiques testés dans notre étude.

Toutes les espèces d'Entérobactéries-PC étudiées ont montré des taux élevés de résistance à l'Ertapénème à l'exception de trois espèces *Enterobacter aerogens*, *Providencia alcalifaciens* et *Pantoea* spp. Cependant, aucune résistance à l'Imipénem n'a été notée chez les espèces *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia liquefaciens*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Raoultella terrigena*, *Proteus mirabilis*, *Cedecea lapagei* et *Yersinia pestis*.

Résultats

La résistance de toutes les espèces des Entérobactéries productrice de Carbapénèmase aux C3G s'est amplifiée. Alors que, les taux de résistance aux aminoglycosides sont variés d'une espèce à l'autre, où les taux de résistance les plus élevés contre l'Amikacine et la Gentamycine ont été enregistrés particulièrement chez les isolats d'*Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter freundii*, *Providencia rettgeri* et *Yersinia pestis*. Tandis que, les isolats appartenant à l'espèce *Raoultella ornitholytica*, *E. coli*, *Serratia fonticola*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsiella oxytoca*, *Citrobacter freundii* et *Klyuvera* spp était les plus résistantes à la Tobramicine.

Concernant les taux de résistance aux Fluoroquinolone testés, nous avons constaté une augmentation légère de l'activité de ces derniers sur la plupart des espèces d'E-PC en comparaison avec les taux de résistances marquées chez les E-BLSE et E-CHN.

Pour les autres antibiotiques testés, les isolats de *Klebsiella pneumoniae* ont été les plus résistantes à la Fosfomycine et à la Cotrimoxazole. Bien que, le Nitrofurantoïne est resté comme la molécule le plus efficace contre les Entérobactéries productrices de Carbapénèmase dans notre étude.

5.4. Détections phénotypiques des Métallo-Béta-Lactamases (MβLs)

Sur la base des résultats du test de disque combiné et le test de synergie, 59/400 (14,75%) isolats ont été confirmés comme étant des producteurs de Métallo-Béta-Lactamases (MβLs) (Figure 44).

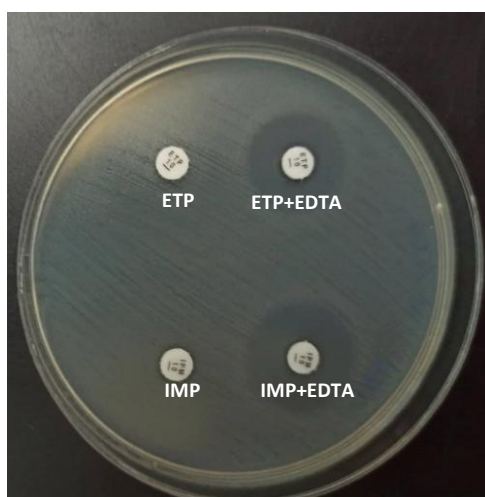


Figure 44 : Détection phénotypique des métallo-bêta-lactamases par le test de disque combiné.

Résultats

5.4.1. Répartition des souches d'Entérobactéries-MBL en fonction de l'espèce

La répartition des Entérobactéries productrices des métallo-bêta-lactamases (MBLs) par espèce est donnée dans la figure suivante :

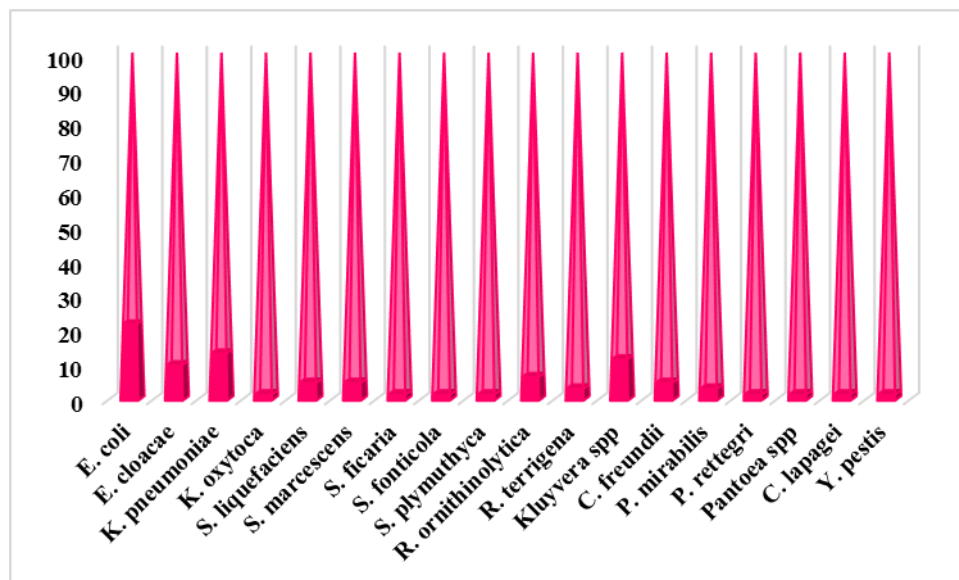


Figure 45 : Répartition des Entérobactéries- métallo-bêta-lactamase (E-MBL) selon les espèces.

Parmi les 59 Entérobactéries, 13 souches d'*E. coli*, 08 souches de *Klebsiella pneumoniae*, 07 souches de *Klyuvera spp* et 06 souche d'*Enterobacter cloacae* se sont montrés productrice de métallo-bêta-lactamase, soit respectivement 22,03%, 13,56%, 11,86% et 10,16% du total des E-MBL isolées. *Raoultella ornitholytica* avait une fréquence d'isolement de 6,77% et 5,08% pour *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* et *Citrobacter freundii*. En outre, d'autres espèces à savoir *Klebsilla oxytoca*, *Serratia ficaria*, *Serratia fonticola*, *Serratia plymuthyca*, *providencia rettgeri*, *Pantoea spp*, *Cedecae lapagei*, *Yersinia pestis*, *Proteus mirabilis*, et *Raoultella terrigena* étaient faiblement représentées avec des fréquences entre 1,69% et 3,38% (Figure 45).

5.4.2. Répartition globale des Entérobactéries productrices de métallo-bêta-lactamases (E-MBL)

Les renseignements médicaux et socio-démographiques des patients infectés par des souches d'Entérobactéries- MBL sont illustrés dans la Figure N° 46.

Résultats

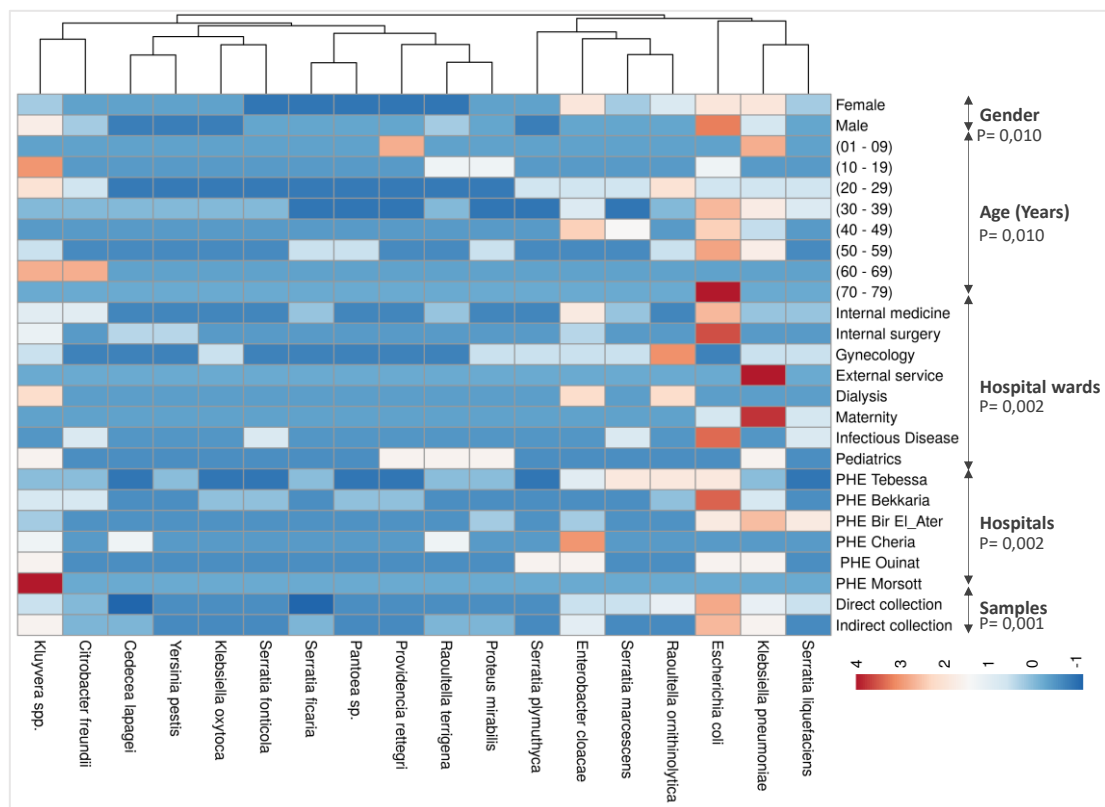


Figure 46 : Caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des Enterobacteriaceae productrices de métallob-lactamases

Le nombre des isolats d'E-MBL étaient répartis presque en égalité entre les deux sexes. 29 souches MBL proviennent du sexe masculin et 30 souches proviennent du sexe féminin. Selon la figure, les espèces *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Raoultella ornitholytica*, *Serratia marcescens* et *Serratia liquefaciens* ont été isolées principalement à partir des patients de sexe féminin, alors que les isolats d'*E.coli*, de *Klyuvera spp.*, et de *Raoultella terrigena* ont été plus fréquents chez les patients de sexe masculin.

D'après l'analyse de la figure, on peut constater également que la répartition qualitative et quantitative des espèces d'E-MBL varient en fonction de l'âge des patients. La fréquence des ces infections a atteint un taux maximal chez les personnes âgées de 20 à 59 ans. Les espèces plus isolées au sein de ce groupe des patients étaient *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Entérobacter cloacae*, *Raoultella ornitholytica* et *Raoultella terrigene*. En revanche, les cas d'IU aux E-MBL ont été moins observés chez les enfants et les patients âgés de plus de 60 ans avec une prédominance de l'espèce *Klyuvera spp* dans ces deux catégories d'âge.

En ce qui concerne la répartition des souches selon les services d'isolement et les hôpitaux inclus dans cette étude. Nous avons noté que, les E-MBL ont été retrouvé dans les

Résultats

différents hôpitaux notamment l'hôpital de Tebessa, Bekkaria et Bir El Ater, avec une fréquence élevée au niveau des services de chirurgie, de gynécologie, de médecine interne, des maladies infectieuses, de maternité et de pédiatries. Où les majorités des espèces isolées ont été répartis d'une manière hétérogène dans ces unités médicales (Figure 46).

5.4.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices des métallo- β -lactamases

5.4.3.1. Profil de résistances globales des E-MBL aux antibiotiques

Le Profil de résistances des E-MBL nous montre que plus de 80% des souches d'Entérobactéries productrice de MBL ont été résistantes aux pénicillines (Amoxicilline, Ticarcilline et Pipéracilline), et cette résistance est légèrement réduite en présence d'acide clavulanique. Des taux de résistance élevés ont été également marqués à l'égard de l'Erthapénème 86,44%, de l'Aztréonam 64,44% et de différentes Céphalosporines testé, tels que la Céfalexin 83.05%, le Céfixime 81.35%, la Céfotaxime 71,18% et le Céfepime 81.35%.

Concernant les Aminoglycosides, un taux de résistance moyenne a été enregistré contre la Gentamicine et l'Amikacine avec un pourcentage de 37,29% et un taux de résistance plus élevé a été marqués vis-à-vis à la Tobramicine avec un pourcentage de 71,18%.

Des taux de résistances assez importantes ont été marqués contre les quinolones avec une proportion de 59,32% et 54,23% pour la Ciprofloxacine et l'Ofloxacine respectivement. De plus, des taux de résistance de 59,32% et 50,84% ont été notés concernant respectivement le Cotrimoxazol et la Fosfomycine. Cependant, une faible résistance a été observée pour la Nitrofurantoïne avec un taux de 15,25% (Annexe N° 07).

5.4.3.2. Profil de résistance des Entérobactéries-MBL aux ATB selon l'espèce

Le profil de résistance détaillé pour chaque espèce d'Entérobactéries sécrétrices de MBL est illustré dans la figure suivante :

Résultats

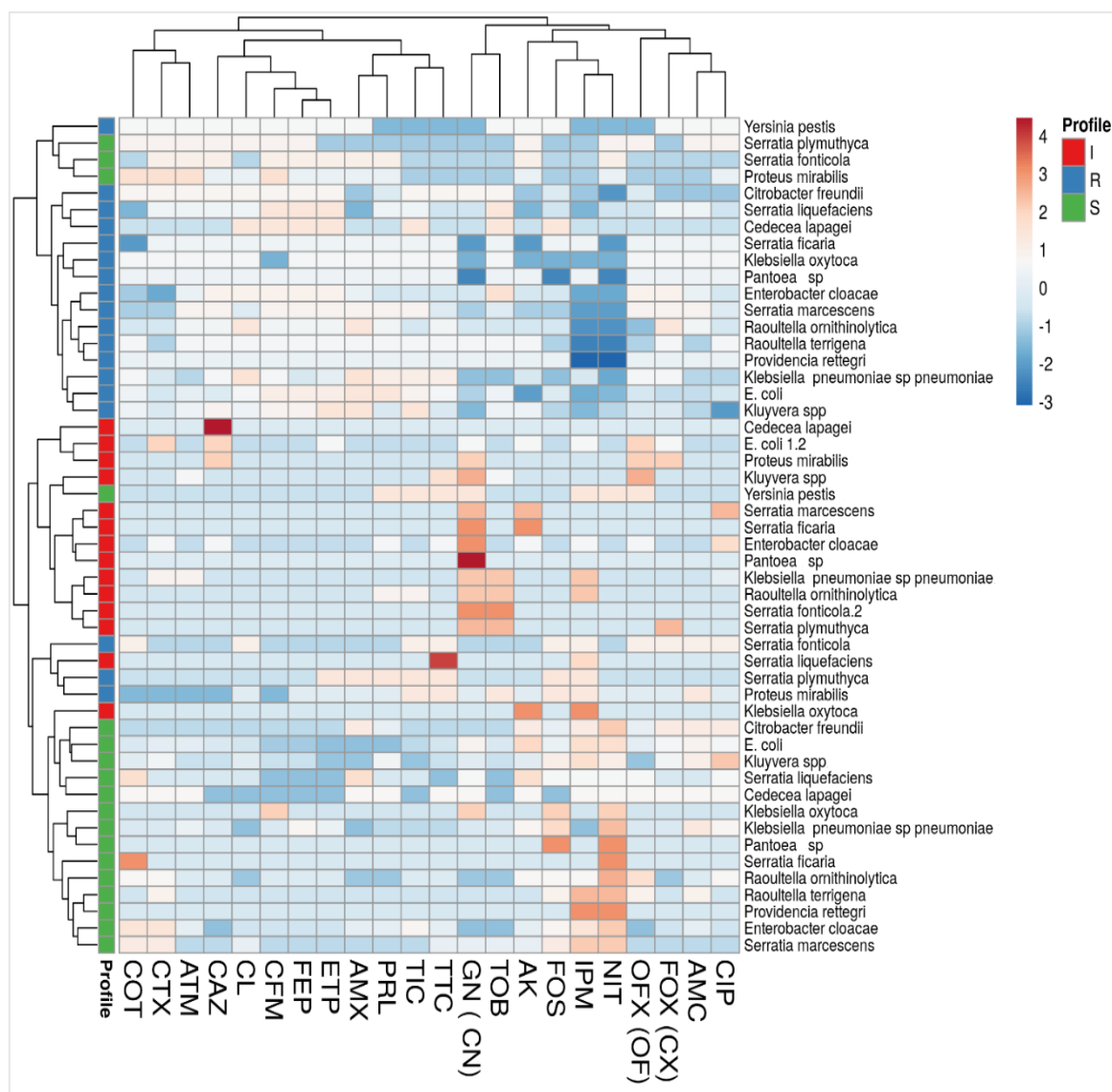


Figure 47 : Profils de résistances des espèces d'Entérobactéries-MBL.

L'étude de la résistance des principales espèces sécrétrices de MBL de notre collection a montré que *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Kluuyvera spp*, *Raoultella ornitholytica*, *Raoultella terrigena*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens*, *Klebsilla oxytoca*, *Serratia ficaria* et *Citrobacter freundii* ont un taux de résistance très proches à tous les antibiotiques de la famille de bêta-lactamines, y compris ceux associées aux inhibiteurs de bêta-lactamases à savoir l'Amoxicilline- acide clavulanique et le Ticarcilline-acide clavulanique. En dehors de la famille des Bêta-lactamines, les taux de résistance aux autres antibiotiques varient d'une espèce à l'autre.

Pour les Quinolones, différents taux de résistance ont été rapportés contre la Ciprofloxacine et l'Ofloxacine, où des taux élevés de résistance ont été enregistrés chez la

Résultats

plupart des espèces contre ces antibiotiques, à l'exception des espèces *Klyuvera spp*, *Serratia plymuthica* et *Citrobacter freundii* qui ont été les plus sensibles vis à vis à l'activité de Ciprofloxacine et les espèces *Raoultella ornitholytica*, *Raoultella terrigena*, *Serratia plymuthica* et *Yersinia pestis* qui ont montrés les taux de sensibilité les plus remarquable pour l'Ofloxacine.

En ce qui concerne la résistance aux Aminoglycosides, la Gentamycine et l'Amikacine étaient les molécules les plus actives contre la totalité des isolats d'Entérobactéries-MBL, où la majorité de ces isolats sont classées dans les deux catégories intermédiaire et sensible pour ces antibiotiques. En revanche, la majorité des espèces isolées, notamment *Proteus mirabilis*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia liquefaciens*, *Klyuvera spp*, *Citrobacter freundii*, *Cedeceae lapagi*, *Raoultella terrigena*, *E. coli*, *Serratia ficaria* et *Klebsilla oxytoca* ont montrés des taux de résistance élevée à l'égard de la molécule de Tobramycine.

Pour la résistance des isolats d'E-MBL aux autres antibiotiques testés dans notre étude, nous avons noté des taux de résistance plus ou moins élevés au sein des espèces isolées contre la Fosfomycine et Cotrimoxazole. Cependant, la Nitrofurantoïne a maintenu son activité contre la plupart des isolats d'Entérobactéries-MBL, à l'exception de quelques souches de l'espèce *Proteus mirabilis* et les *Serratia spp*.

Résultats

II. Caractérisation moléculaire des gènes codant pour les BLSE, les CP et les CHN

Le dépistage des gènes codant pour les bêta-lactamases à spectre étendu, les Céphalosporinase plasmidique et les Carbapénémases a été réalisé pour 10 souches à savoir : *Raoultella terrigena* (n= 03), *Enterobacter cloacae* (n= 02), *Raoultella ornithinolytica* (n= 01), *E. coli* (n= 01), *Klebsiella pneumonia* (n= 01), *Enterobacter aerogens* (n= 01) et *Serratia liquefaciens* (n= 01) (Tableau 12 et 13).

1. Caractérisation des gènes codant pour la production des BLSE

1.1. BLSE de type CTX-M

La caractérisation moléculaire de β -lactamases de type CTX-M par PCR a révélé que sur le totale de dix souches d'Entérobactéries productrices de BLSE analysés, 07 souches sont toutes porteuses du gène *bla*_{CTX-M} (Figure 48 ; Tableau 12 et 13). Ces souches provenaient des patients hospitalisés ont été réparties comme suit : 02 souches d'*Enterobacter cloacae*, 01 souche de *Raoultella terrigena*, 01 souche de *Raoultella ornithinolytica*, 01 souche d'*E. coli*, 01 souche d'*Enterobacter aerogens* et 01 souche de *Serratia liquefaciens*.

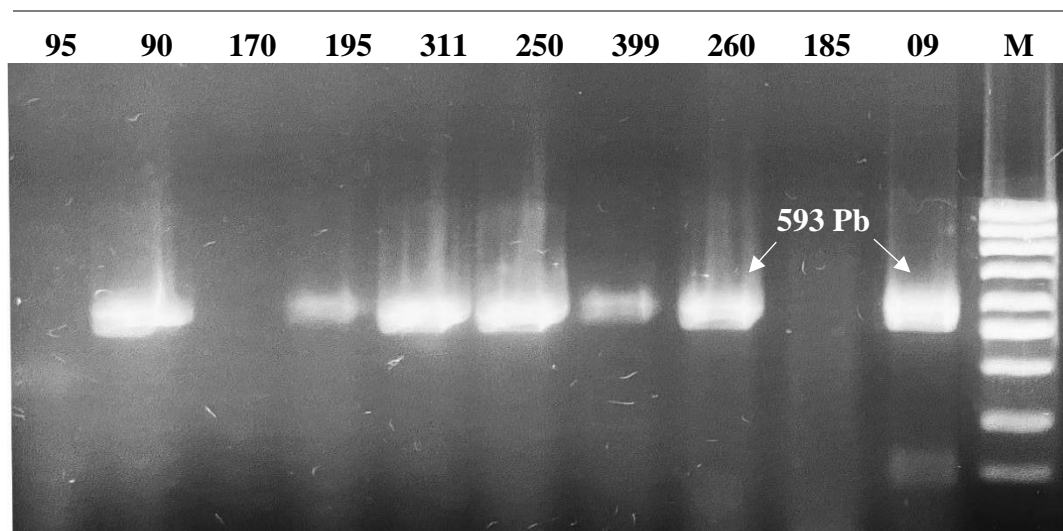


Figure 48 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla*_{CTX-M}
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de bases

1.2. BLSE de type SHV

D'après les résultats de l'amplification du gène de résistance aux β -lactamines de type SHV, nous avons noté que 03 souches (01 souche d'*Enterobacter cloacae*, 01 souche de

Résultats

Raoultella ornitholytica et 01 souches d'*E.coli*) hébergeaient le gène *bla_{SHV}* (Figure 49 ; Tableau 12 et 13).

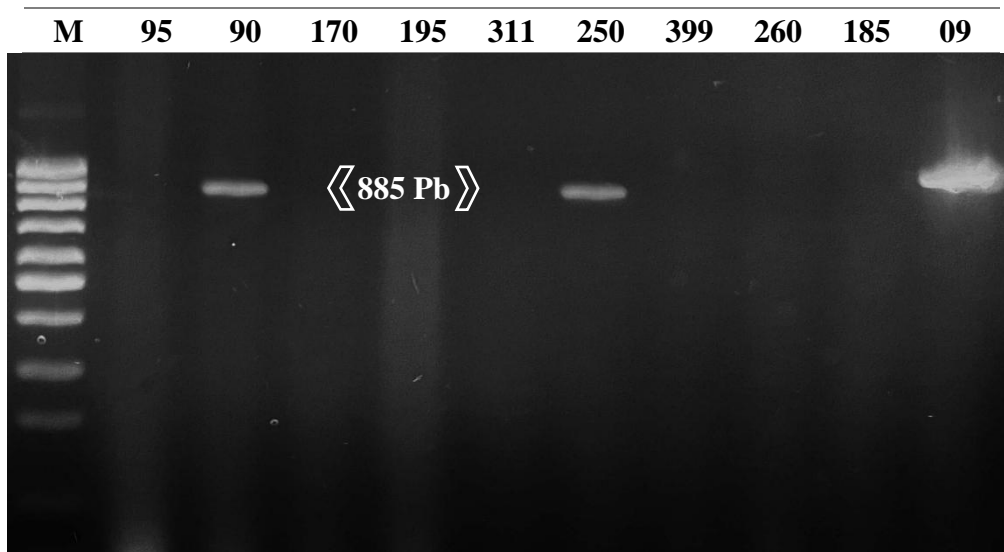


Figure 49 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla_{SHV}*
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de bases

1.3. BLSE de type TEM

La BLSE de type TEM a été observée seulement chez une souche d'*E. coli*, une souche d'*Enterobacter cloacae* et une souche de *Klebsiella pneumoniae* (Figure 50 ; Tableau 13).

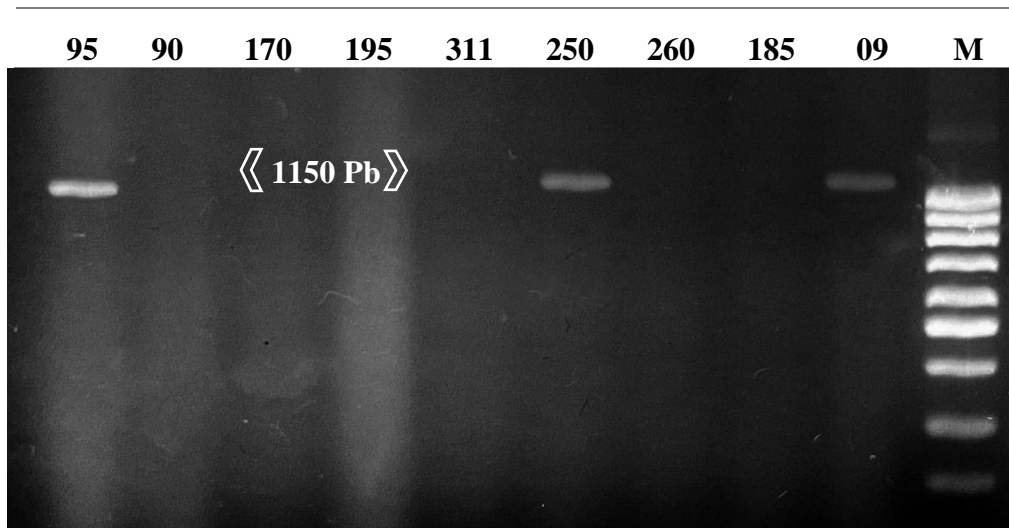


Figure 50 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla_{TEM}*.
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de base

Résultats

2. Caractérisation des gènes codant pour la production des Céphalosporinases plasmidiques AmpC

2.1. AmpC de type DHA-1

Le dépistage de gène codant la production des Céphalosporinases plasmidiques par PCR montre que, sur les 10 souches étudiées, la production de l'enzyme AmpC de type DHA a été observée seulement chez une seule souche d'*Enterobacter cloacae* (Figure N° 51 ; Tableau 13).

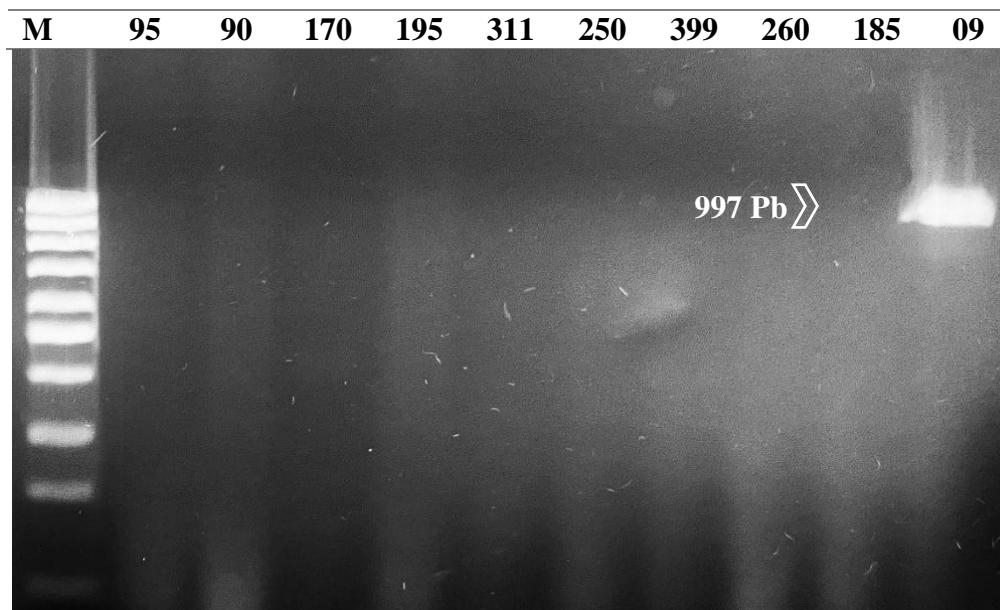


Figure 51 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla*_{AmpC} (DHA)
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de base

3. Caractérisation des gènes codant pour la production des Carbapénèmase

3.1. Carbapénèmase de type NDM

Les enzymes de type NDM étaient largement majoritaires des Carbapénèmases produites par les souches de notre panel. Les espèces productrices de l'enzyme NDM étaient réparties par ordre de fréquence comme suit : une souche de *Raoultella terrigena*, une souche de *Klebsiella pneumonia*, une souche de *Raoultella ornithinolytica*, une souche d'*Enterobacter cloacae* et une souche d'*Enterobacter aerogens* (Figure 52 ; Tableau 12 et 13).

Résultats

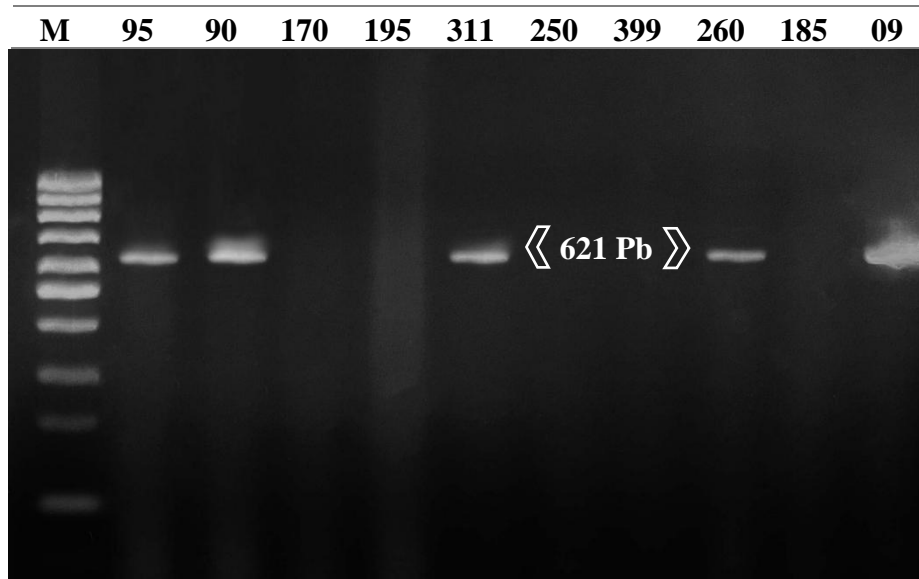


Figure 52 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla_{NDM}*
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de base

3.2. Carbapénèmase de type VIM

En ce qui concerne la détection des Carbapénèmase de type VIM dans notre travail, nous avons noté que trois souches appartiennent à l'espèce *E.coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Raoultella terrigena* ont été détectées positives pour le gène *bla_{VIM}* (Figure 53 ; Tableau 12 et 13).

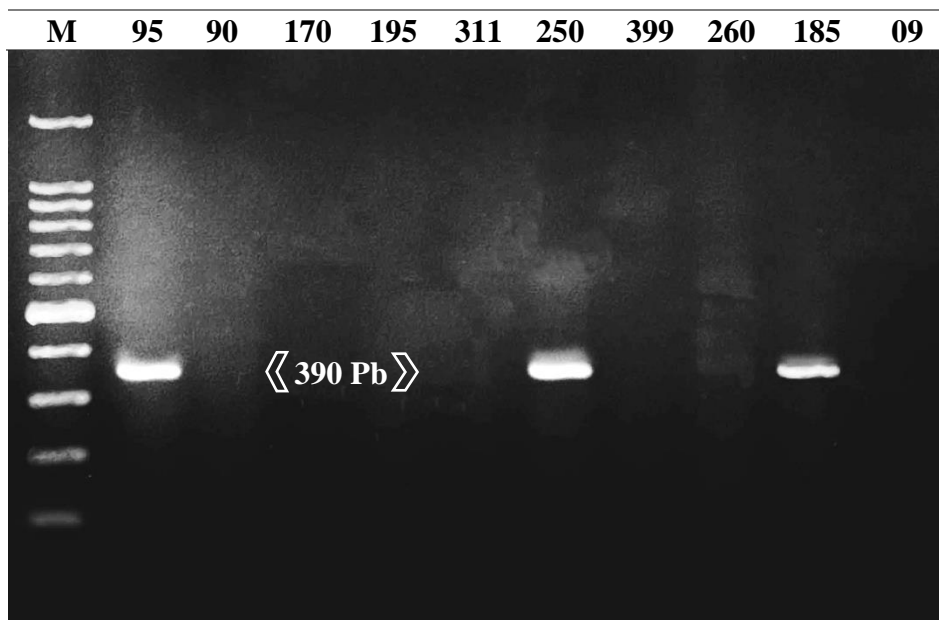


Figure 53 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla_{VIM}*
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de base

Résultats

3.3. Carbapénèmase de type OXA-48

Les Carbapénèmases de type OXA-48 sont peu fréquentes, elles ont été retrouvées essentiellement chez deux souches : une souche d'*Escherichia coli* et une souche *Raoultella terrigena* (Figure 54 ; Tableau 12 et 13).

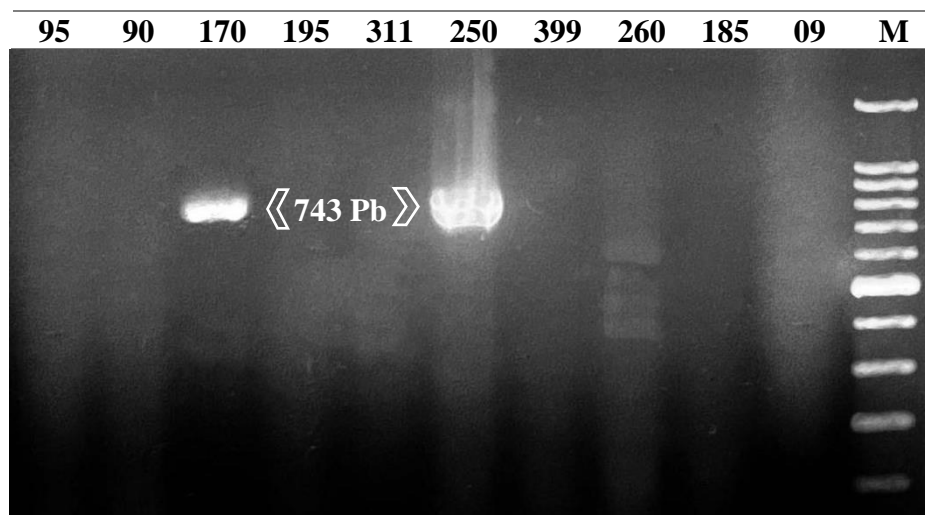


Figure 54 : Profil électrophorétique des amplicons du gène *bla*_{OXA-48}
M : marqueur de poids moléculaire (DNA Ladder 100 Pb, Promega), pb : paire de base

4. Co-expression des gènes de résistance aux β -lactamines

L'analyse des résultats de la caractérisation des gènes *bla* (TEM, SHV, CTX-M, OXA-48, VIM et NDM) et de *bla* plasmidique AmpC (DHA) par PCR montre que, pour les 10 souches analysées, les 07 gènes *bla* recherchés ont été détectés 24 fois, ce qui indique la coproduction de plusieurs types d'enzyme au sein d'une même souche :

Parmi les 04 souches de *Raoultella* spp testées, une souche de *R. ornithinolytica* (S90) hébergeait conjointement les gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV} et *bla*_{NDM} (Figures 48,49 et 52), cette souche a été isolée chez un patient de 32 an hospitalisé au niveau du service de médecine interne (Tableau 11).

De plus, une souche de *R. terrigena* (S260) isolées à partir d'un enfant de 8 ans a été détectée comme une porteuse de gène *bla*_{CTX-M} en combinaison avec le gène *bla*_{NDM} (Figure 48 et 52 ; Tableau 11).

En revanche, aucune coproduction de gènes n'a été enregistrée dans les deux autres isolats de *Raoultella terrigena* (S170 et S185), Où les deux gènes *bla*_{OXA-48} et *bla*_{VIM} ont été détectés séparément dans les deux isolats.

Résultats

Tableau 11 : Profil de résistance aux antibiotiques et caractéristiques générales et moléculaires des souches de *Raoultella* spp. Utilisées pour la détermination des gènes codants pour les enzymes BLSE, CHN et CP.

Souches	<i>R. terrigena</i>			<i>R. ornithinolytica</i>
	S170	S185	S260	S90
Age de patient	33	34	8	32
Sexe de Patient	Homme	Femme	Homme	Homme
Service	Médecine interne	Chirurgie Interne	Pédiatrie	Médecine interne
Antibiotiques testés				
β-lactamines				
Amoxicilline	R	R	R	R
Amoxicilline- acide clavulanique	R	R	R	R
Aztreonam	I	R	R	R
Céfalexin	R	R	R	R
Céfepime	R	R	R	R
Céfixime	R	R	R	R
Céfotaxime	R	R	R	R
Céfoxitin	R	R	I	S
Céftazidime	R	R	R	I
Ertapénème	R	R	I	I
Imipénème	I	S	S	S
Piperacilline	R	R	R	R
Ticarcillin	R	R	R	R
Ticarcillin- acide clavulanique	R	R	R	R
Aminoglycosides				
Amikacin	R	S	S	S
Tobramycin	I	R	I	R
Gentamicin	I	S	R	R
Quinolones				
Ciprofloxacine	I	R	R	R
Ofloxacine	R	R	R	R
Autres				
Fosfomycine	R	S	R	S
Nitrofurantoïne	S	S	S	S
Triméthoprim-Sulfaméthoxazole	R	R	R	R
Gènes de résistance				
<i>bla</i> AmpC(DHA)	-	-	-	-
<i>bla</i> CTX-M-U	-	-	+	-
<i>bla</i> NDM.	-	-	+	+
<i>bla</i> OXA-48	+	-	-	-
<i>bla</i> TEM	-	-	-	-
<i>bla</i> SHV	-	-	-	+
<i>bla</i> VIM	-	+	-	+

Résultats

Concernant l'étude des gènes de résistance chez les souches d'*Enterobacter* spp, Les gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{NDM} et *bla*_{AmpC} (DHA) ont été exprimés simultanément chez une souche d'*Enterobacter cloacae* (S09) isolée d'une patiente de 46 ans souffrant d'insuffisance rénale (Figure 48, 49, 50, 51 et 52 ; Tableau 12). De même, les gènes *bla*_{CTX-M} et *bla*_{NDM} ont été exprimés chez une souche d'*Enterobacter aerogens* (S311) isolée chez une femme de 42 ans hospitalisée au niveau du service de médecine interne (Figure 48 et 52). Cependant, Aucune coproduction n'a été enregistrée chez le troisième isolat, qui a été déterminé comme une souche d'*Enterobacter cloacae* (S195) productrice de BLSE de types CTX-M.

Pour les autres Entérobactéries analysées dans la présente étude, La coexpression des gènes de BLSE et de Carbapénèmase sont représentés par les gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{VIM} et *bla*_{OXA-48} chez un isolat de l'espèce *E. coli* (S250) (Figure 48, 49, 50, 53 et 54). Cet isolat a montré une résistance extrême vis-à-vis a tous les antibiotiques testés et elle a été isolé chez une patiente provient du service de maternité (Tableau N° 12). Par ailleurs, une coproduction des gènes de résistance de type *bla*_{TEM}, *bla*_{NDM} et *bla*_{VIM} a été enregistré chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* (S95) (Figure 50, 52 et 53). Tandis que, la seule souche étudiée de l'espèce de *Serratia liquefaciens* ne produit qu'un seul type de gène de BLSE, qui est le *bla*_{CTX-M}.

Résultats

Tableau 12 : Profil de résistance aux antibiotiques et caractérisation des souches de *Enterobacter* spp, *E.coli*, *K. pneumoniae* et *Serratia liquefaciens* utilisées pour la détermination des gènes codants pour les enzymes BLSE, CHN et CP.

Souches	S09	S195	S311	S250	S95	S399
	<i>E. colacae</i>	<i>E.colacae</i>	<i>E.aerogen</i>	<i>E. coli</i>	<i>k. pneumoniae</i>	<i>S.liquefaciens</i>
Age de patient	46	25	42	44	35	55
Sexe de patient	Femme	Homme	Femme	femme	femme	Home
Service	Dialyse	Médecine intérieure	Médecine intérieure	maternité	Gynécologie	Maladies infectieuse
Antibiogramme						
β-lactamines						
Amoxicilline	R	R	R	R	R	R
Amoxicillin- clavulanate	R	S	R	R	R	R
Aztreonam	R	R	R	R	R	R
Céfalexin	R	R	R	R	R	R
Céfepime	R	R	R	R	R	R
Céfixime	R	R	R	R	R	R
Céfotaxime	R	R	R	R	R	R
Céfoxitin	R	R	R	R	R	I
Céftazidime	R	R	R	R	R	R
Ertapénème	R	R	R	R	R	R
Imipénème	R	S	R	R	R	I
Piperacillin	R	R	R	R	R	R
Ticarcillin	R	R	R	R	R	R
Ticarcillin- clavulanate	R	R	R	R	R	R
Aminoglycoside						
Amikacin	R	S	I	R	R	S
Tobramycin	R	R	R	R	R	R
Gentamicin	R	R	I	R	R	S
Quinolones						
Ciprofloxacin	R	R	R	R	R	R
Ofloxacin	R	S	R	R	R	S
Autres						
Fosfomycin	R	I	R	R	R	R
Nitrofurantoine	R	S	S	R	R	S
Cotromoxizole	R	R	S	R	R	R
Gènes de résistances						
blaAmpC(DHA)	+	-	-	-	-	-
blaVIM	-	-	-	+	+	-
blaNDM.	+	-	+	-	+	-
blaOXA-48	-	-	-	+	-	-
blaTEM	+	-	-	+	+	-
blaSHV	+	-	-	+	-	-
blaCTX-M	+	+	+	+	-	+

Résultats

III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatifs thérapeutique contre les Entérobactéries productrice de BLSE, de CHN et de CP

Pour rappel, l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des fractions phénoliques d'*Origanum majorana* L., de *Myrtus communis* L. et de *Salvia officinalis* L. a été évaluée sur 20 souches d'Entérobactéries, il s'agit de (*Citrobacter freundii* (n=2), *E. coli* (n=2), *Enterobacter cloacae* (n=2), *Kluyvera spp* (n=3), *Klebsiella pneumoniae* (n=2), *Pantoea ssp* (n=1), *Raoultella ornithinolytica* (n=2), *Raoultella terrigena* (n=2), *Serratia marcescens* (n=2) et *Serratia liquefaciens* (n=2)) et une souches de référence : *E. coli* ATCC 25922. Comme indiqué dans la figure 57, ces isolats ont montré des niveaux de résistance très élevées contre la majorité des antibiotiques testés dans notre étude. De plus, cinq isolats parmi eux étaient des pan-résistantes.

Concernant le mécanisme de résistance aux bêta-lactamine de ces isolats, les vingt souches étaient productrices de bêta-lactamase à spectre élargie (BLSE), de Céphalosporinase de haut niveau (CHN) et de Carbapénèmase (CP).

S	S	I	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	<i>C. freundii</i> (S282)
R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	S	R	S	<i>C. freundii</i> (S365)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>E. coli</i> (S250)
R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	<i>E. coli</i> (S34)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>E. cloacae</i> (S09)
R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R	S	<i>E. cloacae</i> (S14)
R	R	R	S	S	R	S	I	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	R	<i>Kluyvera spp</i> (S24)
R	R	R	R	R	S	S	I	S	R	R	R	S	S	S	I	I	R	R	S	S	<i>Kluyvera spp</i> (S121)
R	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	<i>Kluyvera spp</i> (S135)
R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	S	R	<i>K. pneumoniae</i> (S25)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>K. pneumoniae</i> (S95)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)
R	I	R	I	R	R	I	R	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	R	S	R	<i>R.ornithinolytica</i> (S23)
R	R	R	R	R	R	S	I	R	R	R	R	S	I	S	R	R	R	R	S	S	<i>R.ornithinolytica</i> (S90)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	I	R	R	I	I	R	I	S	R	<i>R. terrigena</i> (S170)
R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	S	I	S	R	I	R	R	S	R	<i>R. terrigena</i> (S260)
R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	I	R	S	S	R	S	R	S	R	<i>S. liquefaciens</i> (S399)
S	R	S	S	R	R	R	I	I	R	R	S	S	R	I	I	R	R	R	S	R	<i>S. liquefaciens</i> (S100)
R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	<i>S. marcescens</i> (S10)
R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	S	R	S	S	R	R	R	S	R	<i>S. marcescens</i> (S31)
AMX	PRU	TIC	TIC	AMC	CL	FOX	CAZ	CTX	CEM	FEP	ATM	IPM	ETP	AK	GN	TOB	OFX	CIP	NIT	FOS	COT

Figure 55 : Profil de résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactéries utilisées pour l'évaluation de l'effet antibactérienne des principes actifs de plantes médicinales.

Résultats

1. Effet des huiles essentielles des plantes aromatiques retenues sur les souches d'Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP

1.1. Les rendements en huiles essentielles et leurs caractères organoleptiques :

Les rendements en huile essentielle des trois espèces ainsi que leurs caractères organoleptiques sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Rendements et caractères organoleptiques des huiles essentielles d'*O. majorana*, de *M. cummunis* et de *S. officinalis*.

Plante	Partie utilisée	Propriétés organoleptiques			Teneur (%)
		Aspect	Couleur	Odeur	
<i>Origanum majorana</i> L.	Feuilles	Liquide et limpide	Incolore à jaune pâle	Odeur herbacée légèrement sucrées	3,4
<i>Myrtus communis</i> L.	Feuilles	Liquide et limpide	Jaune pâle à vert pâle	Odeur fraîche, boisée	1,4
<i>Salvia officinalis</i> L.	Feuilles	Liquide et limpide	Jaune pâle	Aromatique, acidulé, légèrement camphré	2,9

1.2. Compositions chimiques des huiles essentielles extraites

La caractérisation des huiles essentielles a été réalisée par GC/MS. Les pics du chromatogramme des huiles essentielles analysés sont comparés à ceux des composés des références présents dans une bibliothèque de spectre avec une banque de données informatisées, l'appareil GC/MS nous a donné les différents chromatogrammes de masse et les indices de rétention des substances comparables qui peuvent constituer ces extraits.

Les profils de composants avec les pourcentages et les temps de rétention pour chaque composant des trois huiles sont présentés dans les tableaux 14, 15 et 16, et illustrés par les chromatogrammes (voir Annexe N°8).

Résultats

✓ *Origanum majorana* L.

L'analyse de la composition chimique de l'huile essentielle des feuilles d'Origan a révélé la présence de 41 composants, représentant 98,53% de la composition de l'huile avec prédominance du Terpinen-4-ol (34,17%), δ -Terpinene (11,52%), L-alpha-Terpineol(8,74%) et α -Terpinene (6,96%). Les alcools monoterpénique étaient le groupe chimique prédominant (48,59%) suivi par les monoterpènes hydrocarbonés (29,29%) et les sesquiterpènes (6,86%), tandis que les monoterpènes oxygénés (2,99%), les Phénylpropènes (1,65%) et les alcools (1,64%) étaient présents en faibles quantités (Tableau 14).

Tableau 14 : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles d'*Origanum majorana* L.

N°	Temps de rétention	Composant	Formule moléculaire	Indice de rétention	Pourcentage (%)
1	5,619	α -Thujene	C10H16	902	0,52
2	5,756	α -Pinene	C10H16	948	0,31
3	6,411	β -Sabinene	C10H16	964	3,15
4	6,491	Camphene	C10H16	968	0,33
5	6,644	β -Myrcene	C10H16	989	0,73
6	6,925	δ -Carene	C10H16	1008	0,21
7	7,138	α-Terpinene	C10H16	1016	6,96
8	7,263	p-Cymenon	C10H14	1025	2,83
9	7,362	β -Phellandrene	C10H16	1026	2,62
10	7,854	δ-Terpinene	C10H18O	1174	11,52
11	7,987	cis-Sabinene hydrate	C10H18O	1065	0,40
12	8,345	α -Terpinolene	C10H16	1086	3,15
13	8,472	Linalool	C10H18O	1092	2,53
14	8,515	trans-Sabinene hydrate	C10H18O	1098	0,83
15	8,909	p-Menth-2-en-1-ol	C10H18O	1109	2,54
16	9,204	Limonene	C ₁₀ H ₁₆	1120	2,02
17	9,914	Terpinen-4-ol	C10H18O	1174	34,17
18	10,070	L-α-Terpineol	C10H18O	1189	8,74
19	10,140	Estragole	C10H12O	1195	1,55
20	10,300	1-Octen-3-ol	C ₈ H ₁₆ O	1230	1,64
21	10,505	Cis- Ocimen	C10H16	1245	0,11
22	10,819	Carvone	C10H14O	1248	0,14
23	10,868	Linalyl acetate	C12H20O2	1257	0,34
24	10,929	Bornyl acetate	C12H20O2	1284	1,45
25	11,269	(E)-Anethol	C10H12O	1289	0,10
26	11,411	Nerol acetate	C12H20O2	1293	0,07
27	11,522	Thymol	C10H14O	1300	0,75
28	11,742	4-Terpinenyl acetate	C12H20O2	1315	1,46
29	12,485	γ -Elemene	C15H24	1338	0,24

Résultats

30	13,165	Neryl acetate	C12H20O2	1352	0,10
31	14,232	α -humulene	C ₁₅ H ₂₄	1454	0,25
32	14,399	Caryophyllene	C15H24	1494	2,76
33	16,516	Bicyclogermacrene	C15H24	1499	1,42
34	18,545	Spathulenol	C15H24O	1536	1,03
35	18,700	Caryophyllene oxide	C15H24O	1567	0,32
36	18,892	Cubeban-11-ol	C15H26O	1588	0,24
37	19,492	Rosifoliol	C15H26O	1598	0,15
38	19,769	Isovalencenol	C15H24O	1750	0,25
39	23,425	2-Pentadecanone, 6,10,14-trimethyl	C18H36O	1754	0,21
40	23,980	Epicedrol	C30H50O	2955	0,23
41	24,249	Unknown	--	--	0,16
Pourcentage identifié					98,53
Monoterpènes					
Monoterpènes Hydrocarbonés					29,29
Monoterpènes oxygénés					2,99
Phénylpropènes					1,65
Esters monoterpéniques					0,34
Alcool					1,64
Sesquiterpènes					6,86
Autres					7,17

✓ *Myrtus communis* L.

Concernant l'analyse quantitative et qualitative de l'HE de *Myrtus communis* L. : 24 composés ont été identifiés représentant 99,11% de l'huile, dont 39,87% sont des monoterpènes hydrocarbonés, 27,66% sont des epoxydes, 5,18% sont des alcools terpéniques et 10,81% sont des monoterpènes oxygénés. Les principaux composants étant : le α -Pinene (38,38%), Eucalyptol (27,18%), et à moindre pourcentage, le α -Fenchyl alcohol, le α -Terpineol, le Geranyl acetate et Linaloyl acetate à (6,23%), (4,91%), (4,66%) et (3,41%) respectivement (Tableau 15).

Tableau 15 : Composition chimique des huiles essentielles de *Myrtus communis* L.

N°	Temps de rétention	Composant	Formule moléculaire	Indice de rétention	Pourcentage (%)
1	11,934	α-Pinene	C10H16	948	38,38
2	16,255	β -Cymene	C10H14	1042	0,96
3	16,409	α-Terpineol	C10H18O	1143	4,91
4	16,472	Eucalyptol	C10H18O	1059	27,18
5	18,964	Linalool	C10H18O	1082	1,27
6	19,118	Δ -3-Carene	C10H16	1125	0,53
7	20,104	Isopinocarveol	C10H16O	1131	0,67

Résultats

8	21,240	Terpinène-4-ol	C ₁₀ H ₁₈ O	1137	0,69
9	21,611	α-Fenchyl alcohol	C ₁₀ H ₁₈ O	1138	6,23
10	23,315	Grandlure II	C ₁₀ H ₁₈ O	1281	0,87
11	25,417	Geraniol	C ₁₀ H ₁₈ O	1349	0,47
12	25,589	α-Terpinyl propionate	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	1432	1,96
13	26,318	Geranyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1452	4,66
14	26,794	Linaloyl acetate	C ₁₂ H ₂₀ O ₂	1472	3,41
15	27,244	Cis-4-Thujanol	C ₁₀ H ₁₈ O	1477	0,49
16	28,035	Verbenol	C ₁₀ H ₁₆ O	1486	1,12
17	29,304	Myrtenyl acetate	C ₁₂ H ₁₈ O ₂	1501	1,61
18	29,778	β-Caryophyllene oxide	C ₁₅ H ₂₄ O	1507	0,44
19	30,655	α-Terpinyl isovalerate	C ₁₅ H ₂₆ O ₂	1567	1,04
20	31,165	Humulene epoxide	C ₁₅ H ₂₄ O	1572	0,48
21	31,270	Caryophylladienol II	C ₁₅ H ₂₄ O	1592	0,41
22	31,595	Bicyclogermacrene	C ₁₅ H ₂₄	1611	0,45
23	31,973	Spathulenol	C ₁₅ H ₂₄ O	1677	0,46
24	48,592	Humulenol-II	C ₁₅ H ₂₄ O	1762	0,42
Pourcentage identifié					99,11
Monoterpènes					
Monoterpènes Hydrocarbonés					39,87
Monoterpènes Oxygénés					10,81
Epoxydes					27,66
Alcool terpénique					15,18
Esters monoterpéniques					3,41
Sesquiterpènes					2,18

✓ *Salvia officinalis* L.

Concernant la composition chimique des HEs de *Salvia officinalis* L., 43 composants représentant 97.63% de la totalité de l'huile de Sauge ont été identifiées, dont les principaux sont : Camphor(18,34%), α-Thujone (14,57%), Eucalyptol(13,07%) et Ledol (10,45%), tandis que (4,86%), (3,81%) et (3,17%) sont représentés respectivement par β-Thujone, α-Pinene et Epimanol. Cela nous a permis de déduire la présence des classes chimiques majoritaires suivantes : Monoterpènes (oxygénés (36,87%) et Hydrocarbonés (28,51%), Sesquiterpènes (20,01%) et Diterpène (7,03%) (Tableau N°16).

Résultats

Tableau 16 : Composition chimique des huiles essentielles de *Salvia officinalis L.*

N°	Temps de rétention	Composant	Formule moléculaire	Indice de rétention	Pourcentage (%)
1	5,575	Tricyclene	C10H16	729	0,06
2	5,763	α-Pinene	C10H16	943	3,81
3	6,024	Camphene	C10H16	948	2,35
4	6,426	1-Octen-3-ol	C8H16O	969	0,14
5	6,494	β -Pinene	C10H16	979	0,39
6	6,648	β -Myrcene	C10H16	991	0,99
7	7,266	o-Cymene	C10H14	1022	1,14
8	7,352	Limonene	C10H16	1031	1,02
9	7,414	Eucalyptol	C10H18O	1039	13,07
10	8,350	p-Cymenene	C10H12	1073	0,13
11	8,491	α -Terpinene	C10H16	1089	0,21
12	8,661	β-Thujone	C10H16O	1105	4,86
13	8,863	α-Thujone	C10H16O	1122	14,57
14	8,984	trans-Sabinol	C10H16O	1139	0,17
15	9,130	CIS-Verbenol	C10H16O	1140	0,63
16	9,374	Camphor	C10H16O	1143	18,46
17	9,677	Borneol	C10H18O	1169	2,39
18	9,833	Terpinen-4-ol	C10H18O	1179	0,65
19	10,028	Dodecane	C10H18O	1200	0,33
20	10,030	L- α -Terpineol	C10H18O	1207	0,42
21	10,139	4-Hydroxy- β -thujone	C10H16O2	1213	0,86
22	10,451	cis-Carveol	C10H16O	1229	0,09
23	10,517	p-Mentha-1(7),8(10)-dien-9-ol	C12H18O2	1256	0,10
24	10,864	D-Carvone	C10H14O	1259	0,07
25	10,925	Geraniol	C10H18O	1276	0,09
26	11,534	Bornyl acetate	C12H20O2	1277	0,94
27	11,700	Thymol	C10H14O	1295	0,38
28	14,400	Caryophyllene	C15H24	1494	2,52
29	14,889	γ -Cadinene	C15H24	1526	0,26
30	15,291	α -Humulene	C15H24	1579	1,76
31	16,465	Viridiflorene	C15H24	1581	0,14
32	17,149	cis-Calamenene	C15H22	1587	0,15
33	17,970	δ -Neoclovene	C15H26	1593	0,19
34	18,549	α -Cadinol	C8H16O	1599	1,08
35	18,925	Ledol	C15H26O	1600	10,45
36	19,035	Spathulenol	C15H24O	1609	0,55
37	19,262	Humulene epoxide II	C15H24O	1608	1,20
38	19,710	β -Caryophyllene oxide	C15H24O	1613	2,98
39	19,780	famesol	C15H26O	1724	0,81
40	20,163	Manool	C20H34O	2055	2,50
41	20,400	Cembrene	C20H32	2072	1,36
42	29,659	Epimanool	C20H34O	2162	3,17
43	37,353	p-Cresol	C23H32O2	2788	0,19

Résultats

pourcentage d'identifié	97,63
Monoterpènes	
Monoterpènes Hydrocarbonés	28,51
Monoterpènes oxygénés	36,87
Alcools monoterpéniques	1,16
Diterpène	7,03
Alcool	0,14
Sesquiterpènes	20,01
Alcool sesquiterpénoïde	1,89
Autre	2,02

1.3. Etude du pouvoir antibactérien des huiles essentielles

1.3.1. Méthode de disque (Aromatogramme)

Les résultats du pouvoir antimicrobien des trois HEs par la méthode d'aromatogramme sont consignés dans le tableau 17 et la figure 56.

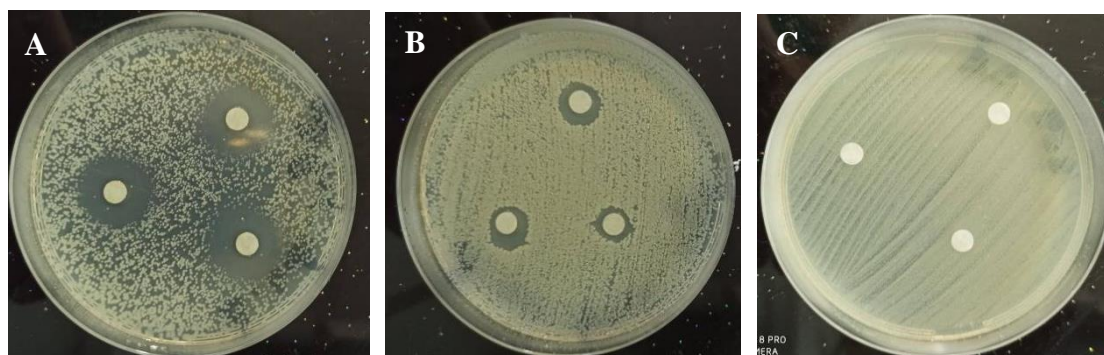


Figure 56 : Effet des huiles essentielles testées sur la souche *Citrobacter freundii* (S365)

A : *Origanum majorana* L. B : *Myrtus communis* L. C : *Salvia officinalis* L.

L'huile essentielle des feuilles d'*O. majorana* a montré une forte activité contre la majorité des espèces testées. En effet, cette huile a donné des zones d'inhibitions de 10 à 43 mm de diamètre pour toutes les souches testées à l'exception de la souche *Raoultella terrigena* (S260) qui a été résistante à l'HE de l'*Origanum* (Tableau 17).

Concernant l'effet inhibiteur de l'huile essentielle de *M. communis*, ce dernier présente des effets antibactériens intéressants principalement contre les souches *E.coli* (S250), *Kluyvera* spp (S24) et *K. pneumoniae* (S25). En revanche, cette huile s'est révélée inactive contre les souches *Pantoea ssp 1* (S11), *E. cloacae* (S09) et *S. marcescens* (S31) (Tableau N° 17).

Pour l'activité de l'huile de *S. officinalis*, nous remarquons (le tableau 17) que les souches : *E. cloacae* (S14), *S. marcescens* (S10), *S. liquefaciens* (S399), *K. pneumoniae* (S95) sont les souches les plus sensibles à l'effet de l'HE du myrte avec des diamètres d'inhibition dépassant

Résultats

les 21mm. Tandis que, des activités faibles voire moyennes sont remarquées contre d'autres souches comme : *E. cloacae* (S09), *E.coli* (S34), *C. freundii* (S282), *Kluyvera* spp (S24), *R. terrigena* (S170) et *Pantoea* ssp 1 (S11). Cependant, d'autres souches tels que la *C. freundii* (S365), l'*E.coli* (S250), la *R. ornithinolytica* (S90) et la *S. liquefaciens* (S100) étaient résistantes à l'action inhibitrice de cette huile.

Selon les moyennes des zones d'inhibitions des Entérobactéries testés on peut classer l'efficacité des HEs contre ces bactéries par ordre décroissant comme suit : *Origanum majorana* L. (17,67 mm), *Salvia officinalis* L. (15,41mm) et *Myrtus communis* L. (12,40mm).

Tableau 17 : Les diamètres des zones d'inhibition des différentes huiles essentielles testés (moyenne \pm écart type).

HEs Souches	<i>Origanum majorana</i> L.		<i>Myrtus communis</i> L.		<i>Salvia officinalis</i> L.	
	Moyenne en mm	Classe	Moyenne en mm	Classe	Moyenne en mm	Classe
<i>E. coli</i> ATCC 25922	40,00 \pm 5	+++	12,33 \pm 0,57	+	17,33 \pm 0,57	+++
<i>C. freundii</i> (S282)	26,33 \pm 1,15	+++	10,33 \pm 0,57	+	13,67 \pm 0,57	+
<i>C. freundii</i> (S365)	22,67 \pm 0,57	+++	13,33 \pm 0,57	+	6 \pm 0	-
<i>E.coli</i> (S250)	13,67 \pm 1,15	+	16 \pm 1	++	6 \pm 0	-
<i>E.coli</i> (S34)	12,00 \pm 1,73	+	13,67 \pm 0,57	+	13,33 \pm 1,52	+
<i>E. cloacae</i> (S09)	10,33 \pm 0,57	+	6 \pm 0	-	10,33 \pm 0,57	+
<i>E. cloacae</i> (S14)	14,67 \pm 2,51	++	14,33 \pm 0,57	+	33,67 \pm 0,57	+++
<i>Kluyvera</i> spp (S24)	43,33 \pm 2,88	+++	18 \pm 1	++	14,67 \pm 0,57	+++
<i>Kluyvera</i> spp (S121)	19,67 \pm 2,08	+++	14,67 \pm 0,57	++	13,33 \pm 0,57	+
<i>Kluyvera</i> spp (S135)	20,00 \pm 1	+++	15 \pm 0	++	15,33 \pm 0,57	++
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	28,33 \pm 1,15	+++	16,67 \pm 0,57	++	13,67 \pm 0,57	+
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	38,00 \pm 1	+++	15,67 \pm 0,57	+	21,33 \pm 0,57	+
<i>Pantoea</i> ssp 1 (S11)	14,33 \pm 0,57	+	6 \pm 0	-	16 \pm 1	+++
<i>R. ornithinolytica</i> (S23)	10,67 \pm 0,57	+	12,67 \pm 0,57	+	17 \pm 0	++
<i>R. ornithinolytica</i> (S90)	12,33 \pm 0,57	+	10 \pm 1	+	8 \pm 1,73	-
<i>R. terrigena</i> (S170)	11,33 \pm 1,52	+	12,67 \pm 1,15	+	15,33 \pm 0,57	++
<i>R. terrigena</i> (S260)	8,00 \pm 1,73	-	9,33 \pm 0,57	+	16,33 \pm 1,15	++
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	10,33 \pm 0,57	+	12 \pm 0	+	23,67 \pm 0,57	+++
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	12,67 \pm 0,57	+	13,33 \pm 0,57	+	6 \pm 0	-
<i>S. marcescens</i> (S10)	13,00 \pm 0	+	12 \pm 1,73	+	28,33 \pm 0,57	+++
<i>S. marcescens</i> (S31)	11,67 \pm 0,57	+	7,33 \pm 1,15	-	16 \pm 0	++

(-) non sensible, (+) sensible, (++) très sensible, (+++) Extrêmement sensible

Résultats

1.3.2. Concentration minimale inhibitrice et minimale bactéricide des HEs

Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) sont les paramètres qui quantifient respectivement le potentiel bactériostatique et bactéricide des composés bioactifs, et elles ont été déterminées pour les souches ayant une sensibilité importante contre les trois HEs testés.

Les résultats des CMI et des CMB enregistrés dans notre étude sont résumés dans le tableau N°18 et présentés dans la figure 57.

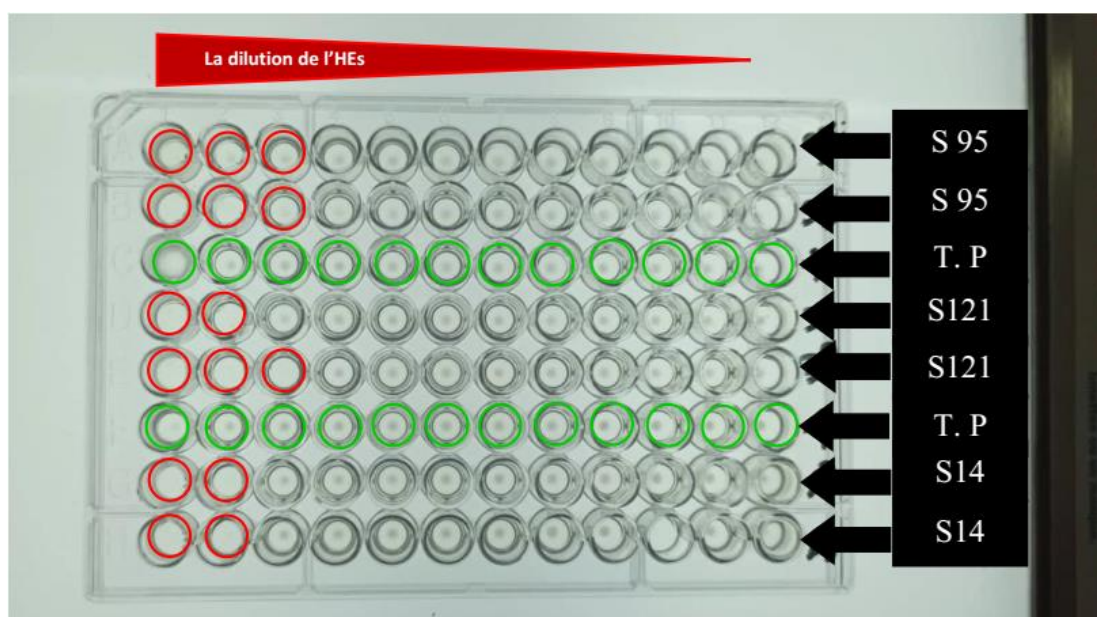


Figure 57 : Résultats de la détermination de CMI pour l'HE de *Myrtus communis* L. sur les trois souches S14, S95 et S121.

Comme le montre le tableau 17, les valeurs des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides obtenues pour l'huile essentielle de l'*O. majorana* étaient comprises entre 2,34 et 100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMI et entre 3,12 et >100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMB. Cependant, les valeurs obtenues avec l'HE de *S. officinalis* se situent dans les plages de 3,12 à 100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMI et 6,25 à >100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMB, et celles obtenues avec l'HE de *M. communis*, étaient de 6,25 à 100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMI et 12,5 à >100 $\mu\text{l/ml}$ pour la CMB.

Ces résultats soutiennent l'étude de criblage des huiles essentielles effectué auparavant par la méthode de diffusion sur gélose. En effet, pour les trois huiles testées, les plus faibles valeurs de CMI et de CMB ont été enregistrées avec les souches qui ont montré les zones d'inhibitions les plus larges (les souches les plus sensibles).

Résultats

Concernant la nature de l'effet antimicrobien des huiles essentielles testées, notre étude a révélé que l'huile de *Myrtus communis* L. a montré un effet bactéricide nettement remarquable avec des rapports CMB/CMI de 1 à 2 contre toutes bactéries testées. Alors que, les autres huiles testées (*Origanum majorana* et *salvia officinalis*) ont montré des rapports CMB/CMI variés, allant de 1 à 4, ce qui signifie qu'elles présentent des effets bactéricides mais aussi bactériostatique contre les souches testés (tableau 18).

Tableau 18 : Concentrations minimales inhibitrices (CMI) et bactéricides (CMB) des huiles essentielles en µl/ml.

Huiles essentielles	<i>Origanum majorana</i> L.			<i>Myrtus communis</i> L.			<i>Salvia officinalis</i> L.		
	Concentration en µl/ml			Concentration en µl/ml			Concentration en µl/ml		
Espèces	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI	CMI	CMB	CMB/CMI
<i>E. coli</i> ATCC 25922	2,34	3,12	1,33	50	100	2	6,25	12,5	2
<i>C. freundii</i> (S282)	12,50	50	4	100	>100	>1	75	>100	>1,33
<i>C. freundii</i> (S365)	18,75	75	4	50	100	2	/	/	/
<i>E.coli</i> (S250)	50	100	2	18,75	25	1,33	/	/	/
<i>E.coli</i> (S34)	50	50	1	50	50	1	50	>100	>2
<i>E. cloacae</i> (S09)	100	>100	>1,33	/	/	/	100	>100	>1
<i>E. cloacae</i> (S14)	37,50	100	2,67	50	100	2	3,12	6,25	2
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	3,12	6,25	2	6,25	12,5	2	37,50	50	1,33
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	25	50	2	37,50	100	2,67	50	100	2
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	25	100	4	25	50	2	25	50	2
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	12,50	25	2	12,50	25	2	50	100	2
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	2,34	6,25	2,67	25	75	3	6,25	25	4
<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	75	>100	>1,33	/	/	/	25	50	2
<i>R. ornithinolytica</i> (S23)	100	>100	>1	75	100	1,33	12,50	31,25	2,5
<i>R. ornithinolytica</i> (S90)	100	>100	>1	100	>100	>1	/	/	/
<i>R. terrigena</i> (S170)	100	>100	>1	50	100	2	25	50	2
<i>R. terrigena</i> (S260)	/	/	/	100	>100	>1	12,50	50	4
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	75	>100	>1,33	100	>100	>1	6,25	12,5	2
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	50	100	2	50	100	2	/	/	/
<i>S. marcescens</i> (S10)	50	100	2	100	>100	>1	3,12	6,25	2
<i>S. marcescens</i> (S31)	75	>100	>1,33	/	/	/	25	50	2

/ : Non testé.

Résultats

2. Effet des extraits polyphénolique des plantes médicinales sur la croissance in vitro des souches d'Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP

2.1. Rendements des extraits et leurs caractéristiques organoleptiques :

Pour chaque échantillon, nous avons calculé le poids final des extraits récupérés après évaporation, les résultats obtenus sont présentés dans le tableau 19.

Tableau 19 : Rendements et caractères organoleptiques des extraits phénoliques obtenus

Plante	Solvant utilisé	Aspect	Couleur	Poids sec de départ (g)	Poids sec extrait (g)	Rendement en (%)
<i>Origanum majorana</i> L.	Acétate d'éthyle	Poudreux	Marron foncé	200	0,572	0,29
	Chloroforme	Pâteux/Visqueux	Vert impérial	200	1,98	0,99
	n-Butanol	Pâteux/Visqueux	Marron caramel	200	4,356	2,18
<i>Myrtus communis</i> L.	Acétate d'éthyle	Poudreux	Rouge brique	200	2,06	1,03
	Chloroforme	Pâteux/Visqueux	Vert de chrome (foncé)	200	1,332	0,67
	n-Butanol	Poudreux	Marron claire	200	10,5	5,25
<i>Salvia officinalis</i> L.	Acétate d'éthyle	Poudreux	Marron foncé	200	1,148	0,57
	Chloroforme	Poudreux	Mordoré	200	5,736	2,87
	n-Butanol	Pâteux/Visqueux	Marron claire	200	6,563	3,28

Selon le Tableau 19, les extraits obtenus ayant des couleurs et des aspects différents selon la plante étudiée et le solvant utilisé pour l'extraction. Les résultats obtenus montrent que parmi les différentes fractions de l'extrait brut, les extraits de n-butanol (BuOH) représentent les rendements les plus élevés avec des pourcentages de 5,25%, 3,28% et 2,18 respectivement pour les trois plantes *M. communis*, *S. officinalis* et *O. majorana*, par rapport au poids total de chaque plante. Alors que, l'extrait de chloroforme représente un rendement plus élevé que celle obtenu par l'Acétate d'éthyle pour les deux plantes *S. officinalis* et *O. majorana* contrairement à ce qui est rapporté pour les extraits de plante de *M. communis*, où l'extrait obtenu par l'acétate d'éthyle représente le rendement le plus élevé que l'extrait obtenu par l'acétate d'éthyle.

Résultats

2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux des différentes fractions a été réalisé par la méthode de Follin-ciocalteu. Une coloration bleue est obtenue et cette coloration varie en fonction de la concentration de l'extrait de la plante en composé phénolique (Blainski *et al.*, 2013).

L'acide gallique a été utilisé comme standard et la teneur en polyphénols totaux est exprimée en milligramme d'équivalents d'acide gallique par gramme d'extrait (mg E.AG/g d'extrait). Les résultats du dosage des phénols totaux des différentes fractions des feuilles d'*Origanum majorana* L. de *Myrtus communis* L. et de *Salvia officinalis* L. sont représentés dans la figure 58 et les gammes d'étalonnage dans l'Annexe N° 09.

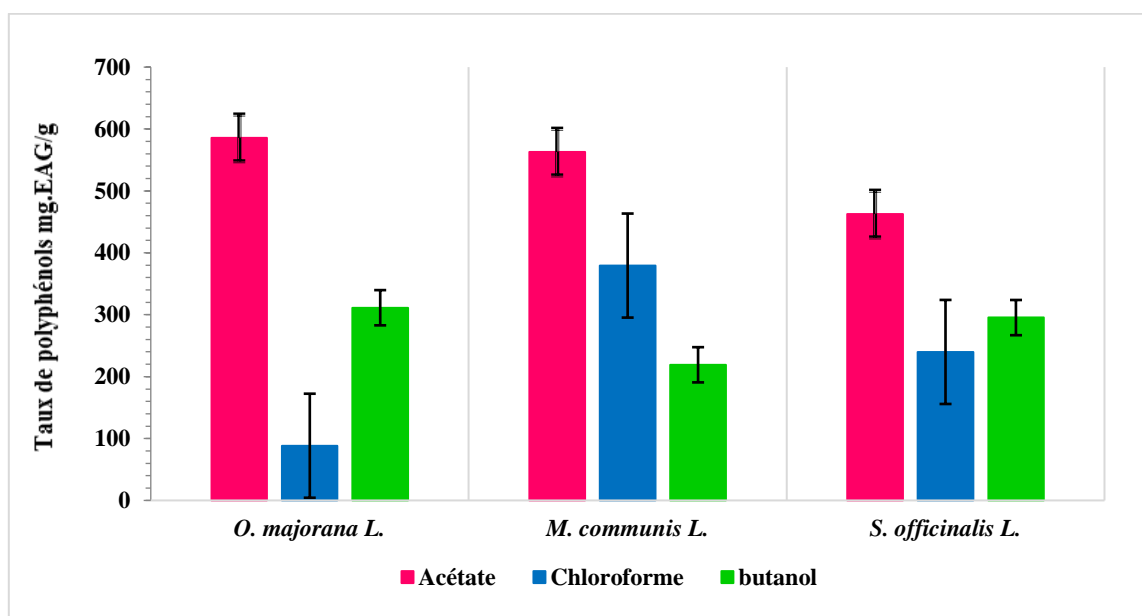


Figure 58 : Teneurs en phénols totaux des différents extraits des feuilles de *O. majorana* L., *M. communis* L. et de *S. officinalis* L. (Toutes les valeurs sont exprimées par moyenne de trois essais (n=3) \pm l'écartype).

D'après les résultats obtenus (figure 58), nous avons constaté que pour les trois plantes testées les polyphénols sont présents dans toutes les fractions avec des teneurs variables d'une fraction à une autre et qu'il paraît clairement que c'est la fraction d'acétate d'éthyle qui a donné les teneurs les plus élevés en polyphénols totaux pour les trois espèces : *O. majorana*, *M. communis* et *S. officinalis*. ($585,765 \pm 0,79$ mg EAG/g ; $562,91 \pm 1,17$ mg EAG/g et $462,77 \pm 2,77$ mg EAG /g) respectivement. Les teneurs en polyphénols dans les fractions de butanol ont été légèrement plus bas que celles enregistrées avec les extraits d'acétate d'éthyle, où des teneurs de $311,32 \pm 1,12$ mg EAG /g, de $295,37 \pm 0,13$ mg EAG /g et de $219,12 \pm 1,52$

Résultats

mg EAG /g ont été rapportés respectivement pour les fractions butanolique de l'espèce *O. majorana*, *S. officinalis* et *M. communis*. En revanche, les fractions chloroformique ont donné des teneurs importantes en polyphénols totaux pour les deux espèces *M. communis* et *S. officinalis* qui sont de l'ordre de $379,41 \pm 0,04$ mg EAG /g et $239,85 \pm 1,21$ mg EAG /g respectivement, avec une teneur plus faible de $88,40 \pm 1,10$ mg EAG /g pour l'espèce d'*O. majorana*.

2.3. Tests d'activités antibactériennes

2.3.1. Méthode de diffusion des disques sur milieu gélose

L'activité antibactérienne des différents extraits des trois plantes contre les vingt-et-une souche testée dans notre étude sont qualitativement et quantitativement réparties par la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition. Les résultats de l'activité antibactérienne de ces extraits sont regroupés dans les Tableau 20, 21 et 22 et illustrés par les figures 59, 60 et 61.

A. Pouvoir antibactérienne des extraits d'*Origanum majorana* L.

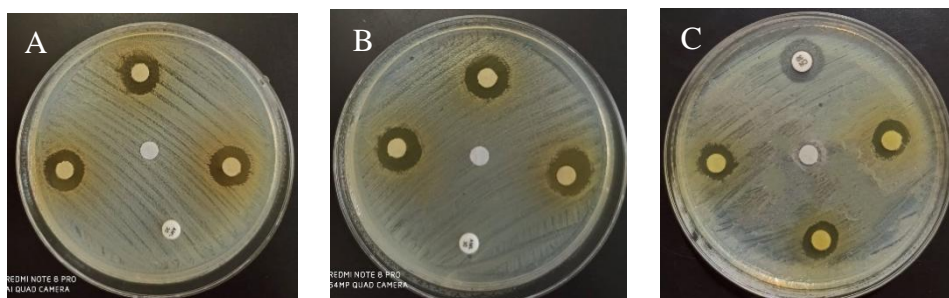


Figure 59 : Photographies des zones d'inhibition obtenues par les extraits d'*Origanum majorana* L. sur la souche *Kluyvera spp* (S24)
(A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.

Selon le tableau 20, les résultats des tests antibactériens montrent que tous les extraits de l'espèce *Origanum majorana* L. étudiées ont été actifs sur les bactéries testées.

L'extrait Chloroforme de feuilles de l'*Origanum* induit une inhibition remarquable de la croissance des souches de *Citrobacter freundii*, de *Kluyvera spp* et de *Serratia liquefaciens* ; l'extrait d'Acétate d'éthyle a une action plus marquée sur les souches d'*E. coli* et de *Raoultella ornithinolytica* que l'extrait de Chloroforme et de n-Butanol. Par ailleurs, ce dernier montre une activité antibactérienne très important contre l'espèce *Pantoea ssp* par rapport aux autres extraits étudiés.

Résultats

Tableau 20 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles d'*Origanum majorana* L. relatives aux différentes souches d'Entérobactéries testées.

Plante	<i>Origanum majorana</i> L.				
Fraction	Acétate	Chloroforme	N-butanol	Témoin négatif	Témoin positif
Espèces	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	13,00± 0	15,00± 0	11,00± 0	0	21
<i>C. freundii</i> (S282)	14,67± 3,21	18,00± 1	14,33± 0,58	0	18
<i>C. freundii</i> (S365)	15,00± 0	17,33± 0,58	10,33± 0,58	0	0
<i>E.coli</i> (S250)	18,33± 3,79	14,33± 1,53	8,00± 0	0	0
<i>E.coli</i> (S34)	17,00± 1	16,00± 1	16,67± 2,08	0	0
<i>E. cloacae</i> (S09)	14,33± 1,53	13,33± 0,58	12,67± 1,53	0	0
<i>E. cloacae</i> (S14)	15,67± 1,15	18,67± 1,53	14,67± 0,58	0	18
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	16,00± 2,65	17,00± 1,73	10,33± 1,53	0	20
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	13,33± 1,53	15,00± 0	6,33± 5,51	0	0
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	17,67± 2,31	17,67± 0,58	13,00± 0	0	11
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	15,00± 0	14,33± 1,15	14,67± 2,08	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	13,67± 1,53	14,67± 2,08	11,00± 1	0	0
<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	16,67± 0,58	14,00± 1	18,00± 1,73	0	0
<i>R. ornithinolytica</i> (S23)	16,67± 0,58	14,67± 1,53	10,33± 0,58	0	9
<i>R. ornithinolytica</i> (S90)	15,67± 2,89	13,00± 1,73	10,67± 1,15	0	0
<i>R. terrigena</i> (S170)	16,67± 1,15	15,00± 0	15,00± 0	0	0
<i>R. terrigena</i> (S260)	16,00± 0	15,33± 1,15	13,00± 1	0	0
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	17,33± 0,58	18,33± 0,58	15,67± 0,58	0	12
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	15,67± 0,58	16,33± 0,58	16,00± 0	0	0
<i>S. marcescens</i> (S10)	14,67± 2,31	15,33± 0,58	3,00± 5,20	0	0
<i>S. marcescens</i> (S31)	18,33± 1,15	17,67± 2,08	13,00± 1	0	0

Résultats

B. Pouvoir antibactérienne des extraits de *Myrtus communis* L.

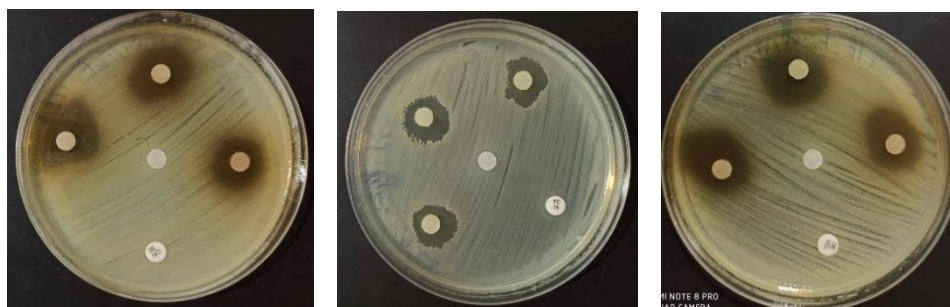


Figure 60 : Photographies des zones d'inhibition obtenues des extraits de *Myrtus communis* L sur la souche *E. cloacae* (S09)
(A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.

D'après les résultats de tableau 21, tous les extraits (Acétate, Chloroforme et n-Butanol) de feuilles de *Myrtus* ont montré une bonne activité inhibitrice vis-à-vis de différentes espèces d'Entérobactéries testées avec des zones d'inhibition allant de $9,00 \pm 0$ à $20,00 \pm 1$ mm.

La meilleure zone d'inhibition enregistrée était de $20,00 \pm 1$ mm de diamètre. Elle a été obtenue avec l'extrait de n-Butanol avec la souche *E. cloacae* (S09), suivi par une zone d'inhibition $18,67 \pm 1,15$ mm obtenue par l'extrait de Chloroforme avec les souches *Enterobacter cloacae* (S14) et *Serratia marcescens* (S31). Cependant, la meilleure zone d'inhibition obtenue par l'extrait d'Acétate d'éthyle est celle de $17,67 \pm 0,58$ mm qui a été enregistré avec la souche *Serratia liquefaciens* (S399).

Tableau 21 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles de *Myrtus communis* L. relatives aux différentes souches d'entérobactéries testées

Plantes	<i>Myrtus communis</i> L.				
Fraction	Acétate	Chloroforme	N-butanol	Témoin négatif	Témoin positif
Espèces	Moyenne \pm écart type	Moyenne \pm écart type	Moyenne \pm écart type		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	$13,00 \pm 0$	$14,00 \pm 0$	$13,00 \pm 0$	0	21
<i>C. freundii</i> (S282)	$15,67 \pm 1,15$	$15,67 \pm 1,15$	$16,67 \pm 0,58$	0	18
<i>C. freundii</i> (S365)	$7,67 \pm 6,66$	$15,00 \pm 0$	$7,67 \pm 6,66$	0	0
<i>E. coli</i> (S250)	$3,00 \pm 5,20$	$16,00 \pm 1$	$10,33 \pm 1,53$	0	0
<i>E. coli</i> (S34)	$12,67 \pm 0,58$	$15,33 \pm 2,08$	$13,33 \pm 0,58$	0	0
<i>E. cloacae</i> (S09)	$14,00 \pm 1$	$16,00 \pm 1$	$20,00 \pm 1$	0	0
<i>E. cloacae</i> (S14)	$13,67 \pm 2,08$	$18,67 \pm 1,15$	$14,00 \pm 1$	0	18

Résultats

<i>Kluyvera spp</i> (S24)	13,67± 1,53	16,00± 3	9,00± 0	0	20
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	3,00± 5,20	17,00± 0	9,67± 0,58	0	0
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	12,00± 0	17,33± 0,58	11,33± 0,58	0	11
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	11,67± 0,58	13,67± 2,08	10,67± 0,58	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	11,33± 0,58	15,00± 0	9,00± 0	0	0
<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	14,67± 0,58	17,33± 1,53	13,33± 0,58	0	0
<i>R. ornithinolytica</i> (S23)	17,33± 2,31	17,33± 0,58	17,00± 0	0	9
<i>R. ornithinolytica</i> (S90)	6,00± 0	4,00± 6,93	6,00± 5,20	0	0
<i>R. terrigena</i> (S170)	13,00± 1	15,33± 0,58	11,67± 0,58	0	0
<i>R. terrigena</i> (S260)	13,33± 0,58	15,67± 0,58	12,67± 1,15	0	0
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	15,33± 1,15	17,67± 0,58	13,00± 0	0	12
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	17,67± 0,58	17,00± 0	12,67± 0,58	0	0
<i>S. marcescens</i> (S10)	10,33± 0,58	16,33± 0,58	9,00± 0	0	0
<i>S. marcescens</i> (S31)	11,67± 1,15	18,67± 0,58	7,33± 6,35	0	0

C. Pouvoir antibactérienne des extraits de *Salvia officinalis* L.



Figure 61 : Photographies des zones d'inhibition obtenues par les extraits de *Salvia officinalis* L. sur la souche *S. liquefaciens* (S399)

(A) Acétate d'éthyle, (B) Chloroforme et (C) n-Butanol.

Concernant les résultats de l'activité antibactérienne des extraits de l'espèce *Salvia officinalis* L., l'effet de l'extrait de n-Butanol est faible et moins efficace que celui des extraits de Chloroforme et d'Acétate d'éthyle.

Selon les résultats présentés dans le tableau 22, il apparaît nettement que les deux fractions de Chloroforme et d'Acétate d'éthyle montrent un effet inhibiteur significatif sur la croissance des bactéries testés avec des zones d'inhibition allant de 15,33± 1,53 à 20,33± 1,53mm et de 14,00± 0 à 20,00± 0mm respectivement. Cependant, l'effet inhibiteur de l'extrait de n-Butanol a été manifesté par des zone d'inhibition ne dépassent pas le 13,00± 1 mm de diamètre.

Résultats

Tableau 22 : Diamètres moyens de la zone d'inhibition (en mm) des différents extraits des feuilles de *Salvia officinalis* L. relatives aux différentes souches d'entérobactéries testées

Plantes	<i>Salvia officinalis</i> L.				
Fraction	Acétate	Chloroforme	N-butanol	Témoin négatif	Témoin positif
Espèces	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type	Moyenne ± écart type		
<i>E. coli</i> ATCC 25922	14,00± 0	19,67± 1,15	10,33± 0,58	0	21
<i>C. freundii</i> (S282)	20,00± 0	18,67± 1,53	12,33± 1,53	0	18
<i>C. freundii</i> (S365)	16,00± 0	18,00± 1,73	11,00± 0	0	0
<i>E.coli</i> (S250)	14,67± 0,58	15,00± 1,73	12,33± 0,58	0	0
<i>E.coli</i> (S34)	16,67± 1,15	19,00± 2	9,00± 0	0	0
<i>E. cloacae</i> (S09)	17,67± 1,53	19,00 ± 2,65	10,33± 0,58	0	0
<i>E. cloacae</i> (S14)	15,33± 0,58	18,33± 1,15	8,00± 6,08	0	18
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	14,00± 0	18,67± 2,31	12,00± 0	0	20
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	14,0± 0	18,67± 1,53	13,00± 1	0	0
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	16,67± 0,58	18,33± 1,53	12,00± 1,73	0	11
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	20,00± 1,73	19,67± 1,53	12,33± 1,15	0	0
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	15,00± 1	15,33± 10,97	11,00± 0	0	0
<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	18,00± 1	18,33± 0,58	12,67± 0,58	0	0
<i>R. ornithinolytica</i> (S23)	15,33± 0,58	18,00± 1	12,33± 1,15	0	9
<i>R. ornithinolytica</i> (S90)	15,67± 0,58	19,00± 1,73	13,00± 0	0	0
<i>R. terrigena</i> (S170)	18,00± 1	20,33± 1,53	9,67± 0,58	0	0
<i>R. terrigena</i> (S260)	15,67± 0,58	15,33± 1,53	11,00± 0	0	0
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	16,33± 0,58	19,00± 0	11,00± 0	0	12
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	14,33± 0,58	16,67± 3,06	10,00± 0,58	0	0
<i>S. marcescens</i> (S10)	18,33± 2,08	18,00± 1	11,00± 0	0	0
<i>S. marcescens</i> (S31)	19,67± 2,31	17,67± 2,08	12,00± 0	0	0

Résultats

2.3.2. Concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits testés

Les résultats de l'évaluation des CMI et des CMB résumés dans les Tableaux 23, 24 et 25 montrent que les valeurs de la concentration inhibitrice et bactéricide varient en fonction de deux paramètres : la souche testée et la nature de la fraction.

A. CMI et CMB de l'espèce végétale *Origanum majorana* L.

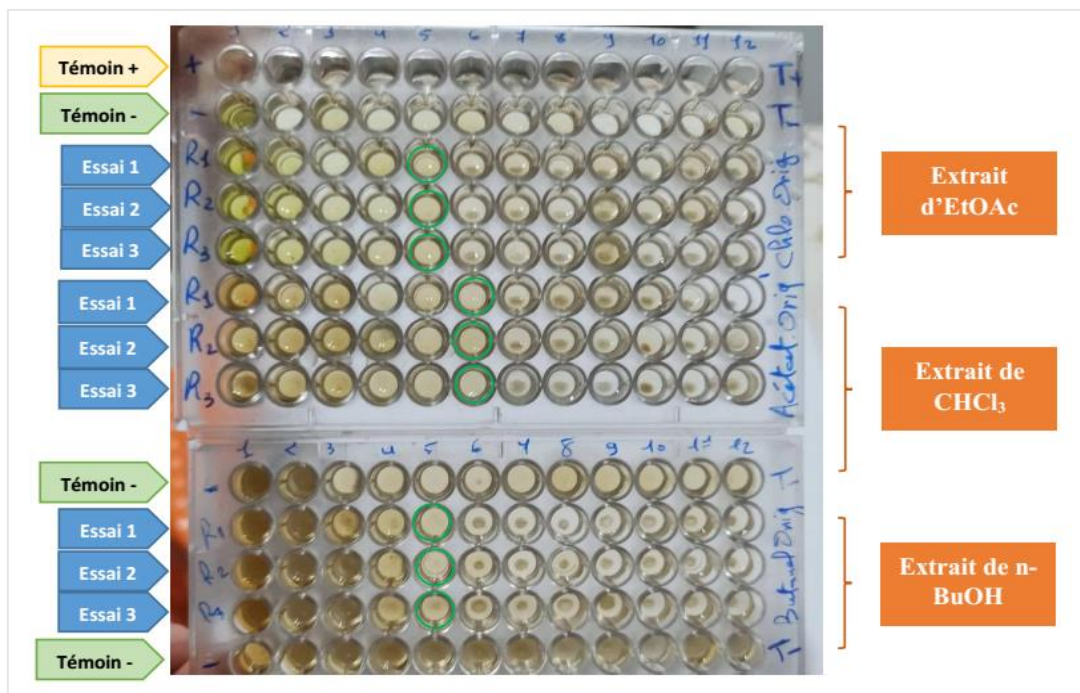


Figure 62 : Photographies des CMI obtenues avec les extraits d'*Origanum majorana* L. sur la souche *E. coli* (S34)

Comme le montre le tableau 23, les valeurs des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides des extraits de l'*O. majorana* ont été enregistrées dans une large gamme de concentration allant de 0,39 à 25 mg/ml pour les CMI et de 0,78 à >25 mg/ml pour les CMB. L'extrait le plus actif, avec les concentrations les plus faibles (CMI - CMB = 0,39 - 0,78 mg/ml), est celui de Chloroforme contre *Citrobacter freundii* (S282), *Enterobacter cloacae* (S14) et *Serratia liquefaciens* (S100). Par contre, l'extrait le moins actif, avec les concentrations les plus élevées (CMI - CMB = 25- >25 mg/ml), est celui de n-Butanol enregistré contre les deux souches de *Raoultella orinholityca* (S23) et (S90).

Résultats

Tableau 23 : Les CMI et les CMB (mg/ml) des fractions de l'espèce *Origanum majorana* L. vis-à-vis des souches d'Entérobactéries.

Plantes	<i>Origanum majorana</i> L.											
Extraits	Acétate				Chloroforme				N – butanol			
Espèces	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB/ CMI	Pouvoir
<i>E. coli</i> ATCC 25922	6,25	12,50	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	6,25	12,50	2	Bactéricide
<i>C. freundii</i> (S282)	6,25	12,50	2	Bactéricide	0,39	0,78	2	Bactéricide	5,21	10,42	2	Bactéricide
<i>C. freundii</i> (S365)	3,12	6,25	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide	20,83	25	1,2	Bactéricide
<i>E. coli</i> (S250)	1,56	1,56	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	/	/	/	Bactéricide
<i>E.coli</i> (S34)	0,78	1,56	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S09)	3,12	6,25	2	Bactéricide	12,5	20,83	1,67	Bactéricide	12,5	25	2	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S14)	2,08	3,12	1,49	Bactéricide	0,39	0,78	2	Bactéricide	6,25	10,42	1,67	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	3,12	6,25	2	Bactéricide	1,30	1,56	1,20	Bactéricide	12,5	25	2	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	6,25	12,50	2	Bactéricide	3,12	8,33	2,67	Bactériostatique	/	/	/	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	0,65	1,30	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide	12,5	25	2	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	1,56	2,60	1,65	Bactéricide	4,16	6,25	1,50	Bactéricide	6,25	12,5	2	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	6,25	12,50	2	Bactéricide	4,16	6,25	1,50	Bactéricide	16,67	25	1,5	Bactéricide

Résultats

<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	1,56	4,16	2,64	Bactério - statique	3,12	6,25	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide
<i>R.ornithinolytica</i> (S23)	0,78	3,12	4,0	Bactério - statique	3,12	5,21	1,67	Bactéricide	25	> 25	> 1	Bactéricide
<i>R.ornithinolytica</i> (S90)	1,56	3,12	1,97	Bactéricide	10,4	10,4	1	Bactéricide	25	> 25	> 1	Bactéricide
<i>R. terrigena</i> (S170)	1,56	3,12	1,97	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	6,25	12,5	2	Bactéricide
<i>R. terrigena</i> (S260)	1,56	3,12	1,97	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	12,5	25	2	Bactéricide
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	0,78	1,56	2	Bactéricide	0,39	0,78	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	2,60	5,21	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide
<i>S. marcescens</i> (S10)	2,60	6,25	2,40	Bactério - statique	5,21	12,5	2,4	Bactério - statique	/	/	/	Bactéricide
<i>S. marcescens</i> (S31)	1,56	3,12	1,97	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide	12,5	25	2	Bactéricide

/ : Non testé.

Bactéricide : rapport CMB/CMI \leq 02

Bactériostatique : rapport CMB/CMI > 02

Résultats

B. CMI et CMB de l'espèce végétale *Myrtus communis* L.



Figure 64 : Photographies des CMI obtenues par les extraits de *Myrtus communis* L. sur la souche *E. coli* (S34)

Nous rapportons dans le Tableau 24 les valeurs de concentration minimale inhibitrice et bactéricide, ainsi que, les rapports CMB/CMI des extraits de *M. communis*. Ces résultats indiquent que les trois extraits de Chloroforme, d'Acétate d'éthyle et de n-Butanol de cette plante inhibent à des degrés divers la croissance des bactéries testées.

L'extrait de chloroforme inhibe la croissance des Entérobactéries testés à des CMI entre 0,39 et 20,83 mg/ml, cependant, la concentration la plus faible a été enregistrée pour la souche d'*Enterobacter cloacae* (S14). En outre, la plus forte concentration inhibitrice est celle marquée pour la souche de *Klebsiella pneumoniae* (S95). D'autre part, des concentrations inhibitrices de 1,30 à 25 mg/ml ont été notées avec l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. communis*. La souche de *Raoultella ornithinolytica* (S23) était la souche la plus sensible à l'effet inhibiteur de cette fraction. Alors que, les souches de *Klebsiella pneumoniae* (S 25) et (S95) et les souches de *Serratia marcescens* (S10) et (S31) étaient les plus résistantes cet extrait. Concernant l'extrait de n-Butanol, ce dernier exerce une inhibition à des concentrations allant de 1,56 à 25 mg/ml contre les souches testées, la majorité des souches testées avec cet extrait ont été inhibées avec des concentrations plus élevée (25mg/ml), Alors que seuls trois échantillons ont montré une sensibilité élevée envers l'extrait n-Butanol avec des valeurs de CMI entre 1,56 et 3,12 mg/ml. Les CMB les plus remarquables, sont aussi ceux de L'extrait de chloroforme, suivi par ceux d'Acétate d'éthyle de n-Butanol.

Résultats

Tableau 24 : Les CMI et les CMB (mg/ml) des fractions de l'espèce *Myrtus communis* L. vis-à-vis les souches d'Entérobactéries testées.

Plantes	<i>Myrtus communis</i> L.											
Extraits	Acétate				Chloroforme				N – butanol			
Espèces	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB/ CMI	Pouvoir
<i>E. coli</i> ATCC 25922	12,50	25,00	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide	25,00	25,00	1	Bactéricide
<i>C. freundii</i> (S282)	3,12	6,25	2	Bactéricide	5,25	12,50	2	Bactéricide	/	/	/	/
<i>C. freundii</i> (S365)	/	/	/	/	6,25	12,50	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> (S250)	/	/	/	/	1,56	3,12	2	Bactéricide	25,00	25,00	1	Bactéricide
<i>E.coli</i> (S34)	20,83	25,00	1,2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	16,67	25,00	1,5	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S09)	4,16	6,25	1,5	Bactéricide	2,08	3,12	1,5	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S14)	12,50	25,00	2	Bactéricide	0,39	0,78	2	Bactéricide	12,50	12,50	1	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	12,50	25,00	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	/	/	/	/
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	/	/	/	/	0,78	1,56	2	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	16,67	25,00	1,5	Bactéricide	0,78	3,12	4	Bactério - statique	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	25,00	>25	>1	Bactéricide	20,83	25,00	1,2	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	25,00	>25	>1	Bactéricide	4,16	6,25	1,5	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide

Résultats

<i>Pantoea ssp 1 (S11)</i>	25,00	>25	>1	Bactéricide	0,78	0,78	1	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>R.ornithinolytica (S23)</i>	1,30	3,12	2,4	Bactériostatique	1,30	1,56	1,2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide
<i>R.ornithinolytica (S90)</i>	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<i>R. terrigena (S170)</i>	6,25	12,50	2	Bactéricide	6,25	12,50	2	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>R. terrigena (S260)</i>	6,25	12,50	2	Bactéricide	5,21	10,42	2	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>S. liquefaciens (S100)</i>	3,12	6,25	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide	25,00	>25	> 1	Bactéricide
<i>S. liquefaciens (S399)</i>	1,56	1,56	2	Bactéricide	1,04	1,56	1,5	Bactéricide	20,83	>25	> 1	Bactéricide
<i>S. marcescens (S10)</i>	25,00	>25	>1	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide	/	/	/	/
<i>S. marcescens (S31)</i>	25,00	>25	>1	Bactéricide	0,52	0,78	1,5	Bactéricide	/	/	/	/

/ : Non testé.

Bactéricide : rapport CMB/CMI \leq 02

Bactériostatique : rapport CMB/CMI > 0

Résultats

C. CMI et CMB de l'espèce végétale *Salvia officinalis* L.

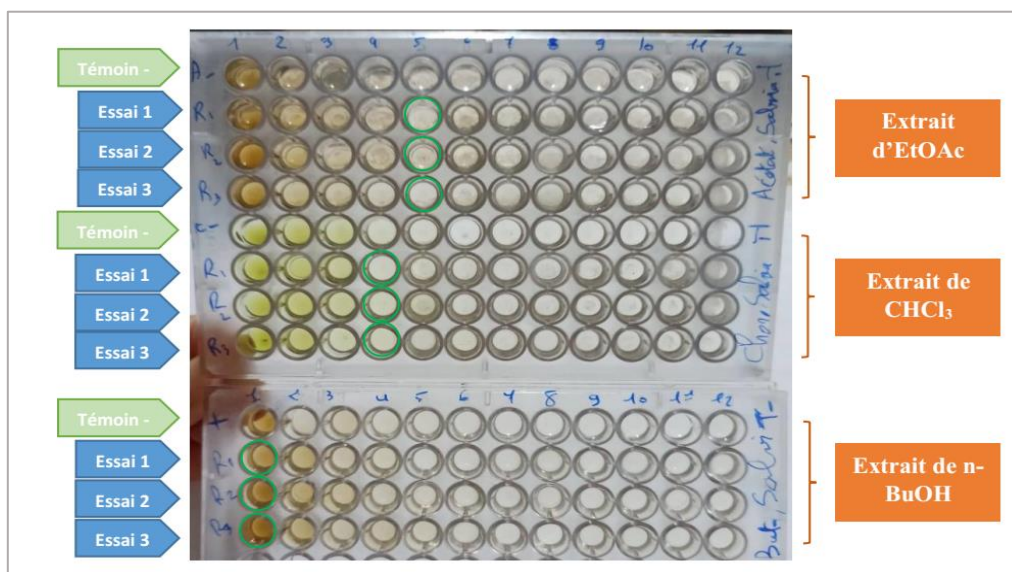


Figure 67 : Photographies des CMI obtenues par les extraits de *Salvia officinalis* L. sur la souche *E. coli* (S34)

Le tableau 25 regroupe tous les détails concernant les moyennes de concentration minimale inhibitrice et bactéricide des extraits phénoliques de la troisième plante testée dans notre étude (*Salvia officinalis* L.). Ces résultats montrent nettement les potentiels antibactériens de différents extraits testés sur toutes les souches bactériennes étudiées.

Les fractions d'Acétate d'éthyle et de Chloroforme ont démontré les effets antibactériens les plus importants contre les bactéries testées avec des concentrations minimales inhibitrices et bactéricides très variées. Ces concentrations allant de 0,39 à 10,42 mg/ml pour la CMI et de 0,78 à 12,5 mg/ml pour la CMB de l'extrait d'Acétate d'éthyle, et allant de 0,78 à 25 mg/ml pour la CMI et de 1,56 à > 25 mg/ml pour CMB de l'extrait de chloroforme. La *Citrobacter freundii* (S282) a été la souche la plus sensible à l'action inhibitrice de l'extrait d'acétate d'éthyle. Cependant, la plus forte sensibilité à l'extrait de chloroforme a été enregistré pas seulement pour la souche *Citrobacter freundii* (S282) mais aussi pour les deux souches souche *Citrobacter freundii* (S365) et *serratia liquefaciens* (S100). En revanche, l'extrait de n-Butanol de la plante *S. officinalis* a un faible effet inhibiteur vis-à-vis toutes les bactéries testées avec des CMI et des CMB supérieures à 10,42 mg/ml.

Résultats

Tableau 25 : Les CMI et les CMB (mg/ml) des fractions de l'espèce *Salvia officinalis* L. vis-à-vis des 21 souches testées et leur pouvoir bactériostatique ou bactéricide.

Plantes	<i>Salvia officinalis</i> L.											
Extraits	Acétate				Chloroforme				N - butanol			
Espèces	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB /CMI	Pouvoir	MOY CMI	MOY CMB	CMB/ CMI	Pouvoir
<i>E. coli</i> ATCC 25922	4,16	6,25	1,50	Bactéricide	6,25	12,50	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>C. freundii</i> (S282)	0,39	1,56	4,00	Bactériostatique	0,78	1,56	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>C. freundii</i> (S365)	6,25	12,50	2	Bactéricide	0,78	1,56	2	Bactéricide	16,67	25,00	1,5	Bactéricide
<i>E.coli</i> (S250)	6,25	12,50	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>E.coli</i> (S34)	1,56	3,12	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S09)	1,56	3,12	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>E. cloacae</i> (S14)	6,25	6,25	1	Bactéricide	1,30	1,56	1,20	Bactéricide	/	/	/	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S24)	10,42	10,42	1	Bactéricide	2,61	6,25	2,40	Bactériostatique	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S121)	6,25	12,50	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	10,42	20,83	2	Bactéricide
<i>Kluyvera spp</i> (S135)	3,12	6,25	2	Bactéricide	1,04	1,56	1,50	Bactéricide	10,42	12,50	2	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S25)	0,39	0,78	2	Bactéricide	6,25	12,50	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>K. pneumoniae</i> (S95)	6,25	12,50	2	Bactéricide	4,16	6,25	1,50	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide

Résultats

<i>Pantoea ssp 1</i> (S11)	0,78	3,12	4	Bactériostatique	12,50	12,50	1	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>R.ornithinolytica</i> (S23)	6,25	6,25	1	Bactéricide	6,25	12,50	2	Bactéricide	10,42	25,00	2,4	Bactériostatique
<i>R.ornithinolytica</i> (S90)	3,12	6,25	2	Bactéricide	10,42	10,42	1	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide
<i>R. terrigena</i> (S170)	1,56	3,12	2	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>R. terrigena</i> (S260)	6,25	10,42	1,67	Bactéricide	3,12	6,25	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>S. liquefaciens</i> (S100)	3,12	12,50	4,01	Bactériostatique	0,78	1,56	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>S. liquefaciens</i> (S399)	6,25	12,50	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>S. marcescens</i> (S10)	0,78	1,56	2	Bactéricide	5,21	6,25	1	Bactéricide	25,00	> 25	> 1	Bactéricide
<i>S. marcescens</i> (S31)	0,78	1,56	2	Bactéricide	1,56	3,12	2	Bactéricide	12,50	25,00	2	Bactéricide

/ : Non testé.

Bactéricide : rapport CMB/CMI \leq 02

Bactériostatique : rapport CMB/CMI $>$ 02

Résultats

Le rapport CMB/CMI des extraits des trois plantes testées dans notre étude étaient inférieurs ou égaux à 2 pour la majorité des souches étudiées, ce qui indique que l'action de ces extraits testés sur les diverses souches bactériennes étudiées est bactéricide, à l'exception de certains cas enregistrés où les extraits ont démontrés une activité bactériostatique contre certaines souches, telle que l'effet de l'extrait de chloroforme de l'*O. majorana* contre les souches *Kluyvera spp* (S24) et *Serratia marcescens* (S10) et l'effet de l'extrait d'acétate d'éthyle de *M. communis* et celui de l'extrait butanolique de *S. officinalis* contre la souche de *Raoultella ornithinolytica* (S23).

Discussion

Discussion générale

I. Caractérisation phénotypique des Entérobactéries productrice de BLSE, CHN et de CP

1. Profil épidémiologique des Entérobactéries responsables d'infections urinaires

Les infections urinaires occupent une place importante en pathologie néphrologique, et elles représentent l'une des principaux réservoirs des bactéries multi-résistantes, ce qui constitue un véritable problème de santé publique (Morris *et al.*, 2020). Le profil des bactéries uropathogènes est dominé par les Entérobactéries partout dans le monde. Ce constat est dû à la proximité anatomique du tube digestif terminal à l'appareil urogénital (Benhiba *et al.*, 2015).

Dans notre étude, le nombre total des prélèvements récolté est de 1267, dont 557 prélèvements étaient retenus comme positifs (BGN), et 400 isolats parmi eux étaient identifiés comme des Entérobactéries ce qui correspond à un pourcentage de 71,81%. Ce chiffre est inférieur à celui obtenu entre 2014 et 2018 au Sénégal et en 2022 au Morocco (Amady *et al.*, 2021 ; Nakhli *et al.*, 2022), et supérieur à celui obtenu en Algérie en 2013 (Benyagoub *et al.*, 2013) et en Burkina Faso en 2022 (Ouedraogo *et al.*, 2022) (Tableau 26).

Tableau 26 : Comparaison des pourcentages des Entérobactéries isolés des prélèvements urinaires avec d'autres études.

Lieux	Période	% des Entérobactéries	Référence
Tébessa-Algérie	2018-2022	71,81%	Nos résultats
Bechar-Algérie	2012	50%	Benyagoub <i>et al.</i> , 2013
Thiès-Sénégal	2014-2018	86%	Amady <i>et al.</i> , 2021
Marrakesh-Morocco	2022	80%	Nakhli <i>et al.</i> , 2022
Ouagadougou-Burkina Faso	2022	77.54%	Ouedraogo <i>et al.</i> , 2022

Généralement, la fréquence des Entérobactéries dans les infections de voie urinaire est assez importante et leur incidence varie d'un pays à un autre. Dans la présente étude, la prévalence des Entérobactéries uropathogène a varié en fonction des espèces. *E. coli* a été observé comme l'agent étiologique le plus courant de l'infection urinaire (38%), ceci est en accord avec les résultats obtenus dans une précédente étude indienne par (Niranjan et Malini,

Discussion générale

2014) ; mais assez différente de celles retrouvées dans d'autres études nationales et internationales publiés jusqu'alors, où des prévalences élevées ont été rapportées, soit 60% à Guelma-Algérie (**Bentroki et al., 2012**), et 60,24 % à Arabie Saoudite (**Alanazi et al., 2018**) (Tableau 27). En revanche, les deux espèces de *Klebsiella pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* ont occupées 9.75% du total des Entérobactéries isolés dans notre travail, cette prévalence correspond à peu près à celle retrouvée dans certaines études, en particulier celle faite au France par (**Chervet et al., 2018**) et en Arabie Saoudite (**Alanazi et al., 2018**) (Tableau 27). Tandis que, les fréquences d'isolement rapportés pour d'autres espèces à savoirs *Raoultella ornithinolytica*, *Raoultella terrigena*, *Kluyvera* spp, *Serratia liquefaciens*, *Serratia marcescens* et *Salmonella* spp était relativement élevés en comparaison à des fréquences trouvée dans de la littérature. En effet pour la plupart des auteurs ; (**Su et al., 2003** ; **Nakasone et al., 2015** ; **Alfreiijat, 2017** ; **Tayh et al., 2019** ; **Lekhniuk et al., 2021** ; **Gulcan et al., 2012**) ces espèces sont rarement rencontrées dans les infections des voies urinaires (Tableau 27).

Tableau 27 : Comparaison des ratios de distribution des Entérobactéries par espèce.

Lieux	Période	Espèces	%	Référence
Tébessa- (Algérie)	2018-2022	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i> <i>Enterobacter cloacae</i> <i>Raoultella ornithinolytica</i> <i>Raoultella terrigena</i> , <i>Kluyvera</i> spp <i>Serratia liquefaciens</i> <i>Serratia marcescens</i>	38% 9.75% 9.75% 6,25% 3 % 5,5 % 3,75% 2,75 %	/
India	2014	<i>Escherichia coli</i>	38.2%	Niranjan et Malini, 2014
Guelma- (Algeria)	2007 – 2011	<i>Escherichia coli</i>	60%	Bentroki et al., 2012
Riyadh-(Saudi)	2008	<i>Escherichia coli</i> <i>Enterobacter</i> spp <i>Klebsiella</i> spp	60,24 % 10.42% 10.42%	Alanazi et al., 2018
Paris-(France)	2014-2015	<i>Klebsiella</i> spp	8%	Chervet et al., 2018

Discussion générale

Taoyuan-(Taiwan)	1991-2002	<i>Serratia marcescens</i>	0.098‰ à 0.217‰	Su et al., 2003
	2014	<i>Kluyvera</i> spp	/	Alfreijat, 2017
O‘ahu-(Hawai)	2014	<i>Raoultella ornithinolytica</i>	/	Nakasone et al., 2015
Gaza-(Palestine)	2013	<i>Serratia liquefaciens</i>	2.4%	Tayh et al., 2019
Europe de l'Est	2021	<i>Raoultella terrigena</i>	/	Lekhniuk et al., 2021
Turquie	2012	<i>Salmonella</i> spp	/	Gulcan et al., 2012

Pendant l'étude, la plupart des souches d'Entérobactéries identifiées ont été isolées chez des patients hospitalisés au niveau des services médicaux différents, dont les plus importants étaient le service de médecine interne, de chirurgie interne, de gynécologie, et de maternité. Cependant, les Entérobactéries isolées à partir d'échantillons urinaires de patients externes constituaient environ 12 % du total des souches étudiés. Ces résultats sont confirmés par les données obtenus dans de nombreuses autres études, où ils ont été soulignés que l'infection des voies urinaires due aux Entérobactéries est l'une des pathologies les plus fréquentes que ce soit en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (**Chbouki et al., 2011 ; Sbiti et al., 2017**). Cette répartition inégale des bactéries dans les différentes unités sanitaires des hôpitaux peut être expliquée par le nombre de patients admis et l'activité du laboratoire dédié à ces unités, en plus des facteurs de risque que nous avons enregistrés au niveau de chaque unité médicale à savoir les conditions de santé des malades, la grossesse, le sexe de patients et l'utilisation de sondes urinaires.

Nos résultats montrent également que le sexe ratio homme/femme des patients inclus dans l'étude est égal à 0,75. On note alors une augmentation de la fréquence des IVU chez les femmes (57%) que chez les hommes (43%). Ce qui est cohérent avec les résultats obtenus dans nombreuses études, telle que l'étude réalisé par Rocha et al en Brésil 2009 (**Rocha et al., 2012**), celle réalisée par Lee et son équipe entre 2012 et 2014 en Korea (**Lee et al., 2016**), et celle

Discussion générale

effectuée par Ben Ayed et son équipe en Tunisie durant la période 2010-2017 (**Ben Ayed et al., 2019**) (Tableau 28).

Tableau 28 : Comparaison avec d'autres études de la prévalence des Entérobactéries uropathogènes selon le sexe des patients.

Lieux et Période	Sexe des patients			Référence
	Femme N (%)	Homme N (%)	Sexe ratio (H/F)	
Algérie 2018-2022	228 (57%)	172 (43%)	0,75	Nos résultats
Brésil 2009	8700 (88.8%)	1098 (11.2%)	0,12	Rocha et al., 2012
Korea 2012- 2014	1538 (68%)	724 (32%)	0,47	Lee et al., 2016
Tunis 2010-2017	510 (66,2%)	260 (33,8%)	0,50	Ben Ayed et al., 2019

Nos résultats peuvent s'expliquer par la présence de nombreux facteurs favorisant la colonisation bactérienne de système urinaire chez la femme beaucoup plus que chez l'homme. En effet, les différences anatomiques, telles que la distance plus courte entre l'anus et l'ouverture urétrale chez les femmes ou un urètre plus long chez les hommes, influencent la prévalence des infections urinaires chez l'homme, les niveaux d'hormones sexuelles également peuvent jouer un rôle dans la réponse à l'infection, cela s'explique par le fait que les hormones des glandes péri-urétrales n'ont pas d'activité antibactérienne (contrairement au liquide prostatique de l'homme) (**Scharff et al., 2019 ; Deltourbe et al., 2022**). Aussi, l'infection chez la femme est favorisée par l'osmolarité faible des urines en particulier durant la période de la grossesse (**Saighi et al., 2004**).

Outre le sexe du patient, l'âge est également l'un des facteurs de risque les plus importants dans les infections des voies urinaires. En effet, la prévalence des bactéries à l'origine de ces infections dont les *Entérobactériacea* est très variable entre les sexes pendant la vie. Dans notre étude, la tranche d'âge la plus touchée est celle des sujets âgés de 20 à 49 ans, avec une prédominance féminine, par contre la période de vie au cours de laquelle les mâles

Discussion générale

humains présentent un risque plus élevé d'infection urinaire que les femmes était la période d'âge avancé. Ceci concorde parfaitement avec les données bibliographiques récente, où elle a montré que à l'âge adulte, la prévalence de la bactériurie et d'infections urinaires est plus faible chez les hommes que chez les femmes et augmente avec l'âge chez les hommes ou pendant la grossesse chez les femmes (**Deltourbe et al., 2022**).

Aujourd'hui, l'augmentation de la résistance des Entérobactéries aux antibiotiques et surtout l'évolution des résistances aux Céphalosporines de 3^{ème} génération et aux fluoroquinolones est un phénomène réel. Ceci exposera à des difficultés de prise en charge thérapeutique et nécessite la mise en place des dispositions idoines (**Salah et al., 2021**). Dans la présente étude, les 400 souches d'Entérobactéries isolées ont été testées contre 22 agents antibactériens et les phénotypes de résistance de l'ensemble de ces bactéries ont été très diversifiés en fonction des classes d'antibiotiques utilisés. A l'exception des Carbapénèmes, le profil de résistance des Entérobactéries contre les antibiotiques de la famille de β -lactamines était remarquablement élevé notamment contre les Pénicillines (Amoxicilline, Ticarcilline et Pipéracilline) et les Céphalosporines (Céfalexine, Céftazidime, céfotaxime...). Comme le montre le tableau N° 29, des valeurs de résistance plus élevées ont été rapportées contre la plupart de ces antibiotiques dans une étude réalisé à l'hôpital général de Douala « Cameroun » par Ebongue et son équipe durant la période de 2005 à 2012 (**Ebongue et al., 2015**), ainsi que dans une étude réalisée à Addis Ababa « Ethiopia » par Beyene et son groupe au niveau de l'Institut éthiopien de santé publique (EPHI) entre l'année 2017 et 2018 (**Beyene et al., 2019**). Par ailleurs, le profil de résistance globale des Entérobactéries contre la combinaison β -lactame avec l'inhibiteur de β -lactamase (acide clavulanique) s'étend de 46,5% pour la Amoxicilline/Acide clavulanique et à 72,5% pour Tétracycline/Acide clavulanique. Cette résistance pouvant s'expliquer par le fait que l'association amoxicilline + acide clavulanique (Augmentin) est très utilisée dans les traitements des différents pathologies infectieuses au niveau nos établissements de santé. Des résultats très proches ont été retrouvés au Gabon pendant l'année 2018-2019 (AMC : 44%) et en Inde durant une période de deux ans allant de 2013 à 2015 (TTC : 76.3%) (**Mouanga et al., 2021 ; Govindaswamy et al., 2019**).

Discussion générale

Tableau 29 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis aux quelques antibiotiques de la famille des bêta-lactamine (Pénicillines et Céphalosporines).

Antibiotiques testés	Taux de résistance %		
	Nos résultats	Ebongue <i>et al.</i> , 2015	Beyene <i>et al.</i> , 2019
Amoxicilline (AMX)	89,25	93,5	100
Pipéracilline (PRL)	72,2	92,2	80,3
Ticarcilline (TIC)	77,25	89,2	
Amoxicilline Acide Clavulanique (AMC)	46,5	72,7	60,1
Céfoxitine (FOX)	36,75	79	
Ceftazidime (CAZ)	53,75	37,6	73,9
Cefotaxime (CTX)	34	37	73,9
Céfépime (FEP)	41,5		73,5

Ces résultats révèlent que la résistance aux bêta-lactamines, plus précisément aux aminopénicillines est très répandue même si elles ont été associées à des inhibiteurs de bêta-lactamases. Cette résistance acquise est dû à la pression de sélection liée à la consommation abusive de ces antibiotiques dans les pays en développement. Ceci justifie le fait que les Pénicillines ne sont plus recommandées pour le traitement probabiliste des infections urinaires (Farih *et al.*, 2021).

Dans notre travail nous avons remarqué aussi un taux de résistance intéressant à l'Ertapénème (24,5%), par rapport à la résistance à l'Imipénème (8%). En effet, la résistance des Entérobactéries à l'imipénème a été rarement rapportée en Algérie en particulier chez les souches isolées à partir des échantillons urinaires, mais l'utilisation extensive de Carbapénèmes a entraîné l'apparition d'une résistance à ces produits. Cette évolution est préoccupante car les Carbapénèmes sont souvent les dernières molécules actives de l'arsenal thérapeutique pour combattre les bactéries à Gram négatif multirésistantes y a compris les Entérobactéries (Osei Sekyere *et al.*, 2021). Le tableau 30 montre la comparaison des taux de résistance aux Carbapénèmes de nos souches par rapport aux taux de résistance rapportés dans plusieurs d'autres études nationales et internationales.

Discussion générale

Tableau 30 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis quelques antibiotiques de la classe de Carbapénèmes.

Antibiotique	Taux de résistance	Lieu et période	Référence
Imipénème (IPM)	8,5 %	Tébessa - Algérie (2018-2022)	Nos résultats
	00%	Ouagadougou-Burkina Faso (2014 – 2015)	Aouf <i>et al.</i>, 2018
	1,2%	Douala - Cameroun (2005 – 2012)	Ebongue <i>et al.</i>, 2015
	3,97%	Karabük – Turquie (2016 – 2020)	Colak <i>et al.</i>, 2021
	0.1%	Kuwait (2001 – 2012)	Xu <i>et al.</i>, 2015
	1,4%	Chine (2001 – 2012)	
	5.8%	Indonesie (2001 – 2012)	
	2.4%	Basrah, Iraq (2020 - 2021)	Jalil et Al Atbee, 2022
Ertapénème (ETP)	24,5%	Tébessa - Algérie (2018-2022)	Nos résultats
	1,7%	L’Ethiopie (2017-2018)	Beyene <i>et al.</i>, 2019
	6 %	L’Ethiopie (2019)	Tadesse <i>et al.</i>, 2022
	10 %	La Korie (2012 - 2013)	Lee <i>et al.</i>, 2015
	14.9%	Tainan - Taiwan (2007)	Yang <i>et al.</i>, 2012

Selon les données de la littérature, cette résistance des Entérobactéries aux molécules de Carbapénèmes s’explique essentiellement par deux mécanismes : le premier résulte d’un défaut de perméabilité membranaire par altération (diminution) qualitative ou quantitative des porines membranaires (voie de pénétration des Carbapénèmes dans la bactérie) associée à la production d’une Céphalosporinase chromosomique ou plasmidique ou une BLSE, le second mécanisme correspond l’expression de bêta-lactamases à forte activité hydrolytique vis-à-vis

Discussion générale

des Carbapénèmes (l'inactivation de ces antibiotiques par la production de Carbapénémases). (Nordmann et Carrer, 2010 ; Boutet-Dubois *et al.*, 2012 ; Boivin *et al.*, 2016)

L'analyse de profil de résistance de nos souches ont également montré que, la molécule la plus active parmi la famille des antibiotiques Aminoglycosides était l'Amikacine et le taux de résistance des souches contre ce dernier était de 11%. Ebongue et son groupe ont observés presque la même tendance en Cameroun (Ebongue *et al.*, 2015). Cependant, l'équipe de Suhartono en Indonésie a rapporté un pourcentage plus élevé de résistance des Entérobactéries uropathogènes à l'Amikacine contrairement aux résultats enregistrés dans d'autres études, comme celle menée par Camacho-Cruz à Colombia (Tableau 31) (Suhartono *et al.*, 2021 ; Camacho-Cruz *et al.*, 2021). Les autres antibiotiques d'Aminoglycosides testés dans notre étude étaient la Gentamicine et la Tobramicine avec des taux de résistance de 21% et 35,25% respectivement. Selon des études antérieures, la résistance des Entérobactéries aux aminosides est très variable. Par exemple, des taux de résistance élevés ont été constatés en Ouagadougou en 2017 (Kpoda *et al.*, 2017). En revanche, de faibles taux de résistance ont été récemment signalés en Maroc en 2022 (Nakhli *et al.*, 2022) (Tableau N° 31).

Tableau 31 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis des antibiotiques de la famille des Aminoglycosides.

Antibiotique	Taux de résistance	Lieu et période	Référence
Amikacine (AK)	11 %	Tébessa - Algérie (2018-2022)	Nos résultats
	12%	Douala - Cameroun (2005 – 2012)	Ebongue <i>et al.</i>, 2015
	29.38 %	Banda Aceh- Indonésie (2020)	Suhartono <i>et al.</i>, 2021
	0.8 %	Bogotá – Colombie (2012-2018)	Camacho-Cruz <i>et al.</i>, 2021
Gentamicine (GN/CN)	21%	Tébessa - Algérie (2018-2022)	Nos résultats
	54%	Ouagadougou- Burkina Faso (2014 – 2015)	Kpoda <i>et al.</i>, 2017)
	12%	Marrakech- Maroc	(Nakhli <i>et al.</i>, 2022)

Discussion générale

		(2014-2018)	
Tobramycine (TOB)	35,25%	Tébessa - Algérie (2018-2022)	Nos résultats
	58%	Ouagadougou- Burkina Faso (2014 – 2015)	Kpoda <i>et al.</i>, 2017)
	16%	Marrakech- Morocco (2014-2018)	(Nakhli <i>et al.</i>, 2022)

D'une autre part, l'utilisation abusive des fluoroquinolones en médecine humaine et vétérinaire a fait augmenter la résistance des Entérobactéries aux fluoroquinolones, notamment chez *E. coli* au cours de la dernière décennie (Tagajdid *et al.*, 2010). Dans notre travail, une progression du taux de résistance des Entérobactéries à la Ciprofloxacine et à l'Ofloxacine a été rapportée et les taux de résistance étaient respectivement de 38,25% et 43,75%. Ces résultats sont supérieurs à ceux de Joy et al menés durant l'année 2019, et ceux de Dakorah et al réalisé en 2020 (Joy *et al.*, 2021 ; Dakorah *et al.*, 2022). Cependant, plusieurs auteurs ont rapporté des taux de résistance plus élevés contre ces molécules, c'est le cas de l'étude réalisée par Barka et al en Algérie entre 2018 et 2019 (Barka *et al.*, 2021) (Tableau N°32). Cette résistance s'explique par le fait que ces molécules sont les plus prescrites dans le traitement des infections urinaires (Cowart *et al.*, 2019).

Tableau 32 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries vis-à-vis aux antibiotiques de la famille des fluoroquinolones.

Antibiotique	Taux de résistance	Lieu et période	Référence
Ciprofloxacine (CIP)	38,25%	Nos résultats	
	22%	Nigeria 2019	Joy <i>et al.</i>, 2021
	63.6%	Tlemcen-Algeria 2018 – 2019	Barka <i>et al.</i>, 2021
	19 %	Cape Coast-Ghana	Dakorah <i>et al.</i>, 2022
l'Ofloxacine (OFX)	43,75%	Nos résultats	
	22%	Nigeria 2019	Joy <i>et al.</i>, 2021
	23 %	Cape Coast-Ghana	Dakorah <i>et al.</i>, 2022
	63.6%	Tlemcen-Algérie 2018 – 2019	Barka <i>et al.</i>, 2021

Discussion générale

Concernant les autres antibiotiques, Nous avons observé un taux assez important de résistance au Cotrimoxazole avec 53,25% et au Fosfomycine 41,5%. Ces résultats sont nettement supérieurs à ceux qui ont été obtenus à Paris en 2015, où des taux de résistance de 26% et 1,6% ont été enregistrés respectivement contre la Cotrimoxazole et la Fosfomycine (**Duployez *et al.*, 2019**). Ces taux élevés pourraient être due à la grande disponibilité et à la prescription aveugle de ces antibiotiques dans notre région (utilisation de ces antibiotiques en association avec d'autres molécules).

En fin, la Nitrofurantoïne présentait la meilleure réactivité parmi les antibiotiques utilisés dans notre étude avec une sensibilité des souches testés de 92%, ce qui est en concordance avec les résultats publiés dans une étude réalisée par Sorlozano et al en Espagne, dans laquelle les taux de sensibilités des souches au Nitrofurantoïne étaient entre 93 % et 97% durant sept ans d'étude (**Sorlozano *et al.*, 2014**). Cette efficacité enregistrée pour la Nitrofurantoïne est confirmée par les données bibliographiques récentes qui ont souligné que, la Nitrofurantoïne est un antibiotique important indiqué pour le traitement des infections urinaires non compliquées car la résistance à cet molécule est lente et rare, ce qui en fait un médicament important pour le traitement des infections des voies urinaires due aux bactéries résistantes aux antibiotiques courants et de dernier recours tels que les Céphalosporines, les Fluoroquinolones, les Aminoglycosides et les Carbapénèmes (**Osei, 2018**). Mais, la résistance de haut niveau à la Nitrofurantoïne chez les uropathogènes extra-résistants et pan-résistants trouvée dans notre étude est exceptionnellement inquiétante car les options de traitement seront extrêmement limitées.

2. Profil épidémiologique des Entérobactéries multi-résistantes (EMR)

Selon notre analyse détaillée des résultats de l'antibiogramme, nous avons constaté que la prévalence des infections urinaires attribuables aux Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques (EMR) est assez élevée dans notre région, soit de 63,75 %. Des résultats semblables ont été rapportés dans certaines études comme celles menées par (**Mirzaei *et al.*, 2021**) effectuées en Iran et celles de (**Beyene *et al.*, 2019**) réalisés en Ethiopie, où les fréquences d'Entérobactéries multi-résistantes isolés des prélèvements urinaires ont été de 65% et 62% respectivement. Ces résultats sont très préoccupants, car les options chimio-thérapeutiques pour le traitement des infections causées par ces souches d'Entérobactéries actuellement en circulation sont limitées. Il est particulièrement inquiétant de constater qu'une grande partie de

Discussion générale

nos souches n'étaient pas seulement résistantes aux antibiotiques de première ligne tels que les Sulfamides (le triméthoprime Sulfamide est parmi les plus couramment utilisés les traitements des infections urinaires non compliquées (**Stefaniuk et al., 2016**)), les β -lactamines et le Chloramphénicol, mais beaucoup d'entre eux étaient également résistants à des médicaments de deuxième ligne tels que les Aminoglycosides et les antibiotiques à large spectre tels que la Fluoroquinolone (Ciprofloxacine).

Les EMR les plus fréquentes dans notre étude étaient *E.coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Serratia* spp et *Raoultella* spp. Cependant, l'analyse approfondie des profils de résistance de ces espèces a montré que l'émergence des isolats multi-résistante était plus évaluée chez *R. terrigena* (91%) et *R. ornithinolytica* (88%). Cette propagation a été l'une des résultats cliniques les plus importants dans notre étude, car aucune étude antérieure sur les Entérobactéries multi-résistantes (EMR) responsables d'infections urinaires n'a été témoin de telles valeurs en termes de propagation des souches multi-résistante au sein de ces espèces. Au contraire, l'émergence de la résistance multiple aux antibiotiques a été toujours évalué au sein des autres espèces à savoir *E. coli*, *Klebsiella* spp, *Enterobacter* spp, *Citrobacter* spp et *proteus* spp, comme mentionné dans les résultats des études de (**Tekele et al., 2021**) et de (**Ben Ayed et al., 2019**).

En plus des Entérobactéries multi-résistantes, l'analyse de profil de résistance aux antibiotiques des souches étudiées nous a permis de sélectionner une collection de dix souches Pan-résistante (Toto-résistante). Ces bactéries ont montré des profils de résistance à tous les agents de toutes les catégories des molécules antimicrobiennes testés (c'est-à-dire que ces isolats ne sont sensibles à aucun médicament cliniquement disponible). Ces résultats posent un problème majeur et mettent les cliniciens dans des situations d'impasses thérapeutiques difficiles à gérer en raison de la multirésistance de ces espèces bactériennes et le terrain sur lequel elles surviennent.

Le degré de recrudescence de ce type de bactérie (multi-résistante ou Pan-résistante) en milieu hospitalier est variable selon les services et les pays, en fonction des habitudes de prescription d'antibiotiques et des pratiques d'hygiène. Leur multi-résistance acquise hautement élevée aux différentes classes d'antibiotique peut être expliqué par la présence des plasmides de résistance possèdent de multiples gènes de résistance responsables d'une résistance croisée à de nombreux autres antibiotiques : béta-Lactamine, Aminoglycosides, Tétracyclines, Triméthoprime, Chloramphénicol et Sulfamides (**Zahar et al., 2009**).

Discussion générale

Cette multirésistance aux médicaments émerge maintenant à un rythme alarmant parmi une variété d'espèces. L'un des traits émergents les plus importants est la résistance aux β -lactamines à spectre étendu chez les espèces d'*Entérobacteriaceae* par une production des béta-lactamase à spectre étendu (BLSE). Ces enzymes hydrolysent de nombreuses β -lactamines différentes et peuvent provoquer une résistance aux oxyimino-Céphalosporines (Céfotaxime, Ceftazidime, Ceftriaxone, Céfuroxime, Céfépime) et aux monobactames (Aztréonam), mais pas aux Céphamycines (céfoxitine, céfotétan) et aux Carbapénèmes (Imipénème, Méropénème, Ertapénème, Doripénème) (Bergšpica *et al.*, 2020). Mais depuis quelques années, une augmentation significative des taux de résistance d'Entérobactéries à ces deux derniers a été enregistrée partout dans le monde grâce à la production d'enzymes de Céphalosporinase à haut niveau (CHN) et des Carpapénèmase (CP) par ces bactéries.

L'hyperproduction d'un Céphalosporinase (CHN) confère une résistance à au moins une C3G, à toutes les pénicillines seules ou en association avec des inhibiteurs ainsi qu'à toutes les Céphalosporines de deuxième génération (C2G) et aux Céphamycines (céfoxitine, céfotétan) et cette résistance est dû à l'expression des gènes d'AmpC plasmidiques ou chromosomiques (Robin *et al.*, 2012 ; Meini *et al.*, 2019).

Aussi, la résistance croissante aux Carbapénèmes (CP), qui sont le plus souvent la dernière ligne de traitement, est fréquemment observée chez les bactéries à Gram négative y a compris les Entérobactéries. Cela peut être lié soit à un mécanisme combiné associant une diminution de la perméabilité de la membrane externe avec une surexpression de β -lactamases ayant une activité Carpapénèmase très faible, ou de la présence de véritables Carpapénèmases (Gedefie *et al.*, 2021).

3. Profil épidémiologique des Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP

Au cours de la période d'étude, une forte proportion Entérobactéries multirésistantes productrices de BLSE, de CHN et de CP a été a révélé. La résistance aux Céphalosporines de troisième génération par la production d'une béta-lactamase à spectre élargie (BLSE) était le mécanisme de résistance la plus abondante. Les données phénotypiques générées dans notre étude ont démontré une prévalence considérablement significative de producteurs de BLSE, où $\approx 93\%$ des *Enterobacteriaceae* multirésistantes ont produit des BLSE. Comme le montre le Tableau 33, cette prévalence des E-BLSE uropathogène est en accord avec celle enregistrée dans une étude réalisée au Tanzanie (Silago *et al.*, 2021). Cependant, des prévalences variables

Discussion générale

ont été documentées en France (**Chervet *et al.*, 2015**), en Algérie (**Aouf *et al.*, 2018**), au Maroc (**Benaissa *et al.*, 2021**), en chine (**Liu *et al.*, 2022**) en Palestine (**Tayh *et al.*, 2019**), et en Belgique (**Huang *et al.*, 2010**). De plus, les tests complémentaires à l'antibiogramme ont également indiqué que la production de BLSE chez 39% de souches d'E-BLSE a été associée à une hyperproduction de Céphalosporinase (BLSE/AmpC). D'après le même tableau, cette prévalence reste proche à celle retrouvée dans certaines études, en particulier celle faite à l'hôpital de Laghouat, en Algérie entre 2010 et 2012 et celle faite au niveau de l'hôpital scolaire de l'ouest du Cameroun en 2015 (**Nouria *et al.*, 2014 ; Kwetche *et al.*, 2015**). En revanche, une prévalence plus élevée a été observée au France dans une étude menée à Paris par Grohs et son équipe (**Grohs *et al.*, 2014**). Cependant, des prévalences plus faibles ont été enregistrées dans certaines autres études nationales ou étrangères, à savoir celle réalisée au CHU-Annaba (Algérie) dans la période comprise entre 2013 et 2014 et celle réalisée à la Hollande entre 2013 et 2015 (**Bennouar, 2016 ; Van den Bunt *et al.*, 2016**).

Tableau 33 : Variation de prévalence des E-BLSE et des E-CHN uropathogènes en fonction de pays.

	%	Lieux et période	Références
Prévalence des E-BLSE	93%	Nos résultats	
	93%	Tanzanie (2021)	Silago <i>et al.</i>, 2021
	4%	France (2014-2015)	Chervet <i>et al.</i>, 2015
	7%	Algérie (2010-2013)	Aouf <i>et al.</i>, 2018
	13%	Maroc (2015-2016)	Benaissa <i>et al.</i>, 2021
	31%	Chine (2018-2019)	Liu <i>et al.</i>, 2022
	35,3%	Palastine (2013)	Tayh <i>et al.</i>, 2019
	60%	Belgique (2010)	Huang <i>et al.</i>, 2010
Prévalence des E-CHN	39%	Nos résultats	
	33%	Algérie	Nouria <i>et al.</i>, 2014
	30%	Cameroun (2015)	Kwetche <i>et al.</i>, 2015
	11,7%	Algérie (2016)	Bennouar, 2016
	~4%	Hollande (2013-2015)	Van den Bunt <i>et al.</i>, 2016
	67,3 %	France (2011)	Grohs <i>et al.</i>, 2014

Cette différence de prévalence des E-BLSE et des E-CHN et peut être due aux modes de prescription et de consommation des antibiotiques notamment les Céphalosporines de troisième génération d'un pays à l'autre. L'une des principales préoccupations est que la résistance causée par ces enzymes peut entraîner une efficacité réduite de la thérapie antimicrobienne ou un échec de la thérapie. Malgré de nombreuses études réalisées sur les bactéries productrices de BLSE/AmpC provenant de différentes sources, des données claires,

Discussion générale

en particulier sur les voies de transmission, font toujours défaut. Par conséquent, l'épidémiologie des BLSE/AmpC est mal connue et les données concernant la colonisation par ces souches restent rares.

Selon nos résultats, les espèces majoritaires productrices de BLSE ont été *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae* suivi par la suite par *R. terrigena*, *R. ornithinolytica*, *S. liquefaciens* et d'autres espèce.

La prévalence de production de BLSE chez *E. coli* que nous avons observé dans notre étude a été de 35,71%. Comme indiqué dans le tableau 34, ce taux est relativement élevé en comparaison à la fréquence de 5,4% enregistré par Toner et al. au Royaume-Uni (**Toner et al., 2016**). Par contre, cette prévalence est parue être inférieure à celle rapportée dans d'autres pays à taux élevés de BLSE, comme le Nepal (93%) et la France (75,9%) (**Shakya et al., 2017 ; Guillard et al., 2019**).

Pour l'espèce *K. pneumoniae*, 13,86% des souches sont des BLSE ce qui un taux important si on le compare avec celui enregistré en Danemark 2020 (4,2 %) (**Richelsen et al., 2020**). Cependant, des taux plus élevés de la prévalence de BLSE produites par l'espèce *K. pneumoniae* ont été détectés en Roumanie unis (45.3%) (**Miftode et al., 2021**) et en Éthiopie (58.1%) (**Tadesse et al., 2022**).

Les taux de production de BLSE par les souches d'*E. cloacae* (10,8%) que nous avons trouvé paraît être du même ordre de grandeur que la proportion trouvée dans une autre étude Algérienne réalisée en 2016 par Nouria et son équipe (10.34%) (**Nouria et al., 2016**). Cependant, une proportion plus basse (0,34%) a été notée dans une étude indienne effectué par **Mirza et al., (2019)**. Au contraire, d'autre proportion élevée de production de BLSE par l'espèce *E. cloacae* a été rapportée en Éthiopie (60%) (**Tadesse et al., 2022**).

Pour les taux de la production de BLSE chez les autres espèces étudiés dans notre travail, des proportion de 5,88%, 4,20%, 3,78%, 3,36% et 2,94% ont été obtenues respectivement pour les espèces : *R.terrigena*, *R.ornithinolytica*, *S. liquefaciens*, *P. mirabilis*, *S.marcescens* et *Kluyvera* spp. D'après le tableau 34, ces résultats s'harmonisent avec ceux obtenus dans de nombreuses études similaires menées dans d'autres pays, dans lesquelles ces isolats de la famille des *Enterobacteriaceae*, produisent des BLSE mais pas aussi courants que les espèces de *K. pneumoniae* et *E. coli* (**Herindrainy et al., 2011 ; Bouchillon et al., 2013 ; Şimşek, 2019 ; Tayh et al., 2019 ; Sêkowska et al., 2020 ; Ajimuda et al., 2022**). De plus, nous avons

Discussion générale

également détecté des taux faibles de production de BLSE par certaines espèces d'Entérobactéries qui ont été rarement isolées comme responsables d'infections urinaires, à savoir *Salmonella* spp, *Pantoea* spp, *P. rettegri*, et *C. lapagei*, ce qui est cohérent avec d'autres études menées en Iran en Madagascar, en Somalie, en Uganda et en Inde (**Ramazanzadeh, 2010 ; Herindrainy et al., 2011 ; Dembe et al., 2018 ; Mohamed et al., 2020 ; Salvia et al., 2022**).

Tableau 34 : comparaison de la répartition des E-EBLS uropathogènes selon les espèces

Lieux	Période	Espèces	%	Référence
Tébessa-(Algérie)	2018-2022	<i>E. coli</i>	35,71%	Nos résultats
		<i>K. pneumoniae</i>	13,86%	
		<i>E. cloacae</i>	10,08%	
		<i>R. terrigena</i>	5,88%	
		<i>R. ornithinolytica</i>	4,20%	
		<i>S. liquefaciens</i>	3,78%	
		<i>P. mirabilis</i>	3,36%	
		<i>S.marcescens</i>	2,94%	
		<i>Kluyvera</i> spp	2,94%	
		<i>Salmonella</i> spp	1,68%	
		<i>P. rettegri</i>	1,26%	
		<i>Pantoea</i> spp	0,84%	
		<i>C. lapagei</i>	0,42%	
Royaume-Uni	2006 – 2014	<i>E. coli</i>	5,4%	Toner et al., 2016
France	2017- 2018		75,9%	Guillard et al., 2019
Lalitpur-(Nepal)	2014		93%	Shakya et al., 2017
Danemark	2007 – 2017	<i>K. pneumoniae</i>	4,2%	Richelsen et al., 2020
Roumanie	2019		45.3%	Miftode et al ., 2021
Éthiopie	2019		58.1%	Tadesse et al., 2022
Laghouat Algérie	2010-2012	<i>E. cloacae</i>	10.34%	Nouria et al., 2016
Inde	2014-2016		0,34%	Mirza et al., 2019
Éthiopie	2019		60%	Tadesse et al.,2022

Discussion générale

Nigeria	2018- 2019	<i>R. terrigena</i> <i>R. ornithinolytica</i>	0.6%	Ajimuda et al., 2022
Bydgoszcz- Pologne	2020	<i>R. ornithinolytica</i>	8,57%	Sêkowska et al., 2020
Gaza – Palestine	2013	<i>S. liquefaciens</i>	3,3%	Tayh et al., 2019
États-Unis	2009-2011	<i>P. mirabilis</i>	3,7%	Bouchillon et al., 2013
Kampala - Uganda	2014		4%	Dembe et al., 2018
Turkey	2014-2018	<i>S.marcescens</i>	6,9%	Şimşek, 2019
Madagascar	2005-2006	<i>Kluyvera</i> spp. <i>Pantoea</i> spp.	1, 88%	Herindrainy et al., 2011
Sanandaj- Iran	2007-2008	<i>Salmonella</i> spp	0,5%	Ramazanzadeh, 2010
Inde	2018 - 2019	<i>P. rettgeri</i>	0,25%	Salvia et al., 2022
Somalie	2019	<i>C. lapagei</i>	0.3%	Mohamed et al., 2020

En revanche, le profile épidémiologie des Entérobactéries uropathogènes productrices de BLSE associé au Céphalosporinase déprimée montre une prédominance d'*E. coli* (43.01%), *K. pneumoniae* (13.97%), *E. cloacae* (11.82%) et *R. terrigena* (6.45%). A l'exception de l'espèce *R. terrigena* qui a été détecté pour la premier fois dans la présente étude comme hyperproducteur de Céphalosporinase, des nombreuses autres publications confirment l'émergence de production des BLSE-E associés au Céphalosporinase haut niveau (CHN) chez diverses espèces d'Entérobactéries à savoir : *E. coli*, *Enterobacter* spp., *Klebsiella* spp., *Citrobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella* spp., *Salmonella* spp. et *Proteus* spp (**Fam et al., 2013 ; Jacoby, 2009 ; Drieux et al., 2008 ; Mirza et al., 2019**).

Devant cette situation alarmante, les Carbapénèmes sont les antibiotiques de dernier recours pour le traitement des infections due aux Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE-E) et/ou de Céphalosporinase de type d'AmpC (**Alizadeh et al., 2021**). Mais dernièrement, des bêta-Lactamases ayant une activité de Carbapénémase sont identifiées de façon croissante chez les Entérobactéries ce qui complique encore plus la situation du traitement des infections causées par ces bactéries. Dans notre étude, 78 producteurs de Carbapénémase ont été détectés, ce qui représente un taux de 19,5% sur la totalité des souches isolées et plus de 30% du total des isolats d'Entérobactéries multirésistante

Discussion générale

étudiés. Toutes ces souches étaient productrices à 100% de BLSE. Une ampleur comparable de la production de Carbapénémase a été rapportée en Uganda 28.6% par (**Okoche et al., 2015**). En revanche, cette prévalence ne se concorde pas avec les résultats des études similaires effectuées au Maroc (**EL wartiti et al., 2012**), en Ethiopie (**Seman et al., 2022**), en Inde (**Devi et al., 2020**), au Brésil (**Martins et al., 2018**), en Allemagne (**Kaase et al., 2016**) et au Sudan (**Dahab et al., 2017**). Où ces études ont enregistré des taux de production de Carbapénémase supérieurs ou inférieurs à ceux enregistrés dans notre étude (Tableau N° 35).

Tableau 35 : Variation de prévalence des E-CP et des E-MBL uropathogènes en fonction de pays.

	%	Lieux et période	Références
Prévalence des E-CP	30%	Nos résultats	
	28.6%	Uganda (2013-2014)	Okoche et al., 2015
	2.8%	Maroc (2009-2010)	EL wartiti et al., 2012
	7.7%	Éthiopie (2018-2019)	Seman et al., 2022
	8%	Inde (2015-2018)	Devi et al., 2020
	12,5%	Brésil (2013-2015)	Martins et al., 2018
	53,3 %	Allemagne (2013-2014)	Kaase et al., 2016
	56%	Sudan (2016)	Dahab et al., 2017
Prévalence des E-MBL	23%	Nos résultats	
	0,42%	40 pays (2012-2014)	Kazmierczak et al., 2016
	4,09%	Inde (2014-2016)	Mirza et al., 2019
	12,8 %	Inde (2018-2019)	Salvia et al., 2022
	21,53%	Egypte (2019-2020)	Abo-Alella et al., 2021
	56,9%	Chine (2012-2016)	Cai et al., 2019

D'autre part et sur la base des résultats du test de disque combiné, 59 souches ont été confirmés comme étant producteurs de Carbapénémase de classe B ou plutôt de Métallo-Béta-Lactamases (MBL), ce qui constitué une proportion de 23% sur la totalité des Entérobactéries multirésistante étudiées. Le Tableau 35 montre que, nos résultats pour la production de MBL s'est avéré beaucoup plus élevé que celle enregistrée dans une étude pluriannuelle multinationale réalisée sur l'incidence et la répartition mondiale des Entérobactéries productrices de Métallo-β-lactamase par **Kazmierczak et al., (2016)**. Nos résultats est supérieur également à ceux obtenus dans deux études indiennes précédentes effectuées entre 2014-2016 et 2018-2019 par **Mirza et al., (2019)** et **Salvia et al., (2022)**, mais inférieur à ceux rapportés entre 2012 et 2016 en chine par **Cai et al., (2019)**. En revanche, un taux de prévalence

Discussion générale

très proche de la production de MBL par des souches d'EMR a été noté dans une étude égyptienne très récente (**Abo-Alella et al., 2021**).

Cette différence d'isolement d'ECPs peut être due à la situation géographique (la zone d'étude) et aux caractéristiques de la population et leurs états physiologiques. En outre, cette variation pourrait être due également à la différence des habitudes locales de prescription d'antibiotiques, du programme de contrôle des infections dans les différents établissements de santé, de manque de mesures préventives adéquates et des échecs thérapeutiques qui restent inexplicables dans certains pays. (**Maamar et al., 2019 ; Tekele et al., 2021**).

Selon notre recherche biobibliographique, les Carbapénémases à savoir les métallo- β -lactamases, les KPC et les Oxacillines de classe D sont les plus couramment détectées chez les Entérobactéries, notamment chez *Klebsiella pneumoniae* et *E. coli* (**Atterby, 2019 ; Natoubi et al., 2020 ; Mahamat et al., 2021**).

Dans notre étude les Entérobactéries productrices de Carbapénémase les plus courantes étaient *Escherichia coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae*, ce qui est conforme à une étude réalisée à Angola (**Kieffer et al., 2016**). Cependant, elle n'était pas cohérente par rapport aux études réalisées en Maroc (**Natoubi et al., 2020**), en France (**Dortet et al., 2017**) et en Inde (**Salvia et al., 2022**), indiquant que le principal agent pathogène producteur de Carbapénémase était *K. pneumoniae* plutôt que *E. coli* (Tableau N° 36).

Tableau 36 : comparaison des résultats de production de CP par les trois espèces *E. coli*, *K. pneumoniae* et *E. cloacae*.

Lieux	Période	Espèces	%	Référence
Tébessa-(Algérie)	2018-2022	<i>E. coli</i>	20.51%	Nos résultats
		<i>K. pneumoniae</i>	14.10%	
		<i>E. cloacae</i>	10.25%	
Luanda-Angola	2015	<i>E. coli</i>	50%	Kieffer et al., 2016
		<i>K. pneumoniae</i>	48%	
		<i>E. cloacae</i>	2%	
Maroc	2012 - 2014	<i>K. pneumoniae</i>	70%	Natoubi et al., 2020
		<i>E. cloacae</i>	30%	
		<i>E.coli</i>	00%	
France	2012-2014	<i>K. pneumoniae</i>	57,1%	Dortet et al., 2017

Discussion générale

		<i>E.coli</i>	23,8%	
		<i>E. cloacae</i>	9,9%	
Inde	2018 - 2019	<i>K. pneumoniae</i>	35.9%	Salvia et al., 2022
		<i>E. cloacae</i>	11,1%	
		<i>E.coli</i>	08%	

De plus, un taux intéressant de production de Carbapénèmases de 15,12% a été noté dans notre étude chez les espèces *Raouletlla* spp (*R. ornithinolytica* (8,97%) et *Raoultella terrigena* (5,12%). Ce taux représente un résultat original et important dans notre étude car plusieurs études antérieures ont signalé l'existence d'isolats de *Raouletlla* spp productrices de carbapénémase dans l'environnement, par exemple *R. ornithinolytica* avec *bla*_{OXA-48} provenant de l'eau d'une rivière en Algérie (**Tafoukt et al., 2017**), des isolats avec *bla*_{NDM-1} et *bla*_{KPC-2} provenant de la rivière urbaine en Chine. Cependant, par rapport aux isolats cliniques, les données systématiques sont très limitées pour les *Raoultella* spp résistantes aux carbapénèmes (RRC) (**Zou et al., 2022**). En revanche, d'autres espèces tels que ceux appartenant au *Providencia* spp, *Citrobacter* spp, *Proteus* spp, *Serratia* spp et *Kluyvera* spp étaient des producteurs de Carbapénémase avec des fréquences allant de 1.28% à 8,97%. Dans d'autres études à savoir celles réalisées en Algérie, en France et en Japon, des fréquences plus faibles de production de Carbapénémase ont été enregistrées pour ces espèces (**Robin et al., 2010 ; Dortet et al., 2017 ; Wajima et al., 2020**). Cette émergence de CP chez les différentes espèces d'Entérobactéries est peut-être expliquée par la propagation des gènes de Carbapénémase tels que *bla*_{KPC} entre les *Enterobacteriaceae* dans les hôpitaux à cause du transfert horizontal de gènes intra- et inter-espèces médié par des plasmides associés à des éléments transposables (**Rada et al., 2020**).

De même, les isolats producteurs des Metallo-β-Lactamase (MBL) sont réparties sur 12 espèces (13 *E. coli*, 9 *Klebsiella* spp, 9 *Serratia* spp, 7 *Kluyvera* spp, 6 *Enterobacter*, 6 *Raoultella*, 3 *Citrobacter* spp, 2 *proteus*, 1 *Providencia* spp, 1 *Pantoea* ssp, 1 *Cedaceae* spp et 1 *Yersinia pestis*), ces résultats sont en désaccord avec ceux d'une étude réalisée par Yoon et son équipe en Corée en 2010-2015 (**Yoon et al., 2018**), dans laquelle les *Klebsiella* spp était les isolats les plus courants 48,7%. Suivi par *E. coli* 23.3%, *Enterobacter* spp. 18.5%, *Citrobacter* spp 6.2% et *Raoultella* spp 2.8%. La dissémination de ces enzymes fait intervenir de multiples facteurs, tels que la propagation clonale des souches résistantes au Carbapénème et le transfert

Discussion générale

horizontal inter-souches et inter-espèces des déterminants de la résistance comme les plasmides qui portent des gènes de type IMP, VIM, SPM et NDM, où ces plasmides sont facilement transférables par conjugaison au sein des espèce d'Entérobacteries (**Kumarasamy et al., 2010 ; Yong et al., 2009 ; Cornaglia et al., 2011**).

Concernant les caractéristiques socio-démographiques et cliniques des patients infectés par des *Enterobacteriaceae* productrices de bêta-lactamses (BLSE, CHN et CP), il est à noter que les femmes sont majoritaires dans les cas d'infection due aux souches productrices de BLSE et/ou de Carbapénèmes, dans lesquelles la sex-ratio homme/femme des patients infectés était de « 0,95 ». Ces résultats sont en accord avec les résultats constatés par Dortet, Eshetie et Kwok où la prédominance était féminine (**Dortet et al., 2014 ; Eshetie et al., 2015 ; Kwok et al., 2020**). En revanche, d'autres travaux ont témoigné une prédominance chez le sexe masculin en Maroc et dans des hôpitaux d'Addis Ababa (Éthiopie) (**Natoubi et al., 2020 ; Seman et al., 2022**). D'une autre part, les souches coproductrice de BLSE et CHN ont été isolées beaucoup plus à partir des patients de sexe masculin avec une sex-ratio homme/femme de « 1,02 ». Ceci est comparable avec les résultats de **Grohs et al., (2014)**. Cependant, Des résultats différents ont été rapportés par Rakotovao et son équipe en Madagascar (**Rakotovao et al., 2017**) où les souches provenaient essentiellement de sujets féminins (78,26%) (Tableau N° 37).

Tableau N° 37 : Comparaison des taux de répartition des Entérobactéries uropathogènes productrice de BLSE, de CHN et de CP selon le sexe des patients.

Lieux et Période	Sexe des patients			Références
	Femme N (%)	Homme N (%)	Sexe ratio (H/F)	
E-BLSE				
Algérie 2018 – 2022	122 (51,26%)	116 (48,74%)	0,95	Nos résultats
France 2012	28 (54,90%)	23 (45,1%)	0,82	Dortet et al., 2014
Chine 2017	120 (61)	77 (39%)	0,64	Kwok et al., 2020
Maroc 2012 - 2014	15 (33.3%)	30 (66.7%)	2	Natoubi et al., 2020
Éthiopie 2018 - 2019	30 (42,9%)	40 (57,1%)	1,33	Seman et al., 2022
E-CHN				
Algérie 2018 - 2022	46 (49,46 %)	47 (50,53%)	1,02	Nos résultats

Discussion générale

France 2011	25 (48,1 %)	27 (51,9 %)	1,08	Grohs <i>et al.</i>, 2014
Madagascar 2014 -2016	18 (78,26%)	5 (21,7%)	0,27	Rakotovao <i>et al.</i>, 2017
E-CP				
Algérie 2018 - 2022	40 (51,28%)	38 (48,71%)	0,95	Nos résultats
Éthiopie 2014	282 (63,8%)	160 (36,2%)	0,56	Eshetie <i>et al.</i>, 2015
Maroc 2012 - 2014	5 (50%)	5 (50%)	1	Natoubi <i>et al.</i>, 2020
Éthiopie 2018 - 2019	05 (%)	13 (%)	2,6	Seman <i>et al.</i>, 2022

Ces disparités dans les pourcentages d'Entérobactéries productrices de bêta-lactamases entre les deux sexes peuvent refléter des différences régionales dans les pratiques de prescription d'antibiotiques liées au sexe (utilisation par les femmes de médicaments contre la cystite), et elles peuvent également être le résultat de biais statistiques liés aux critères d'inclusion (**Sbiti *et al.*, 2017**).

D'après nos résultats, la majorité des souches d'Entérobactéries productrices de bêta-lactamases ont été isolées à partir des patients âgés de 10 à 59 ans (E-BLSE « 10 à 59 ans », E-CHN « 10-39 ans » et E-CP « 20-59 ans »). Le tableau suivant comprend plusieurs comparaisons entre les catégories d'âge les plus touchées par les infections urinaires liées aux Entérobactéries productrices des bêta-lactamases dans notre étude par rapport aux autres études nationales et internationales.

Tableau 38 : Catégorie d'âge prédominante chez les patients porteurs d'E-BLSE, d-CHN et d'E-CP.

Lieux	Période	Catégorie d'âge dominante	Référence
E-BLSE			
Tébessa-Algérie	2018 – 2022	10 à 59 ans	Nos résultats
Algerie	2010 – 2012	32-58 ans	Nouria <i>et al.</i>, 2016
Maroc	2013 – 2015	>55 ans	Sbiti <i>et al.</i>, 2017
Pakistan	2015	31-45 ans	Fatima <i>et al.</i>, 2018
Chine	2017	≥ 60 ans	Kwok <i>et al.</i>, 2020
E-CHN			
Tébessa-Algérie	2018 – 2022	10-39 ans	Nos résultats
États-Unis	1999 – 2011	1–5 ans	Logan <i>et al.</i>, 2014

Discussion générale

Spain	2014 – 2015	41–65 ans	González <i>et al.</i>, 2020
Sri Lanka	2015 – 2016	≥50 ans	Perera <i>et al.</i>, 2022
E-CP			
Tébessa-Algérie	2018-2022	20-59 ans	Nos résultats
Brésil	2011-2013	>60 ans	De Maio <i>et al.</i>, 2016
Italie	2014 – 2017	60–79 ans	Iacchini <i>et al.</i>, 2019
Nigeria	2018	40–54 ans	Adesanya <i>et al.</i>, 2020
Maroc	2018-2020	18–64 ans	Dilagui <i>et al.</i>, 2022
Algérie	2017-2018	46-80 ans	Khaldi <i>et al.</i>, 2022

D'autre part, l'analyse des profils cliniques des patients inclus dans notre étude révèle que certains services hospitaliers sont apparus plus concernés par le problème de résistance liée à la production de bêta-lactamases (BLSE, CHN et/ou CP) notamment les services de médecine interne, de chirurgie interne et le service de gynécologie. Comme le montre le tableau 39, ces résultats ont comparables avec plusieurs études nationales et étrangères et cette distributions pourrait-être dû à certains facteurs tels que: les longs séjours à l'hôpital, l'utilisation d'équipements intrusifs (type cathéters, sonar urinaire, intubation, etc.), l'administration fréquente de nombreux médicaments notamment les antibiotiques et à large spectre (C3G et les fluoroquinolones), la chirurgie récente, l'immunodépression, l'hémodialyse et la nutrition parentérale exclusive ou une hospitalisation antérieure peuvent intervenir (**Sbiti *et al.*, 2017**). En revanche, des niveaux élevés de production de bêta-lactamases ont été observés également chez les souches isolées de patients ambulatoires (service externe). Cela est confirmé par l'émergence des Entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases en milieu communautaire et ce phénomène est en évolution continue dans plusieurs pays ce qui rendent ainsi l'épidémiologie des infections qui résultent de bactéries productrices de BLSE, de CHN et ou de CP encore plus délicates (**Struelens *et al.*, 2013 ; Karanika *et al.*, 2016**).

Discussion générale

Tableau 39 : Comparaison des taux de distribution des E-BLSE, des E-CHN et des E-CP uropathogènes selon les services.

Lieux	Périodes	Les services dominants	%	Références
E-BLSE				
Algérie	2018 – 2022	Médecine interne	28,57%	Nos résultats
		Chirurgie interne	15,12%	
		Gynécologie	11,76%	
		Service externe	11,76%	
Paris – France	1997-2010	Médecine interne	65,1%	Birgand <i>et al.</i>, 2013
		Chirurgie interne	32,3%	
Madrid – Espagne	2018	Urologie	35%	Pérez <i>et al.</i>, 2019
		Gastro-entérologie	30,7%	
Tlemcen – Algérie	2019	Urologie	37,07 %	Zenati <i>et al.</i>, 2019
		Maternité	33,33%	
		Médecine interne	29,62%	
E-CHN				
Algérie	2018 – 2022	Médecine interne	31,18%	Nos résultats
		Chirurgie interne	15,05%	
France	2008 – 2010	Médecine interne	90,2%	Poignant <i>et al.</i>, 2016
		Chirurgie interne	9,8%	
Varsovie – Pologne	2003 – 2004	Chirurgie interne	42,9%	Empel <i>et al.</i>, 2008
		Médecine interne	22,9%	
E-CP				
Tébessa – Algérie	2018-2022	Médecine interne	26,92%	Nos résultats
		Gynécologie	21,79%	
		Chirurgie interne	15,38%	
Guelma – Algérie	2014	Maladies infectieuses	31%	Bouguenoun <i>et al.</i>, 2016
		Chirurgie générale	25%	
		Réanimation	33,33%	
Settat – Maroc	2012 – 2014	Réanimation	50%	Natoubi <i>et al.</i>, 2020
		Chirurgie interne	40%	

Discussion générale

Chine	2018 – 2019	Réanimation	84,61%	Yan <i>et al.</i>, 2020
Addis Ababa – Ethiopie	2018 – 2019	Pédiatrie	50%	Seman <i>et al.</i>, 2022
		Réanimation	33,33%	

4. Profil de résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP

4.1. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrice de BLSE

Les gènes de résistance aux bêta-lactamines ; BLSE (CTX, SHV et TEM), CHN (AmpC) et CP (VIM, IMP... etc.) sont localisés sur des plasmides, qui peuvent être transmis entre *Enterobacteriaceae*, facilitant leur propagation dans les hôpitaux et les collectivités. Ces plasmides hébergent généralement plusieurs gènes de co-résistance supplémentaires, notamment au triméthoprim-sulfaméthoxazole, aux Aminoglycosides et aux Fluoroquinolones, ce qui rend ces infections difficiles à traiter (**Moxon *et al.*, 2016**).

Dans notre étude, les tests de sensibilité aux antibiotiques réalisés montrent que, les taux globaux de résistance aux antibiotiques des isolats d'E-BLSE étaient significativement très élevés pour la plupart des bêta-lactamines testés. Où des taux de résistance de 91,1%, 92,55% et 94,54% ont été noté respectivement pour la Piperacilline, la Ticarcilline et l'Amoxicilline. Aussi, des taux de de 73,53 %, 84,45 et 85,71 % et 89,08 % ont été enregistrés respectivement pour la céfotaxime, la Céfepime, la Céfixime et le Céfotazidime. En revanche, Le taux de résistance à la céfoxitine a été de 48,32 %. Ces résultats ont été confirmés par des données précédemment publiées, où ces dernières considéraient les BLSE plasmidique ou chromosomiques comme des enzymes qui ont la capacité d'hydrolyser et de provoquer une résistance à divers types de β -lactamines récentes, y compris les Céphalosporines à spectre élargi comme le Céfotaxime et le Céfotazidime, mais pas aux Céphamycines comme la Céfoxitine (**Bitew et Tsige, 2020**).

D'après le tableau 40, des résultats semblables ont été rapportés dans certaines études internationales comme ceux effectuées en Maroc par Natoubi et son équipe et en Gabon par Onanga, où des taux de résistance très élevés E-BLSE ont été enregistrés contre la plupart des bêta-lactamines (Pénicillines et Céphalosporines) testés dans ces études (**Natoubi *et al.*, 2020 ; Onanga *et al.*, 2020**). En Algérie, **Nouria *et al.*, (2016)** lors de leurs travaux effectués dans les

Discussion générale

services hospitaliers à Laghouat ont également rapporté des taux de résistance élevés et très similaires à ceux obtenus dans notre étude.

Par ailleurs, le taux de résistance des E-BLSE contre les bêta-lactamines associées à l'acide clavulanique dans notre étude était de 89.50% pour Ticarcilline- acide clavulanique et de 66,66% pour l'Amoxicilline- acide clavulanique. Ces résultats sont conformes aux résultats d'études de **Nouria *et al.*, (2016)**, **Natoubi *et al.*, (2020)**, **Onanga *et al.*, (2020)**. Dans lesquelles des niveaux de résistances assez importantes ont été marqués chez des souches d'Entérobactéries uropathogène productrices de BLSE (Tableau 40). Ces taux de résistance élevés pourraient être dus à l'utilisation fréquente des C3G tels que le Céfotaxime et l'Augmentin dans le traitement d'infections bactériennes (**Mizrahi *et al.*, 2020**).

En revanche, 15,13% des souches se montrent résistantes à l'Imipénème et 40.34% des souches ont été résistantes à l'Ertapénème. Cela confirme la place de l'Imipénème en premier choix dans le traitement des infections sévères due aux Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE-E) (**Alizadeh *et al.*, 2021**). Différents niveaux de résistance à ces molécules ont été rapportés dans plusieurs études, dont ceux cités dans le tableau suivant (Tableau N° 40).

Tableau 40 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis quelque antibiotique de la famille des bêta-lactamine.

Antibiotiques testés	Taux de résistance %			
	Nos résultats	Nouria <i>et al.</i> , 2016	Natoubi <i>et al.</i> , 2020	Onanga <i>et al.</i> , 2020
Amoxicilline (AMX)	95,54%	100%	100%	100%
Pipéracilline (PRL)	92,55%	100%	/	78,12%
Ticarcilline (TIC)	91,1%	100%	/	93,75%
Céfotaxime (CTX)	73,53%	90,42%	97,80%	100%
Ceftazidime (CAZ)	89,9%	90,42%	97,80%	71,87%
Céfépime (FEP)	84,45%	47,62%	100%	/
Céfexime (CEF)	85,71%	85,72%	/	96,87%
Céfoxitine (FOX)	48,32%	57,14%	71,1%	62%
Amoxicilline -Acide Clavulanique (AMC)	89,5%	85,72%	/	68,75%
Ticarcilline -Acide Clavulanique (TTC)	66,66%	80,95%	100%	87,5%
Erthapénème (ETP)	40,34%	00%	35,6%	65,62%
Imipénème (IPM)	15,13%	/	17,8%	50%

Discussion générale

Récemment, de nombreuses études ont indiqué qu'il est nécessaire d'utiliser les Aminocyclitolides et les Fluoroquinolones, le plus souvent en association avec les bêta-lactamines, pour traiter certaines maladies causées par des Entérobactéries-BLSE (Zhan *et al.*, 2018). Les Aminocyclitolides peuvent inhiber la synthèse protéique chez les bactéries et les Quinolones peuvent agir sur deux enzymes bactériennes de synthèse d'ADN : la gyrase et la topoisomérase (Kuriyama *et al.*, 2014 ; Bush *et al.*, 2020). Cependant, l'utilisation abusive et inappropriée de ces antibiotiques contribue à l'émergence de souches multi-résistantes (Mobarki *et al.*, 2019).

Dans la présente étude, la résistance aux Aminocyclitolides chez les E-BLSE a été assez marquée pour la Tobramycine et la Gentamicine et à moindre degré pour l'Amikacine. En effet, sur le total de 238 Entérobactéries sécrétrices de BLSE, 55,04% souches sont résistantes à la Tobramycine, 37,09% à la Gentamicine et 18,49 % sont résistantes à l'Amikacine.

Plusieurs études portant sur l'antibiorésistance des Entérobactéries-BLSE uropathogènes ont objectivé cette hausse de résistances à la famille d'Aminocyclitolides, notamment celle réalisée en Algérie (Souaia *et al.*, 2011), en Chine (Liang *et al.*, 2015), en Gabon (Onanga *et al.*, 2020) et en Éthiopie (Seman *et al.*, 2022). Où les taux de co-résistance étaient élevés pour la Tobramycine et la Gentamicine, tandis que l'Amikacine maintenait une bonne efficacité (Tableau N° 41).

Tableau 41 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis de quelques antibiotiques des Aminoglycosides et des fluoroquinolones

Antibiotiques testés	Taux de résistance %				
	Nos résultats	Souaia <i>et al.</i> , 2011	Liang <i>et al.</i> , 2015	Onanga <i>et al.</i> , 2020	Seman <i>et al.</i> , 2022
Aminoglycosides					
Tobramycine (TOB)	55,04%	93,7%	44,2%	53,12%	47,1%
Gentamicine (GN)	37,09%	96,8%	59,7%	62,5%	68,8%
Amikacine (AK)	18,49%	6,2%	22,1%	46,87%	5,7%
Fluoroquinolones					
Ciprofloxacine (CIP)	56,30%	53,1%	45,5%	59,37%	62,8%
Ofloxacine (OFX)	65,97%	65,6%	/	53,12%	/

Notre étude a également montré que les Entérobactéries-BLSE ont enregistré des taux de co-résistance élevés pour les Fluoroquinolones, soit 56,30% souches résistantes à la Ciprofloxacine et 65,97% souches résistantes à l'Ofloxacine. Selon le Tableau 41, ces taux de résistance sont presque pareils à ceux obtenus par Souaia *et al.*, (2011) qui ont montré que

Discussion générale

53,1% et 65,6% des E-BLSE étaient résistantes respectivement à la Ciprofloxacine et à l'Ofloxacine. En revanche, des taux de résistance aux Fluoroquinolones plus ou moins élevés ont été notés dans d'autres études réalisées par **Liang *et al.*, (2015)**, **Onanga *et al.*, (2020)** et **Seman *et al.*, (2022)**.

Cette résistance aux Fluoroquinolones est due généralement à une altération des enzymes cibles qui sont l'ADN gyrase et la topoisomérase IV suite à une mutation chromosomique (**Muylaert et Mainil, 2013**). Mais dernièrement, une résistance d'origine plasmidique a été également rapportée, ceci peut être expliqué par une acquisition des gènes de résistance aux Fluoroquinolones *qnr*, *qepA*, et *aac(6')-Ib-cr* dans les mêmes plasmides avec des gènes de BLSE (**Vaziri *et al.*, 2020**).

En ce qui concerne les autres antibiotiques, des niveaux de co-résistances inquiétants et alarmants ont été marqués car elle touche des molécules thérapeutiques comme la Nitrofurantoïne (12,18%), mais surtout la Cotrimoxazole (69,75 %) et la Fosfomycine (47,90%) qui sont parmi les molécules les plus utilisées actuellement dans les traitements probablistes des infections de voie urinaire (**Akpabie *et al.*, 2001 ; Pourbaix et Guérin, 2016**). Comme le montre le tableau 42, Les travaux de **Sultan *et al.* (2015)** fait en Inde en 2016 et celle de **Kurz *et al.*, (2017)** réalisé en 2017 à Rwanda ont rapportés des taux de co-résistances plus élevés vis-à-vis de la Nitrofurantoïne et de la Cotrimoxazole, tandis que la fosfomycine a gardé une très bonne efficacité contre les Enterobactéries-BLSE. En revanche, les taux de co-résistance notés dans la présente étude sont supérieurs à celui obtenu par **Martin *et al.*, (2016)** et son équipe en France.

Tableau 42 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE vis-à-vis de la nitrofurantoïne, de la Cotrimoxazole et de la Fosfomycine

Antibiotiques testés	Taux de résistance %			
	Nos résultats	Sultan <i>et al.</i> , 2015	Martin <i>et al.</i> , 2016	Kurz <i>et al.</i> , 2017
Nitrofurantoïne (NIT)	12,18%	29%	4,6%	25,2%
Cotrimoxazole (COT)	69,75%	100%	52,5 %	92%
Fosfomycine (FOS)	47,90 %	00%	6,3%	8,4%

Discussion générale

4.2. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrice de BLSE/CHN

L'analyse des résultats de l'étude de la sensibilité aux antibiotiques nous a permis d'enregistrer une augmentation de la résistance chez les Entérobactéries coproductrice de Céphalosporinase a haut niveau et de béta-lactamase à spectre étendu (BLSE/CHN) par rapport au taux trouvé chez les E-BLSE (sauf pour le Fosfomycine). Ces résultats sont confirmés par des données littératures mentionnées dans l'étude de **Lorme *et al.*, (2018)**.

Les taux de résistance aux Céphalosporine des souches d'Entérobactéries sécrétrices de BLSE/CHN sont très élevés, ils étaient de 50,53% pour la Céfoxitine, de 81,72% Céfotaxime, et de 91,39 pour chacune de la Ceftazidime, le Céfépime et la Céfexime. De plus, un taux de résistance de 66,66% a été noté pour l'Amoxicilline associé à l'acide clavulanique. Dans les travaux de **Younas *et al.*, (2018)** sur les Entérobactéries hyperproductrices de Céphalosporinase ils ont montré que la totalité des souches testées ont été enregistrés un taux de résistance de 100% aux différent Céphalosprines testés et même à l'association de l'Amoxicilline et l'acide clavulanique (Tableau 43). Cependant, des taux plus bas ont été enregistrés pour les Céphalosporines, l'Aztréonam et l'Amoxicilline-acide clavulanique dans certaines études comme celle mené par **Ibrahim *et al.*, (2019)** en Arabie Saoudite et celle réalisé par **González *et al.*, (2020)** en Espagne (Tableau N° 43).

Les Entérobactéries coproductrices de BLSE et de CHN ont affiché également un taux croissant de résistance pour le groupe des Carbapénèmes, à savoir l'Ertapénème (40,68%) et l'Imipénème (16,32 %). Un taux plus élevé de la résistance à l'Imipénème (57,4 %) a été signalé en Arabie Saoudite (**Ibrahim *et al.*, 2019**). Aussi, un taux de 25,4 % a été également noté pour ce dernier en Pakistan (**Younas *et al.*, 2018**). Ces chiffres sont très préoccupants car les Carbapénèmes sont considérés comme les médicaments de choix pour le traitement des infections graves associées aux BLSE et aux β -lactamases AmpC (CHN) (**Shaikh *et al.*, 2015**). En revanche, aucune souche n'a été résistante ni à l'Ertapénème ni à l'Imipénème dans l'étude de **González *et al.*, (2020)** en Espagne (Tableau N° 43).

Discussion générale

Tableau 43 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries coproductrices de BLSE/CHN vis-à-vis de quelques antibiotiques de la famille des bêta-lactamines.

Antibiotiques testés	Taux de résistance %			
	Nos résultats	Younas <i>et al.</i> , 2018	Ibrahim <i>et al.</i> , 2019	González <i>et al.</i> , 2020
Pipéracilline (PRL)	93,54%	/	71,3%	100%
Cefotaxime (CTX)	81,72%	100%	75,2%	80,9%
Ceftazidime (CAZ)	91,39%	100%	64,4%	80,9%
Céfépime (FEP)	91,39%	/	74,2	61,9
Céfexime (CEF)	91,39%	100%	/	/
Céfoxitine (FOX)	50,53%	100%	/	/
Amoxicilline -Acide Clavulanique (AMC)	66,66%	100%	92,1%	/
Aztréonam (ATM)	84,96%	/	81,2%	/
Erthapénème (ETP)	40,68%	/	/	00%
Imipénème (IPM)	16,32%	25,4%	57,4%	00%

De plus, ces bactéries ont démontré des taux élevés de co-résistance au Ciprofloxacine (61,29%) et à l'Ofloxacine (73,11 %). D'après le tableau 44, ces chiffres sont comparables avec celles d'Ibrahim *et al.*, (2019) mais elles sont inférieures en comparaison avec les chiffres rapportés dans les hôpitaux de Pakistan par Younas *et al.*, (2018). Pour la famille des Aminoglycosides, le taux de corésistance le plus élevé était celui noté pour la Tobramycine (58,06 %) suivi par celle de la Gentamicine (43,01%), tandis qu'un taux modéré de 18,27% a été enregistré pour l'Amikacine. Des taux plus élevés ont été marqués dans les deux études qui ont déjà été mentionnés au-dessus. Cependant, des taux plus bas ont été constatés en Inde atteignant 27% pour la Gentamicine et 9% pour l'Amikacine (Sultan *et al.*, 2015) (Tableau N° 44).

Concernant la résistance des souches productrices de Céphalosporinase à haut niveau vis-à-vis des autres antibiotiques, on note une augmentation remarquable dans le taux de résistance de ces souches à la molécule du Cotrimoxazole. Aussi, un taux de résistance important (41, 39%) a été noté pour la Fosfomycine et la Nitrofurantoïne. Des niveaux variables de résistance à ces antibiotiques ont été rapportés dans de nombreuses études antérieures, telles que celles énumérées dans le tableau suivant (Tableau N° 44).

Discussion générale

Tableau44 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries-BLSE/ CHN vis-à-vis de quelques antibiotiques des familles des Aminoglycosides, des fluoroquinolones et d'autres familles.

Antibiotiques testés	Taux de résistance %			
	Nos résultats	Sultan <i>et al.</i> , 2015	Younas <i>et al.</i> , 2018	Ibrahim <i>et al.</i> , 2019
Aminoglycosides				
Tobramycine (TOB)	58,06%	/	/	66,3%
Gentamicine (GN)	43,01%	27%	90,5%	65,3%
Amikacine (AK)	18,27%	09%	77,8	56,4%
Fluoroquinolones				
Ciprofloxacine (CIP)	61,29%	/	86,5%	73,3%
Ofloxacine (OFX)	73,11%	87%	77,8%	69,3%
Autres antibiotiques				
Nitrofurantoïne (NIT)	41,93%	35%	/	77,2%
Cotrimoxazole (COT)	73,11%	100%	100	90,1%
Fosfomycine (FOS)	41,39%	05%	/	/

4.3. Résistance aux antibiotiques des Entérobactéries productrices de CP

Dans notre étude, La pouvoir antimicrobien des antibiotiques appartenant aux β -lactamines contre les *Enterobacteriaceae* productrices de Carbapénémase (E-PC) étaient très faible. Nos isolats producteurs de Carbapénémase y a compris celles sécrétrices de métallobéta-Lactamases ont montré des taux de résistance élevés aux Carboxypénicillines, où plus que 80% des isolats étaient résistants à l'amoxicilline, à la Pipéracilline, et à la Ticarcilline. De plus, 56,41 % et 79.48% des souches étaient résistantes respectivement à l'association d'acide clavulanique avec de l'Amoxicilline et la Ticarcilline. Deux études menées en Algérie par (**Bouguenoun *et al.*, 2016**) et en Tunisie par (**Maamar *et al.*, 2019**) ont rapportés que toutes les souches d'E-CP étudié étaient résistantes aux pénicillines en présence ou pas des inhibiteurs de bêta-lactamases.

Aussi, les Céphalosporines à spectre élargie ont montré un spectre d'activité négligeable contre les souches d'E-CP étudiées où des taux de résistance entre 64% et 87% ont été notés contre les différentes céphalosporines testés. D'après le tableau 45, ces résultats sont presque similaires aux résultats obtenus dans plusieurs études menées dans les pays d'Afrique du Nord, y compris celles menées an Algérie par **Bouguenoun *et al.*, (2016)**, en Tunisie par **Maamar *et al.*, (2019)** et en Maroc par **Natoubi *et al.*, (2020)**.

Discussion générale

Pour le Monobactame, Nos souches d'E-CP étudiés ont présenté des taux de résistances de l'ordre de 73.07% pour l'Aztréoname. Ce chiffre est supérieur à celui qui a été rapporté dans l'étude de **Bouguenoun et al., (2016)** et **Maamar et al., (2019)**. Par contre, **Natoubi et al., (2020)** a trouvé un taux de résistance élevé à l'Aztréoname chez les souches de d'Entérobactéries productrices de carbapénèmase (Tableau N° 45).

Tableau 45 : Comparaison des taux de résistance des souches d'Entérobactéries productrices de Carbapénèmase vis-à-vis dese antibiotique de la famille des bêta-lactamines.

Antibiotiques testés	Taux de résistance %			
	Nos résultats	Bouguenoun et al., 2016	Maamar et al., 2019	Natoubi et al., 2020
Amoxicilline (AMX)	87.18 %	100 %	100 %	100 %
Cefotaxime (CTX)	61.53 %	67 %	97 %	100 %
Ceftazidime (CAZ)	76.92	67 %	97 %	90 %
Céfépime (FEP)	84.61 %	/	64 %	/
Amoxicilline -Acide Clavulanique (AMC)	56.41%	100 %	100 %	100 %
Aztréonam (ATM)	73.07 %	90 %	62 %	90 %
Erthapénème (ETP)	82.05 %	100 %	83,3 %	100 %
Imipénème (IPM)	29.48 %	70 %	57,1 %	70 %

L'Erthapénème était l'un des antibiotiques les moins puissants contre ces bactéries, avec un taux de résistance de 82,05%. Tandis que, l'Imipénème était modérément actif contre les uropathogènes productrice de Carbapénèmases. Ces résultats ne sont pas cohérents avec ceux obtenus dans les deux études de **Bouguenoun et al., (2016)** et **Natoubi et al., (2020)** qui ont enregistré des taux de résistance aux Carbapénèmes de l'ordre de 100 % et de 70 % respectivement pour l'Ertapénème et l'Imipénème (Tableau N° 45). Tandis que, **Maamar et al., (2019)** avaient marqués un taux de résistance à l'Imipénem similaire à celui enregistré dans notre étude, cependant le taux de résistance à l'Ertapénème dans son étude était environ le double de celui enregistré dans notre étude (Tableau N° 45).

De plus, des taux résistance assez importante ont été enregistrées dans notre étude même contre les antibiotiques utilisés dans le traitement des infections liées aux Entérobactéries productrices de BLSE, d'AmpC et de CP, à savoir les Aminoglycoside (la Gentamicine, la Tobramycine et l'Amikacine), les Fluoroquinolones (la Ciprofloxacine) et la Fosfomycine (**Rodríguez-Baño et al., 2018**). Ce qui rend les options de traitement antibiotique pour les bactéries multi-résistantes et productrice des Carbapénèmase très limitées et coûteuses. Selon le tableau 46, ces résultats sont confirmés par ceux obtenu dans plusieurs autres études menées dans certains pays, comme celles réalisées en Espagne entre 2010 et 2012 (**Pena et al., 2014**),

Discussion générale

en Portugal entre les années 2018 et 2019 (Lopes *et al.*, 2020) et en Corée entre 2016 et 2019 (Jeong *et al.*, 2022), dans lesquelles des taux de co-résistances plus au moins élevés ont été enregistrés contre ces antibiotiques.

Tableau 46 : Comparaison des taux de résistance des souches d'E-CP vis-à-vis des antibiotiques de la famille d'Aminoglycosides, de fluoroquinolones et d'autres familles.

Antibiotiques testés	Taux de résistance %					
	Nos résultats	Pena <i>et al.</i> , 2014	Bouguen -oun <i>et al.</i> , 2016	Maamar <i>et al.</i> , 2019	Lopes <i>et al.</i> , 2020	Natoubi <i>et al.</i> , 2022
Aminoglycosides						
Tobramycine (TOB)	69.23 %	/	/	98 %	62 %	/
Gentamicine (GN)	39.74 %	36 %	33 %	98 %	34 %	100 %
Amikacine (AK)	33.33 %	22,8 %	00 %	55 %	25 %	90 %
Fluoroquinolones						
Ciprofloxacine (CIP)	50 %	92 %	33 %	83 %	76 %	100 %
Ofloxacine (OFX)	62.82 %	/	42 %	90 %	/	/
Autres antibiotiques						
Cotrimoxazole (COT)	61.53 %	/	50 %	33 %	10 %	100 %
Fosfomycine (FOS)	50 %	17 %	50 %	/	75 %	/

En revanche, la molécule dont l'activité était la plus conservée était la Nitrofurantoïne avec 15,38 % de résistance acquise. Une étude faite sur 64 souches d'EPCs collectées dans deux hôpitaux en Pakistan avait également trouvé des taux de résistance élevés à la majorité des antibiotiques testés, avec cependant une sensibilité remarquable à la Nitrofurantoïne seulement 22% des souches étaient résistantes à la Nitrofurantoïne (Perry *et al.*, 2011). Par conséquent, la relance d'agents antimicrobiens plus anciens tels que la Nitrofurantoïne pour le traitement des infections urinaires liées aux E-PC semble être une option réalisable.

II. Caractérisation moléculaire des gènes codant pour les BLSE, les CHN et les CP

Comme mentionné précédemment, la pression de sélection induite par la prescription généralisée et l'usage souvent abusif d'antibiotiques à large spectre est principalement responsable de ces niveaux alarmants de co-résistance aux antibiotiques (Ahmad *et al.*, 2021). Ce niveau élevé et variable de résistance est généralement le résultat d'une mutation dans les gènes chromosomiques, mais les Entérobactéries sont adaptées au partage de matériel génétique et leur résistance très importante est due aux gènes de résistance « mobiles » contre la plupart des antibiotiques notamment les bêta-lactamines (Partridge, 2015). La raison la plus courante

Discussion générale

de la résistance aux bêta-lactamines chez les Entérobactéries est l'expression d'enzymes bêta-lactamases (codées par des gènes *bla*) qui hydrolisent le cycle bêta-lactame, entraînant une inactivation (**Korzeniewska et Harnisz, 2013**). Différents types de bêta-lactamases tels que les BLSEs, les AmpCs et les CPs peuvent conférer une résistance à chacun des types de bêta-lactamines les plus importants sur le plan clinique (**Lynch et al., 2013**).

Dans notre étude, dix souches d'Entérobactéries productrices de différent types bêta-lactamases ont été choisies arbitrairement afin de caractériser les gènes de résistance de type BLSE (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} et *bla*_{CTX-M}), le gène de type AmpC (*bla*_{DHA}) et les gènes de résistance CPs classe B et D (*bla*_{VIM}, *bla*_{NDM} et *bla*_{OXA-48}) hébergés par ces souches d'Entérobactéries multi-résistantes et responsables des infections urinaires au niveau de la région de Tébessa (Algérie).

1. Caractérisation des gènes codant pour la production des BLSE

Le support génétique des BLSE produits par les 10 souches d'Entérobactéries étudiés dans notre travail était varié. Le gène *bla*_{CTX-M} a été détecté chez 70% des souches (07/10), tandis que chacun de *bla*_{SHV} et le *bla*_{TEM} ont été détectés chez 30% des souches (3/10). Cette prédominance du BLSE de type CTX-M pourrait expliquer les taux de résistance élevés aux céphalosporines de troisième génération observés chez les souches productrices de BLSE isolés dans notre étude. En effet, d'après **Mathlouthi et al., (2016)**, l'augmentation de la consommation de Céfotaxime et de Céfotazidime pourrait avoir contribué à l'émergence des BLSE, et notamment de ces enzymes de type CTX-M.

Comme le montre le tableau 47, nos résultats sont très proches à ceux rapportés dans des études précédentes réalisées dans différentes régions en Algérie : à Alger (**Touati et al., 2012**), à Annaba (**Nedjai et al., 2012**), à Tlemcen (**Zenati et al., 2019**), à Sétif (**Nabti et al., 2019**) et à Ouargla (**Khaldi et al., 2022**). Aussi, ces résultats correspondent aux données de la littérature qui rapportent que les variantes de type CTX-M des BLSE était le plus dominant dans de nombreux pays d'Afrique, d'Europe et d'Asie, comme la Tunisie (**Mansour et al., 2015**), le Maroc (**Arsalane et al., 2015**), le Nigéria (**Ogbolu et al., 2018**), l'Espagne (**Pérez et al., 2019**), la Chine (**Quan et al., 2021**), l'Iran (**Seyedjavadi et al., 2016**) et nombreux autres pays de monde (Tableau N° 47).

Discussion générale

Tableau N°47 : Comparaison des pourcentages de détection de *bla*_{CTX-M} chez les souches d'Entérobactéries uropathogènes.

Gènes	Lieux	Période	%	Référence
bla _{CTX-M}	Etude Algérienne			
	Tébessa	2018-2022	70 %	Nos résultats
	Alger	2008 – 2010	100 %	Touati <i>et al.</i>, 2012
	Annaba	2009	88 %	Nedjai <i>et al.</i>, 2012
	Tlemcen	2011 – 2013	100 %	Zenati <i>et al.</i>, 2019
	Sétif	2015 – 2017	100 %	Nabti <i>et al.</i>, 2019
	Ouargla	2017 – 2018	70 %	Khaldi <i>et al.</i>, 2022
	Etudes étrangères			
	Tunisie	2009 – 2011	100 %	Mansour <i>et al.</i>, 2015
	Maroc	2010 – 2012	70 %	Arsalane <i>et al.</i>, 2015
	Iran	2014 – 2015	74 %	Seyedjavadi <i>et al.</i>, 2016
	Nigéria	2017	83,3 %	Ogbolu <i>et al.</i>, 2018
	Espagne	2014 – 2016	52,15 %	Pérez <i>et al.</i>, 2019
	Chine	2017 – 2019	97,7 %	Quan <i>et al.</i>, 2021

Les autres enzymes de BLSE (SHV et TEM) ont été retrouvées à un moindre degré que les BLSE de type CTX-M dans notre étude. Ceci est confirmé par les données bibliographiques, où plusieurs études faisant état de progrès mondiaux continus dans la prolifération des isolats d'Entérobactéries produisant des BLSE de types CTX-M, alors que la plupart de ces études ont indiqué un déclin des BLSE les plus anciens qui sont les TEM et SHV (Castanheira *et al.*, 2021).

En Algérie, les gènes *bla*_{TEM} et *bla*_{SHV} ont été déjà retrouvés à des proportions variées dans des nombreux travaux dont une étude multicentrique réalisée dans l'ouest de l'Algérie au niveau de trois hôpitaux (hôpital de Tlemcen, d'Oran et de Sidi-Bel-Abbes), à mentionner que toutes les souches portaient un gène *bla*_{TEM}, alors que la présence du gène *bla*_{SHV} était faiblement enregistrée chez les Entérobactéries étudiés (Souana *et al.*, 2014) (Tableau N° 48). Différents taux de détection de ces gènes ont été enregistrés également dans plusieurs autres études algériennes telles que celles menées à Annaba (Nedjai *et al.*, 2012), à Bejaia (Gharout-Sait *et al.*, 2015), à Ouargla (Khaldi *et al.*, 2022) et à Boumerdes (Merah *et al.*, 2022) (Tableau

Discussion générale

N° 48). Selon le même tableau 48, plusieurs études récentes internationales ont montré que ces gènes ont été détectés chez des souches Entérobactéries responsables d'infections urinaires c'est l'exemples des études menées en Italie (**Bonardi et al., 2022**), au Sri Lanka (**Perera et al., 2022**), en Ouganda (**Muhwezi et al., 2022**), au Ghana (**Adedze et al., 2022**), en Tunisie (**Yengui et al., 2022**) et en Iran (**Sadeghi et al., 2022**).

Tableau N°48 : Comparaison des pourcentages de détection de *bla*_{TEM} et *bla*_{SHV} chez les souches d'Entérobactéries uropathogènes.

Lieux et Période		% de gènes		Référence
		<i>bla</i> _{TEM}	<i>bla</i> _{SHV}	
Etude Algérienne				
Tébessa	2018 – 2022	30 %	30 %	Nos résultats
Annaba	2009	36.5 %	31.1 %	Nedjai et al., 2012
l'ouest Algérienne	2009 - 2011	100 %	10 %	Souna et al., 2014
Bejaia	2005 - 2010	60,86 %	04,34 %	Gharout-Sait et al., 2015
Ouargla	2017 - 2018	75 %	50 %	Khaldi et al., 2022
Boumerdes	2012 - 2017	72.15 %	36.7 %	Merah et al., 2022
Etudes étrangères				
Italie	2014 - 2015	26,3 %	5.3 %	Bonardi et al., 2022
Ghana	2013 - 2015	71.4%	3.2%	Adedze et al., 2022
Sri Lanka	2015 - 2016	39%	17 %	Perera et al., 2022
Uganda	2022	30 %	23,3 %	Muhwezi et al., 2022
Tunisie	2018 – 2020	52,3 %	34%	Yengui et al., 2022
Iran	2018	36,4 %	34,7 %	Sadeghi et al., 2022

Il faut noter que les différents gènes de BLSE ont été trouvés chez plusieurs espèces d'Entérobactéries testés à savoir *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. liquefaciens*, *R. ornithinolytica* et *R. terrigena*. Ceci est cohérent avec plusieurs études confirmant la dissémination de ces gènes entre les espèces d'Entérobactéries (**Melo et al., 2018**). En effet, les BLSE de classe A (TEM, SHV et CTX-M) ont été trouvées principalement non seulement chez *Klebsiella* spp. et *Escherichia coli*, mais aussi chez d'autres espèces comme *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Citrobacter* spp., *Proteus* spp. et *Salmonella* spp. (**Markovska et al., 2014 ; Tamma et al., 2021**). En revanche, La détection des gènes BLSE chez les espèces

Discussion générale

de *R. ornithinolytica* et *R. terrigena* dans notre étude constituée l'un de nos résultats importantes et originales car ce type des gènes n'ont jamais été identifiés dans les espèces de *Raoultella* spp responsable des maladies urinaires dans aucune étude auparavant menée en Algérie.

Cette transmission des gènes codant pour les enzymes BLSE entre les membres de la famille d'*Entérobacteriaceae* peut se produire soit par des clones bactériens émergents, soit par transfert horizontal de gènes. Dans ce dernier cas, des plasmides contenant des gènes de résistance sont répartis entre des souches d'une même espèce et/ou d'espèces différentes (Brolund, 2014).

2. Caractérisation des gènes codant pour la production des Céphalosporinases plasmidiques AmpC

Dans la présente étude, le gène de type Céphalosporinase DHA a été caractérisé chez une seule souche d'*E. cloacae* productrice de BLSE et résistante au même temps au Céfoxitine. Des résultats similaires ont été obtenus dans une étude Marocaine, où un β -lactamase AmpC à médiation plasmidique DHA-1 a été trouvée dans une souche d'*E. cloacae* (Natoubi *et al.*, 2020).

Malheureusement, peu d'études en Algérie permettent de connaître la prévalence des Céphalosporinase de type DHA chez les espèces d'Entérobactéries uropathogènes. En effet, les Céphalosporinases type DHA ont été détectés en Algérie chez trois souches d'Entérobactéries au niveau de l'hôpital de Laghouat et de Ouargla (Nouria *et al.*, 2014 ; Khaldi *et al.*, 2022). En revanche, plusieurs autres études étrangères comme ceux réalisés en Egypte (Fam *et al.*, 2013), aux Pays-Bas (Van *et al.*, 2016), en Malaisie (Mohd *et al.*, 2016), en Indonésie (Diela *et al.*, 2017) et l'Iran (Rizi *et al.* 2020) ont montré les mêmes données, où il y a la diffusion des Céphalosporinases plasmidiques de type DHA associés à la production de β -lactamases à spectre étendue (BLSE) chez les souches d'Entérobactéries isolés dans ces études. Le tableau suivant montre la comparaison entre les taux de détection de *bla*_{DHA} chez nos souches et ceux rapportés dans les études mentionnées.

Tableau 49 : Comparaison des pourcentages de détection de *bla*_{DHA} chez les souches d'Entérobactéries uropathogènes.

Lieux	Période	% de <i>bla</i> _{DHA}	Référence
Etude Algérienne			
Tébessa	2018-2022	10 %	Nos résultats
Laghouate	2010-1012	33,33 %	Nouria <i>et al.</i>, 2014

Discussion générale

Ouargla	2017-1018	30%	Khaldi et al., 2022
Etudes étrangères			
Egypte	2008	23,5 %	Fam et al., 2013
Pays-Bas	2013 – 2015	04 %	Van et al., 2016
Malaisie	2012- 2014	0,9 %	Mohd et al., 2016
Indonésie	2014 – 2015	32.9%	Diela et al., 2017
Maroc	2012 – 2014	2,22 %	Natoubi et al., 2020
Iran	2018	06 %	Rizi et al. 2020

3. Caractérisation des gènes codant pour la production des Carbapénèmase

Concernant les gènes de résistance aux Carbapénèmes détectés, la fréquence du gène *bla_{NDM}* est le plus élevée dans notre étude avec un taux de 50% suivi par le gène *bla_{VIM}* (30%) et le gène *bla_{OXA-48}* (20%).

Les Carbapénèmase de type NDM (métallo- β -lactamase de New Delhi) sont les Carbapénémases les plus significatives sur le plan clinique (**Nordmann et al., 2014**). Plusieurs auteurs ont précédemment rapporté que le sous-continent indien, les régions des Balkans et le Moyen-Orient constituent le principal réservoir d'isolats producteurs de NDM (**Principe et al., 2017**). En se concentrant le continent africain, le variant NDM-1 a été identification pour la première fois en 2007 dans une souche de *K. pneumoniae* isolée des voies urinaires d'un patient hospitalisé au Kenya (**Poirel et al., 2011**). Cependant, en Algérie depuis la détection du *bla_{NDM}* pour la première fois chez *K. pneumoniae* résistants aux Carbapénèmes isolée à partir d'échantillons d'urine d'un patient hospitalisé au CHU d'Annaba (Algérie) en 2014, différentes espèces productrices de ce gène se sont propagées dans plusieurs régions d'Algérie (**Abderrahim et al., 2017**). Ceci confirme nos résultats où la détection de ce gène dans notre étude a été rapportée dans cinq espèces différentes (01 *K. pneumoniae*, 01 *E. cloacae*, 01 *E. aerogène*, 01 *R. ornithinolytica* et 01 *R. terrigena*). Ces résultats constituent la première découverte d'un gène *bla_{NDM}* chez des souches d'Entérobactéries uropathogènes en Extrême-Orient algérien.

Comme nous l'avons déjà mentionné le *bla_{VIM}* est le deuxième gène le plus détecté chez les E-CPs étudiés (01 *K. pneumoniae*, 01 *E. cloacae*, et 01 *R. terrigena*). L'apparition de MBL de type VIM en Algérie a été signalé pour la première fois avec le variant VIM-19 dans cinq

Discussion générale

souches d'Entérobactéries (02 *E. coli*, 02 *K.pneumoniae*, 01 *Providencia stuartii*) par **Robin et al., (2010)**, et pendant la même période d'étude deux souches *E. coli* et *K. pneumoniae* producteurs de VIM-19 ont été détectés chez un patient algérien (**Rodriguez et al., 2010**), et récemment, dans une autre étude menée à Sétif, le *bla_{VIM}* a été caractérisé chez une souche d'*E. cloacae* d'origine clinique (**Nabti et al., 2022**).

Pour la souche de *R. terregina* porteuse du gène *bla_{VIM}* qui a été détecté aussi dans notre étude chez une femme souffrant d'une infection urinaire grave et sur la base des résultats de la recherche bibliographique approfondie, la production de cette enzyme par *R. terregina* n'a été déterminée auparavant dans aucune étude antérieure. Cependant, les espèces bactériennes les plus productrices de *bla_{VIM}* sont généralement les espèces *Klebsiella* spp et *E. cloacae* (**Heller et al., 2012**). Et ce type d'enzyme couramment détecté en Europe et en Asie, et constitué une origine de situations endémiques en Espagne, en Italie, en Grèce, en Corée du Sud et au Taïwan (**Matsumura et al., 2017 ; Dziri et al., 2019**).

La caractérisation de ces gènes de MBL (*bla_{VIM}* et *bla_{NDM}*) chez les différentes espèces d'Entérobactériacae et leur dissémination dans divers pays est due à leur localisation sur des éléments génétiques mobiles (intégrons et plasmides), où ces éléments jouent un rôle clé dans la distribution interspécifique de ces gènes de classe B de Carbapénémases (**Rondinelli, 2022**).

Concernant les Carbapénémases de classe D, l'OXA-48 est la première enzyme découverte dans cette famille puis plusieurs variantes différentes par un petit nombre de substitutions d'acides aminés ont été rapportées (**Martínez et González, 2014**). Le gène codant pour cette enzyme (*bla_{OXA-48}*) est découvert pour la première fois au milieu des années 2000 en Turquie et a depuis été retrouvée dans de nombreux pays dans le monde notamment les pays européens et les pays d'Afrique du Nord (pays méditerranéens) (**Martínez et González, 2014 ; Ma et al., 2015**).

Dans notre étude, le *bla_{OXA-48}* a été détecté chez une souche d'*E. coli* (S 250), Ceci est cohérent avec plusieurs études qui ont été menées dans le but de déterminer la production de l'enzyme OXA-48 par des souches d'*E. coli* uropathogènes, telles que celles menées dans l'hôpital algérien de la ville d'Annaba (**Bourafa et al., 2018**), et celle réalisées dans deux hôpitaux universitaires iraniens par Solgi et son équipe en 2017 (**Solgi et al., 2017**). De plus, l'amplification des gènes codant pour les Carbapénémase dans la présente étude a révélé également la présence de *bla_{OXA-48}* dans une souche de *R. terregina* (S 170). Le présent cas illustre pour la première fois la détection de gène *bla_{OXA-48}* chez une souche de *R. terregina*

Discussion générale

extrêmement résistant aux médicaments dans un cas d'infection urinaire en Algérie. En outre, il s'agit seulement du deuxième rapport de cas de *R. terregina* producteur de cette classe d'oxacillinase à l'échelle internationale. Où a-t-il été découvert lors d'une précédente étude menée au Tunisie en 2021 (**Mellouli et al., 2021**).

L'isolement de ces deux bactéries productrices d'enzyme de type OXA-48 dans notre étude est en accord avec les données mentionnées dans plusieurs publications récentes qui ont montré que l'OXA-48 est l'une des Carbapénémases les plus répandues chez les *Enterobacteriaceae* d'origine clinique en Algérie et dans les pays d'Afrique du Nord (**Nabti et al., 2022 ; Loqman et al., 2021**).

Tableau 50 : Comparaison des pourcentages de détection des gènes *bla_{NDM}*, *bla_{VIM}* et *bla_{OXA-48}* chez les souches d'Entérobactéries uropathogènes.

Lieux et Période		% de gènes			Référence
		<i>bla_{NDM}</i>	<i>bla_{VIM}</i>	<i>bla_{OXA-48}</i>	
Etude Algérienne					
Tébessa	2018-2022	50 %	20 %	20 %	Nos résultats
Alger, Oran, Blida et Constantine	2012 - 2015	20 %	00 %	98,21 %	Aggoune et al., 2018
Sétif	2018	10 %	00 %	90 %	Nabti et al., 2022
Ouargla	2017 - 2018	20 %	20 %	00 %	Khaldi et al., 2022
Etudes étrangères					
Tunisie	2014 - 2016	7.8%	4.9%	81.6%	Ben Hela et al., 2018
Turquie	2014 - 2016	23,28 %	2,73 %	71,23 %	Cizmeci et al., 2017
France	2017	12,85 %	1,42 %	81,42 %	Boutal et al., 2018
Yémen	2015 - 2016	51,8 %	00 %	7,4 %	Alsharap et al., 2020
Chine	2016 - 2018	35.7%	00 %	7.3%	Han et al., 2020
Espagne	2005 - 2018	00 %	73.5%	18.8%	Mateos et al., 2021
Maroc	2018	20,61 %	5,3 %	30,05 %	Loqman et al., 2021
Brésil	2013 - 2015	16,2 %	0,2 %	2,4 %	Martins et al., 2018

4. Co-expression des gènes de résistance aux β -lactamines

La coproduction de différentes bêta-lactamases dans un seul isolat est une entité qui attire l'attention et qui est de plus en plus signalée pour plusieurs espèces d'Entérobactéries dans diverses études.

Dans notre étude, nous décrivons le premier cas d'une infection urinaire due à *Raoultella terrigena* coproductrice de *bla*_{CTX-M} et de *bla*_{NDM} chez un enfant de 8 ans. À notre connaissance, il s'agit des premiers rapports sur des *R. terrigena* co-productrices des gènes de résistance de type *bla*_{CTX-M} et *bla*_{NDM} en Algérie. La coproduction de ces gènes a été rarement rapportée dans le monde chez les espèces de *Raoultella* spp. En fait, il a été rapporté chez une souche de *R. ornithinolytica* isolé d'un échantillon des selles d'humain sains en chine en 2017 (Wang *et al.*, 2019).

Plusieurs travaux ont été réalisés sur l'espèce de *R. ornithinolytica* afin de corrélérer les profils de résistance de cette espèce avec leur production des bêta-lactamases à spectre élargie, d'AmpC et des Carbapénémase. Nombreux gènes codant pour ces enzymes ont été détectés au sein de souches de *R. ornithinolytica* à savoir le *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX} et le *bla*_{TME} (Zheng *et al.*, 2015 ; Wang *et al.*, 2019), les MBL (Sękowska, 2017) et l'OXA-48 (Cortés-Ortíz *et al.*, 2021). Une exception à cette tendance a été enregistré dans notre étude, ou une co-expression des gènes de BLSE avec un gène de Carbapénémases a été détectée chez un isolat de *R. ornithinolytica* isolé d'un patient hospitalisé au niveau de service de chirurgie interne, cet isolat était positif pour *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM} et *bla*_{SHV}. A notre connaissance, Il s'agit de la première description de la coexistence de ces trois gènes chez une souche de *R. ornithinolytica*. Selon notre recherche, le gène *bla*_{VIM} n'a pas été identifié, ni individuellement ni en combinaison avec ces gènes BLSE chez l'espèce de *R. ornithinolytica* dans d'autres études précédentes.

Il a été suggéré que les bêta-lactamases de type CTX-M et SHV étaient les BLSE prédominantes chez *Enterobacter* spp (Nilsen *et al.*, 2013). La présente étude a montré la co-occurrence de gène BLSE de type *bla*_{CTX-M} et de gène MBL de type *bla*_{NDM} dans une souche *E. aerogenes*. À notre connaissance, il n'y a aucune autre étude qui a rapporté cette espèce en tant qu'agent pathogène producteur de BLSE et de CP émergent en Algérie. Toutefois dans une étude qu'est portée sur la caractérisation des gènes BLSE et Carbapénémase parmi les isolats d'*Enterobacter* spp d'une population iranienne hospitalisée, l'espèce *E. aerogenes* coproductrice de BLSE et des Carbapénémase a été isolée à partir d'échantillons cliniques

Discussion générale

(Khashei *et al.*, 2020). Aussi, le *bla*_{NDM} a été plus récemment détecté individuellement chez trois souches d'*E. aerogenes* isolées chez des patients cancéreux en chine (Shen *et al.*, 2017).

La coexistence de BLSE et de MBL dans notre étude a été signalée également chez une souche de *K. pneumoniae*, Cette souche était porteuse de trois gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{VIM} et *bla*_{NDM}. La combinaison de ces trois types d'enzymes de bêta-lactamases est enregistrée pour la première fois dans la même souche de *K. pneumoniae* dans notre travail. Cependant, des études antérieures suggèrent que la production de métallobêta-lactamase comme *bla*_{NDM} et *bla*_{VIM} couplée aux gènes BLSE telles que le *bla*_{CTX-M}, le *bla*_{SHV} et *bla*_{TEM} joue un rôle important dans la résistance des *K. pneumoniae*. C'est l'exemple de l'étude de Jin *et al* en Chine, dans laquelle 18 souches de *K. pneumoniae* étaient coproductrices de *bla*_{NDM}, *bla*_{TEM} et *bla*_{CTX} (Jin *et al.*, 2015). De plus, une cooccurrence de gènes de métallobêta-lactamase *bla*_{NDM} et *bla*_{VIM} ont été rapporté chez une souche de *K. pneumoniae* dans deux études réalisées en Afrique de nord, c'est l'étude de Barguigua *et al.*, (2012) au Maroc et celle de Dziri *et al.*, (2019) et son équipe en Tunisie.

Notre étude rapporte des schémas plus importants de cooccurrence de différents bêta-lactamases dans deux isolats parmi les dix souches sélectionnées pour le dépistage des gènes de résistance au bêta-lactamine. Les gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{NDM} et *bla*_{DHA} ont été détectés simultanément chez la souche d'*Enterobacter cloacae*. En revanche, la coexistence des gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{SHV}, *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA-48} et *bla*_{VIM} a été signalé chez une autre souche d'*E. coli*. Ces résultats n'ont été rapportés dans aucune étude antérieure et ces cas sont les premiers rapports de ce type de coproduction de bêta-lactamase à spectre étendu, de Carbapénèmases de classe D et de classe B et des Céphalosporinase de types AmpC au sein de même isolat d'Entérobactérie.

Bien que, de nombreux cas de production mixte d'enzymes bêta-lactamases aient été identifiés dans plusieurs études antérieures, comme celle effectuée en France (Nordmann *et al.*, 2012), en chine (Zhou *et al.*, 2020), en Inde (Gajdács *et al.*, 2020) et dans la région Asie-Pacifique (Chen *et al.*, 2021). Dans ces études, deux à quatre marqueurs de résistance au bêta-lactamine telles que *bla*_{OXA-48}, *bla*_{KPC}, *bla*_{VIM}, *bla*_{NDM}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CMY} et *bla*_{DHA} à on le trouve en association chez certaines souches d'Entérobactéries.

III. Les molécules bioactives des plantes médicinales comme alternatives thérapeutiques contre les Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP

La troisième partie de notre étude a été menée dans le but de rechercher d'autres alternatives thérapeutiques contre la désamination et la propagation de Entérobactéries productrices de bêta-lactamase. Selon les données de la littérature, les huiles essentielles (HE) et les extraits de plantes peuvent être constitués une alternative thérapeutique contre les micro-organismes pathogènes, car elles présentent des activités antibactériennes, antifongiques et antivirales et elles sont obtenues facilement à partir de diverses plantes par différentes techniques, notamment la fermentation, l'enfleurage, l'extraction et la distillation à la vapeur (hydro-distillation) (Bilal *et al.*, 2017).

En effet, différents modes de fonctionnement ont été proposés pour les potentiels antimicrobiens des huiles essentielles disponibles dans les plantes médicinales. En raison de la présence de nombreux composés et du large profil chimique des extraits et des composants des huiles essentielles, il est probable qu'un seul mécanisme ne provoque pas de potentiel antimicrobien ; mais plusieurs mécanismes de fonctions antimicrobiennes sont considérés au niveau cellulaire. En bref, certains mécanismes majeurs des activités antimicrobiennes des extraits et des huiles essentielles de plantes ont déjà été résumés par plusieurs chercheurs. Notamment : la décomposition de la membrane cytoplasmique des cellules bactériennes, la perturbation et l'inactivation du fonctionnement de la membrane externe des bactéries gram-négatives en abandonnant les lipo-polysaccharides, la réduction de l'ATP intracellulaire, l'interruption du flux d'électrons et du transport actif, l'inactivation des enzymes extracellulaires, la réduction de l'ATP intracellulaire et la coagulation du contenu interne des cellules (Djilani et Dicko, 2012 ; Radaelli *et al.*, 2016).

Dans ce cadre, nous avons étudié l'activité antibactérienne des huiles essentielles et des extraits phénoliques de trois plantes médicinales utilisées en médecine traditionnelle algérienne, qui sont la marjolaine « *Origanum majorana* L. », le Myrte « *Myrtus communis* L. » et la sauge « *Salvia officinalis* L. » afin de découvrir de nouvelles voies alternatives pour limiter les infections urinaires à l'ère de la multirésistance aux antibiotiques.

Discussion générale

1. Rendements et compositions chimiques des huiles essentielles extraites

Le rendement en HE extraites des plantes par hydrodistillation est variable en fonction de l'origine géographique, la période de récolte, les techniques d'extraction, la température le moment de l'extraction et de l'organe utilisé (feuilles, fleurs ou fruits) (**Paudel et al., 2022**). Dans notre étude les rendements en HEs sont variables selon les espèces. Pour l'*Origanum majorana* L., une teneur importante de 3,4% a été obtenu. D'après le tableau 51, cette teneur en huile est supérieure à celle obtenue dans une autre étude algérienne dans laquelle les feuilles de l'origan ont été récolté au mois de juin de l'année 2008 dans la région de Khemis-Miliana dans la wilaya de Ain-Defla (**Brada et al., 2012**). La quantité d'huile d'OM obtenue dans notre étude est également supérieure à celle obtenue dans des études menées dans différentes régions du monde, telles que celles menées dans des pays d'Afrique du Nord comme le Maroc et la Tunisie (**El-Akhal et al., 2014 ; Hajlaoui et al., 2016**), ou celles menées en Europe et en Asie (**Nurzyńska et al., 2015 ; Paudel et al., 2022**) (Tableau N° 51).

Concernant l'espèce *Myrtus communis* L., ce dernier a donné un rendement en HE de 1,4%. Ce rendement est très proche de celui obtenu par (**Mulas et al., 2011**) en Italie. Mais il est supérieur à ceux obtenus par (**Ghasemi et al., 2011**) en Iran, par (**Bouzabata et al., 2015**) en Algérie et par (**Fadil et al., 2016**) en Maroc (Tableau N° 51).

Comme le montre le tableau ci-dessous, une quantité importante d'huile essentielle a été extraite également à partir des feuilles de *Salvia officinalis* L. dans notre travail, soit de 2,9%. Cette quantité reste proche de celui cité précédemment dans une autre étude nationale (2,1%) des feuilles de sauge récoltées dans la région de Batna (**Lakhal et al., 2013**). Au Portugal aussi, un rendement d'huile extraite à partir des feuilles de sauge séchées commercialisés était similaire (2,1%) (**Miguel et al., 2011**). Cependant, des quantités plus faibles en HE de MC ont été obtenues dans des études réalisées dans les pays d'Afrique du Nord à savoir l'étude de **Bouajaj et al., (2013)** en Maroc, celle de **El Euch et al., (2019)** en Tunisie et celle de **Abou Baker et al., (2021)** en Egypte.

Discussion générale

Tableau 51 : Variation du rendement en huiles essentielles en fonction de l'origine d'OM, du MC et du SO et de la période de récolte.

Partie de la plante utilisée	Période et site de la récolte	Rendements	Références
<i>Origanum majorana</i> L.			
Feuilles	(Mars 2020) - Guelma « Algérie »	3,4 %	Nos résultats
Feuilles	(Juin 2008) - Ain-Defla « Algérie »	1,2 %	Brada et al., 2012
Feuilles	(Mars 2010) - Taounat « Maroc »	0,8%	El-Akhal et al., 2014
Feuilles	(Juillet et octobre 2015) - Lublin « Pologne »	2,36 %	Nurzyńska et al., 2015
Feuilles	(Juin 2012) - Zaghouan « Tunisie »	1.85%	Hajlaoui et al., 2016
Feuilles	(2021) - Katmandou et Bhaktapur « Népal »	0,5% et 0,8%	Paudel et al., 2022
<i>Myrtus communis</i> L.			
Feuilles	(Avril- Mai 2020) - Souk Ahras « Algérie »	1,4 %	Nos résultats
Feuilles	(Mai 2007 et 2008) et (décembre 2007) - Sardaigne « Italie »	1,6 %	Mulas et al., 2011
Feuilles	(Juillet 2009) - Manjil « Iran »	0,47 %	Ghasemi et al., 2011
Feuilles et fleurs	(Mai-juin 2010) - « Algérie »	1,0 %	Bouzabata et al., 2015
Feuilles	(Octobre 2015) - Taounat-Al Houceima « Maroc »	0,48 à 1,06 %	Fadil et al., 2016
<i>Salvia officinalis</i> L.			
Feuilles	(Avril 2020) - Sétif « Algérie »	2,9 %	Nos résultats
Parties aériennes	La plante commerciale séchée « Portugal »	2.1%	Miguel et al., 2011
Feuilles	(Mai 2013) - Batna « Algérie »	2.1%	Lakhal et al., 2013
Partie aériennes	(Montagnes de l'Atlas) Ourika – Marrakech au Maroc	0.8%	Bouajaj et al., 2013
Feuilles	(Mars 2013) - Marsa « Tunisie »	1.03%	El Euch et al., 2019
Partie aériennes	(Printemps 2020) - Caire « Égypte »	1.3%	Abou Baker et al., 2021

Autre que les rendements d'huile essentielle, les variations du contenu chimique et des compositions de l'huile pourraient être attribuées également à plusieurs facteurs, tels que les conditions agro-climatiques variées (climatiques, saisonnières, géographiques) des régions, les régimes d'isolement, les espèces végétales, le métabolisme adaptatif des plantes et la partie de plante analysée (**Paudel et al., 2022**).

Discussion générale

Dans notre étude, l'analyse de la composition chimique des huiles essentielles des feuilles de marjolaine, de myrte et de sauge par GC/MS a révélé la présence de plusieurs composants majoritaires (Tableau 52, 53 et 54). Les monoterpènes oxygénés et hydrocarbonés, les époxydes, les alcools terpénique et les sesquiterpènes étaient les groupes chimiques prédominant dans les huiles analysées.

Selon les données bibliographiques, les monoterpénoïdes oxygénés, les hydrocarbures monoterpéniques et les hydrocarbures sesquiterpéniques étaient les principales classes de terpènes des huiles essentielles d'*O. majorana*. Les résultats obtenus dans notre travail sont conformes aux rapports de plusieurs études réalisées antérieurement car elles ont également mentionné que le terpinène-4-ol est le composé le plus prédominant, ainsi que d'autres composés majeurs dans les HE de marjolaine (Shrestha *et al.*, 2012 ; Abbasi-Maleki *et al.*, 2020). Le tableau 52 montre les principaux composants de l'huile essentielle d'*Origanum majorana* de différents pays. De manière similaire, une étude menée sur l'HE d'OM de l'Italie a constaté que le terpinène-4-ol, δ -2-carène et le camphène comme composants principaux (Della *et al.*, 2019). Certaines autres études ont rapporté que le terpinène-4-ol, seul ou en combinaison avec l'hydrate de cis-sabinène, l' α -terpinene, β -terpinéol... etc était le constituant prédominant, avec quelques autres molécules, tels que le l'endo-Fenchyl-acetate, le γ -terpinène, le sabinène et le p-cymène dans l'huile de majorana (Raina et Negi, 2012 ; Amor *et al.*, 2019 ; Kimera *et al.*, 2021). Cependant, certaines autres études comme celle menée en Algérie ont rapporté que le β -caryophyllène et le α -terpinolène étaient les composés prédominants dans l'HE de marjolaine (Brada *et al.*, 2012). De même, l'huile d'*O. majorana* de Taounate en Maroc présentait du 4-terpinène comme composant principal (El-Akhal *et al.*, 2014). En général, l'HE d'*O. majorana* est riche en terpinène-4-ol, cis-sabinène hydraté, γ -terpinène, α -terpinène, α -terpinéol, p-cymène, ce qui peut être clairement observé dans le tableau N° 52.

Tableau N° 52 : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles d'*Origanum majorana* en fonction de leur origine.

Lieux et périodes de récolte	Composants majoritaire (> 3%)	Références
2020 Guelma - Algérie	Terpinen-4-ol (34,17%), δ -Terpinene (11,52%), L- α -Terpineol (8,74%) et α -Terpinene (6,96%). β -Sabinene (3,15%) et α -Terpinolene (3,15%).	Nos résultats
Juin 2008 Ain-Defla – Algérie	β -caryophyllène (26.0 %), α -terpinolène (14.7 %), γ -terpinène (10.9 %), sabinène (9.5 %), Myrcène (4,7%), α -Terpinène (3,9%) et cymène (3%)	Brada <i>et al.</i>, 2012

Discussion générale

Avril et mai en 2007 et 2008 Bhowali - Inde	Terpinène-4-ol (31,15 %), cis-sabinène hydraté (15,76 %), p-cymène (6,83 %), sabinène (6,91 %), trans-sabinène hydraté (3,86 %), et -terpinéol (3,71 %)	Raina et Negi, 2012
Mars 2010 Taounate -Maroc	4-terpinène (28,96%), γ -terpinène (18,57%) et α -terpinène (12,72%), Sabinène (8,02%), Acétate de linalyle (5,63%), Terpinolene (4,06%), β -phellandrene (3,83%).	El-Akhal et al., 2014
2018 Cilento - Italie	Terpinène-4-ol (29,6 %), δ -2-carène (20,1 %), camphène (13,4 %) et α -pinène (7,9 %), hydrate de cis-sabinène (5,4 %), trans-Isolimonène (5,2 %)	Della et al., 2019
Azzemour – Maroc	terpinen-4-ol (34.1%), α -terpinene (19.2%), endo-Fenchyl-acetate (9,8%), terpineol (8.9%), α -Pinene (4,1%), 1,8 Cineole (3,1%),	Amor et al., 2019
Entre juillet 2018 et avril 2019 Caire - Égypte	Terpinène-4-ol (29,12%), β -terpinéol (14,5 %), γ -terpinène (12,92%), α -terpinène (7,71%), sabinène (9,25%) et hydrate de cis-sabinène (7,44%).	Kimera et al., 2021

Dans le cas de *Myrtus communis*, la composition de l'huile essentielle de Myrte est majoritairement composée d'hydrocarbures monoterpéniques (27,66%) ; l' α -pinène et l'Eucalyptol étant identifiés comme les principaux composants suivis par, le α -Fenchyl alcohol, le α -Terpineol, le Geranyl acetate et Linaloyl acetate. Notre huile était caractérisée également par l'absence d'acétate de myrtényle. Selon le Tableau 53, ces compositions sont en accord avec celles de divers échantillons d'huile de myrte caractérisés par des quantités élevées d' α -pinène et un manque d'acétate de myrtényle comme celle d'origine turque, dans ce dernier le α -pinene, Eucalyptol, et β -fenchyl alcohol étaient les molécules majoritaires dans l'échantillon de l'HE de MC étudié par **Kaya et al., (2020)**. En revanche, L'huile extraite par hydrodistillation des feuilles de *M. communis* cultivées en divers endroits en Monténégro en Iran et en Tunisie contenait majoritairement de l' α -pinène et 1,8-cinéole avec d'autres molécules à savoir le myrtenyl acetate, le limonène, le Linalool et Linaloyl acetate (**Mimica et al.,2010 ; Zomorodian et al., 2013 ; Dhifi et al., 2020**). Au niveau national, le limonène, l' α -pinène, l'octadiénol, et le 1,8 cinéole ont été trouvés comme les composants les plus abondants dans une huile essentielle de myrte Algérienne (**Touaibia, 2015**). Cependant, une huile Italienne Analysée par Caputo et al se caractérise par une teneur élevée en acétate de myrtényle (29,8%), en 1,8-cinéole (21,9 %) et une faible teneur en α -pinène (14,7 %) (**Caputo et al., 2022**).

Discussion générale

Tableau 53 : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Myrtus communis* L. en fonction de leur origine.

Lieux et périodes de récolte	Composants majoritaire (> 3%)	Références
2020 Souk Ahras - Algérie	α -Pinene (38,38%), Eucalyptol (27,18%), α -Fenchyl alcohol (6,23%), α -Terpineol (4,91%), Geranyl acetate (4,66%) et Linaloyl acetate (3,41%)	Nos résultats
2009 Monténégro	α -pinene (35.9%), 1,8-cineole (23.9%), myrtenyl acetate (21.6%) et linalool (10.9%)	Mimica et al., 2010
Mai 2008 Fars – Iran	α -Pinene (39,2%), 1,8-Cineole (22%) Linalool (18,4%) et Linaloyl acetate (3,6%)	Zomorodian et al., 2013
2012 Ain defla- Algérie	Limonène (16,22%), α -pinène (15,93%), octadiénol (15,04%), 1,8 cinéole (9,12%), linalool (7,49%), bornylène (4,64 %), α -terpinéol (4,30%), α -caryophyllène (4,14%) et bergamiol (3,13%)	Touaibia, 2015
Turque 2020	α -pinene (55,09%), eucalyptol (33,14%) et β -fenchyl alcohol (3.20%)	Kaya et al., 2020
Juin 2016 Elkef – Tunisi	α -pinène (35,20 %), 1,8-cinéole (17 %), limonène (8,94 %), méthyl eugénol (6,98 %), linalol (6,17 %), acétate de géranyle (4,42 %), acétate de terpényle (4,30 %), transcaryophyllène (4,04%)	Dhifi et al., 2020
Février 2020 Salerne - Italie	L'acétate de myrtényle (29,8 %), le 1,8-cinéole (21,9 %), l' α -pinène (14,7 %), le linalol (9,1 %) et l'isobutanoate d'heptyle (3,2 %)	Caputo et al., 2022

Pour les HE de l'espèce *Salvia officinalis* L., les résultats obtenus dans la présente étude étaient cohérents avec les résultats rapportés dans la littérature, à quelques exceptions près concernant les composés et leurs proportions dans l'huile essentielle de *S. officinalis*. En effet, *S. officinalis* produit des quantités importantes d'huiles essentielles avec des compositions variables de différents facteurs. De nombreuses études sont focalisées sur la composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis* dérivée de plantes poussant dans divers pays et ont rapporté des variations dans la composition et les concentrations des composés (**Harizia et al., 2021**). Les composés chimiques les plus abondants dans notre échantillon d'huile de sauge sont le Camphor (18,34%), α -Thujone (14,57%), l'Eucalyptol (13,07%) et Ledol (10,45%) et à une moindre proportion le β -Thujone (4,86%) et l' α -Pinene (3,81%). Ces résultats sont proches aux données obtenues dans des études Tunisienne précédentes, qui ont montré que le Camphor, le 1,8-cineole, l' α -Thujone, le Camphene et le β -Thujone sont les principaux composants

Discussion générale

volatils dans l'HESO (**El Euch et al., 2019**) (Tableau N° 54). En revanche, plusieurs exemples de composition chimique de l'huile essentielle de *S. officinalis* à partir de feuilles appartenant à différentes régions et décrites par de nombreux auteurs ont montré que le composant le plus abondant dans ces études était toujours le α -thujone avec de la Camphor ont été donnés ci-après (Tableau N° 54) (**Lakhal et al., 2013 ; Tosun et al., 2014 ; Farahpour et al., 2020 ; Al-Mijalli et al., 2022**).

Tableau N° 54 : Composition chimique des huiles essentielles des feuilles de *Salvia officinalis* L. en fonction de leur origine.

Lieux et périodes de récolte	Composants majoritaire (> 3%)	Références
Sétif – Algérie	Camphor(18,34%), α -Thujone (14,57%), Eucalyptol(13,07%) et Ledol (10,45%), β -Thujone (4,86%), α -Pinene (3,81%) et Epimanol (3,17%)	Nos résultats
Mai 2013 Batna - Algérie	α -thujone (24,52%), Camphor (16,86%), 1,8-cineole (15,92%), β -thujone (6,50%), veridiflorol (6,35%), α -Pinene (3,72%), p-Cymene (3,60) et Camphene (3,28%)	Lakhal et al., 2013
Au mois de juin- 2011 Albanie	α -Thujone (30,7%), Camphor (26,6%) and 1, 8-cineole (14,7%), β -Thujone (5,38%), Camphene (4, 15%) et Bornyl acetate (3,15%)	Tosun et al., 2014
Mars 2013 Marsa - Tunisie	Camphor (33,61%), 1,8-cineole (22,22%), α -Thujone (21,43%), Camphene (4,88%) et β -Thujone (3,98%)	El Euch et al., 2019
Janvier 2017 Urmia- Azerbaïdjan	Cis- Thujone (26,8 %), camphre (16,4 %), trans- Thujone (14,1 %) et 1,8-cinéole (10,8 %), viridiflorol (4,3 %) et bornéol (3,5 %)	Farahpour et al., 2020
Avril 2021, Taza - Maroc	α -thujone (33,77%), camphor (12,28%), humulene (12,19%), caryophyllene (11,52%), naphthalene (9,94%), eucalyptol (8,11%), α - β -pinene et (3,31%)	Al-Mijalli et al., 2022

2. Le pouvoir antibactérien des huiles essentielles

L'inhibition par les HE de la croissance bactérienne, y compris des souches BMR, pourrait être due à leur capacité à dégrader les protéines membranaires et la perméabilité cellulaire (**Iseppi et al., 2020**). Dans la présente étude, le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles des feuilles d'*O majorana*, de *M communis* et de *S officinalis* a été testé vis-à-vis de 20 souches d'Entérobactéries multirésistantes et productrices des bêta-lactamases de type BLSE, CHN, et CP. Il s'agit d'une étude menée pour évaluer l'effet inhibiteur des huiles

Discussion générale

essentielles de ces trois espèces végétales sur la croissance des espèces variés d'Entérobactéries productrices de bêta-lactamases de différentes classes.

Les HE de d'O *majorana* a montré la meilleure activité antibactérienne contre la plupart des espèces testées avec des zone d'inhibition entre 10 à 43 mm de diamètre, et des concentrations minimales inhibitrices allant de 2,34 à 100 µl/ml. Les données de valeurs de CMI ont confirmé la bonne activité des HE d'O *majorana* contre ces souches multi-résistantes aux antibiotiques. Cet effet inhibiteur est probablement dû à l'action du composé majeur terpinène-4-ol, qui agirait en inhibant la respiration oxydative, induisant une déformation de la membrane (dilatation) avec des changements conséquents dans la perméabilité de la membrane selon (Busattaa *et al.*, 2008 ; Loughlin *et al.*, 2008). De plus, notre huile est composée de divers constituants principaux comme l'α-terpinene, le γ-terpinène, le β-Sabinene, le limonene, le caryophyllene oxide, le thymol et l'hydrate de cis-sabinène, les effets synergiques de ces composés doivent être pris en compte en ce qui concerne l'activité antibactérienne. Cela est confirmé par plusieurs autres études qui ont montré que les propriétés antibactériennes de l'HE de la marjolaine sont associées à la présence des monoterpènes oxygénés, des terpenoids et d'autres composés tels que γ-terpinène, β- caryophyllène, sabinène, l'hydrate de cis-sabinène, le thymol et le Limonene (ramos *et al.*, 2011 ; Radaelli *et al.*, 2016 ; Bialoń *et al.*, 2017).

En termes de pouvoir inhibiteur, l'huile essentielle de la feuille de *Salvia officinalis* a exercé également une bonne activité antimicrobienne contre la plupart des souches d'Entérobactéries testées avec des valeurs de 3,12 à 100 µl/ml pour la CMI et 6,25 à >100 µl/ml pour la CMB.

La richesse de cette huile par des composants volatiles ayant une activité antimicrobienne telle que le Camphor, l'α-Thujone, l'Eucalyptol, le Ledol, le β-Thujone, l'α-Pinene et l'Epimanol explique leur efficacité contre les bactéries testées (Mighri *et al.*, 2010 ; Miguel *et al.*, 2011). Ceci et en accord avec des nombreuses recherches qui ont rapporté que les activités antimicrobiennes des huiles essentielles de *S. officinalis* étaient dues à la présence de certains constituants chimiques majeur comme le 1,8-cinéole et le camphore qui sont des produits chimiques bien connu et possèdent des activités antifongiques et antibactériennes intéressantes (Khalil et Li, 2011). Les composants mineurs caractérisés dans notre HESO à savoir le bornéol, le β-pinène peuvent également jouer un rôle clé contre les bactéries. Cela a été confirmé par Dorman et Deans, (2000) qui ont déclaré que des composants mineurs de

Discussion générale

l'huile essentielle telle que l' α -pinène et le bornéol ont des activités antimicrobiennes. Aussi, les effets antimicrobiens du bornéol ont également été rapportés par (**Vardar-Unlu et al. 2003**).

Selon les diamètres moyennes des zones d'inhibitions des Entérobactéries testés, l'activité de HE de *Myrtus communis* enregistrée (12,40mm) a été la plus faible en comparaison avec celle de *Origanum majorana* L. (17,67 mm) et celle *Salvia officinalis* L. (15,41mm). Les principales molécules identifiées dans notre échantillon d'huile de myrte étaient l' α -Pinene, l'Eucalyptol, l' α -Fenchyl alcohol, l' α -Terpineol, le Geranyl acetate et le Linaloyl acetate. Cela peut expliquer les résultats obtenus en ce qui concerne l'effet inhibiteur de la croissance de souches par cette huile (**Hennia et al., 2019**). Nos résultats sont confirmés aussi par plusieurs études antérieurs portant sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne des huiles de *Myrtus communis*. Dans lesquelles, la différence observée dans la sensibilité des différents micro-organismes est essentiellement due à la composition chimique d'HE de myrte, notamment la présence de monoterpènes tels que l'Eucalyptol, 1,8-cinéole et l' α -pinène. Ces composés appartiennent aux groupes des éthers et des hydrocarbures, et ils sont bien connus pour leurs propriétés antimicrobiennes (**Juergens et al., 2017**). Il est à signaler que probablement l'effet synergique entre tous les composants de l'huile essentielle de *M. communis* peut être attribué à l'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (**El Hartiti et al., 2020**).

En comparaison avec les profils de sensibilité et de résistance aux antibiotiques des souches testées, les huiles essentielles d'*O. majorana*, de *M. communis* et de *S. officinalis* ont montré une meilleure activité antimicrobienne contre ces bactéries, mais les différences de sensibilité de ces bactéries d'essais aux HEs pourraient être attribuées à la variation du taux de pénétration des constituants de l'HE à travers la paroi cellulaire et les structures membranaires des bactéries (**Hajlaoui et al., 2016**). Ou à la variation de la composition chimique des huiles et leur polarité qui influence la capacité de diffusion de ces différents composés dans le milieu gélosé, ce qui responsable de la variation des largeurs de zone inhibitrice d'un échantillon d'huile à l'autre (**Saad et al., 2012**).

En générale, l'efficacité des HEs testés dans notre étude contre des souches d'Entérobactéries multirésistantes aux antibiotiques et productrice de BLSE de CHN de type AmpC et de CP est très importante. Ce qui fait de ces huiles essentielles des alternatives intéressantes aux antibiotiques dans la lutte contre les bactéries pathogènes multirésistantes.

En outre, plusieurs études ont montré que l'activité antibactérienne des plantes est attribuée à leurs composés phénoliques. Dans la présente étude, nous avons également étudié

Discussion générale

in vitro le pouvoir antimicrobien des fractions phénoliques spécifiques de nos plantes étudiées (*O. majorana*, *M. communis* et *S. officinalis*) contre les vingt souches sélectionnées afin d'évaluer la capacité de ces fractions à produire des composés phénoliques bioactifs, pouvant présenter un effet thérapeutique antibactérien.

3. Rendements et dosage des polyphénols totaux des extraits phénoliques

D'après les résultats de tableau 18, le rendement de la fraction n-Butanol a montré un taux d'extraction le plus élevé pour les trois plantes étudiées par rapport à ceux des fractions d'acétate d'éthyle et de chloroforme qui ont montrés des rendements plus au moins élevés. Cela pourrait supposer la richesse des feuilles d'*O. majorana*, de *M. communis* et de *S. officinalis* en composés de polarité élevée dont les composés phénoliques, étant donnés leur richesse en groupement hydroxyle.

La différence de rendement des trois fractions obtenues pour chacune des plantes étudiées est due à la différence de la nature chimique des composés phénoliques de l'extrait et de la nature de solvant utilisé (les interactions composé/solvant). La différence dans les polarités des solvants d'extraction influence la solubilité des constituants chimiques d'un échantillon ainsi que le rendement d'extraction (**Lefebvre et al., 2021**), ce qui explique les teneurs obtenues avec les trois solvants utilisés dans notre travail. Selon **Jovanović et al., (2017)**, le taux d'extraction des composés phénoliques est influencé par la taille des particules de l'échantillon et la meilleure extraction est obtenue avec les particules les plus fines, en raison de l'augmentation de la surface active et du contact accru du matière végétale avec le solvant, ce qui entraîne une réduction du temps d'extraction.

Dans notre étude, la détermination de la teneur en polyphénols totaux des différents extraits a été réalisée selon la méthode de Folin-Ciocalteu. Les résultats obtenus (Figure 61) ont montré que, les polyphénols totaux sont présents dans les trois fractions (Acétate d'éthyle, Chloroforme et n-Butanol) avec des teneurs variables d'une fraction à une autre et d'une plante à une autre. D'après ces résultats, il paraît clairement que l'acétate d'éthyle est le solvant qui permet d'avoir un rendement en polyphénols totaux plus élevé avec les trois plantes utilisées dans notre étude avec des teneurs de ($585,765 \pm 0,79$ mg EAG /g ; $562,91 \pm 1,17$ mg EAG /g et $462,77 \pm 2,77$ mg EAG /g) pour l'*O. majorana*, le *M. communis* et la *S. officinalis* respectivement. Ces résultats ne vont pas dans le même sens que ceux d'**Erenler et al., (2016)** qui ont montré que la teneur en phénols totaux dans l'extrait d'acétate d'éthyle des feuilles d'*O. majorana* est de l'ordre de ($8485,9$ mg EAG /g). En outre, **Bouaziz et al., (2015)** ont rapportés

Discussion générale

une teneur en polyphénols totaux des feuilles de *M. communis* de l'ordre de (435.37±3.15 mg EAG /g) pour l'extrait d'acétate d'éthyle, ce résultat est plus bas que la teneur obtenue dans notre travail. Cependant **Mahdi et al., (2020)**, ont trouvé une valeur assez proche de nos résultats avec une teneur en polyphénols de (450.51 ± 0.6 mg EAG/g) pour un extrait d'acétate d'éthyle de la partie aérienne de la plante *S. officinalis*.

D'autre part, nous avons noté des teneurs importantes en polyphénols totaux pour les fractions chloroformique de *M. communis* (379,41±0,04 mg EAG /g) et de *S. officinalis* (239,85 ± 1,21 mg EAG /g) avec une teneur de (88,40 ± 1,10 mg EAG /g) pour l'espèce d'*O. majorana*. Ceci n'est pas cohérent avec plusieurs autres études, où des quantités plus faibles des polyphénols totaux ont été obtenues dans des fractions de chloroforme, avec des teneurs de (47,54 mg GAE/g) pour l'espèce *O. majorana* (**Semiz et al., 2018**), (186.96±1.69 mg EAG /g) pour les feuilles de *M. communis* (**Bouaziz et al., 2015**) et (73.7 ± 2.6 mg GAE/g) pour l'espèce de *S. officinalis* (**Kontogianni et al., 2013**).

Pour la fraction de n-butanol, des teneurs respectives de 311,32 ± 1,12 mg EAG /g, de 295,37 ± 0,13 mg EAG /g et de 219,12 ± 1,52 mg EAG /g ont été rapportés respectivement pour les espèces *O. majorana*, *S. officinalis* et *M. communis*. Presque le même teneur en polyphénol bioactive a été évalué pour une fraction butanolique des feuilles de l'*O. majorana* par Erenler et ses collaborateurs, soit de (307.7 ± 8.4 mg EAG /g) (**Erenler et al., 2017**). Cependant, comme rapporté précédemment par certains auteurs (**Snoussiet et al., 2013 ; Khiya et al., 2021**) des teneurs faibles en polyphénols de l'ordre de (70.5 mg EAG /g) et (50.4 mg GAE/g) ont été obtenues respectivement dans des fractions de butanol des feuilles de *S. officinalis* et de *M. communis*.

En fait, le contenu polyphénolique varie qualitativement et quantitativement d'une plante à l'autre, cela peut être attribué à plusieurs facteurs tels que les facteurs agro-climatiques et environnementaux comme la zone géographique (lieu de récolte), la période de la récolte, la sécheresse, le sol... etc. Avec le patrimoine génétique de la plante, et le stade de développement de la plante. Toutefois, ces facteurs sont généralement les seules responsables de la présence de quantités variables de composants bioactifs dans les ressources naturelles. (**Bentabet et al., 2014 ; Dhull et al., 2016**) Aussi, la méthode d'extraction, la méthode de quantification et la nature des solvants d'extraction utilisés et leur degré de pureté peuvent également influencer l'estimation de la teneur des phénols totaux (**Gupta et al., 2012**).

Discussion générale

4. Le pouvoir antibactérien des extraits phénoliques

Les composés phénoliques végétaux constituent l'un des principaux groupes de composés agissant en tant qu'agents antimicrobiens (Vuolo *et al.*, 2019), et ils ont montré des activités antimicrobiennes à large spectre contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives (Singh *et al.*, 2019).

La présente étude a montré que différents extraits/fractions phénoliques des trois plantes étudiées présentaient une activité antimicrobienne contre les souches d'Entérobactéries productrices de BLSE, de CHN et de CP. Les trois extraits d'acétate d'éthyle, de chloroforme et de n-butanol de l'espèce *O. majorana* ont présentés des effets inhibiteurs très importants. Contrairement aux espèces *M. communis* et *S. officinalis*, la fraction Chloroforme a montré un puissant effet inhibiteur contre la plupart des souches testées. Cela pourrait s'expliquer par la capacité d'extraction des principes actifs du solvant et de la disponibilité de ces composés au niveau de la matière végétale (Diarrassouba *et al.*, 2020). D'ordre général, la majorité des souches testées étaient sensible aux extraits phénoliques des trois plantes aromatiques étudiées comparativement aux antibiotiques utilisés dans notre étude. Ceci est cohérent avec plusieurs études qui ont prouvé l'efficacité des extraits phénoliques de ces espèces végétales contre différentes bactéries multirésistantes aux antibiotiques y a compris ceux appartenant à la famille d'Entérobactériacea (Belmimoun *et al.*, 2016 ; Et-Touys *et al.*, 2016 ; Hussein *et al.*, 2017 ; Duletić *et al.*, 2018).

Il faut signaler que, la variation de diamètre de la zone d'inhibition de chacune des fractions testées dans notre étude d'une souche à l'autre dépend principalement de nombreux facteurs, par exemple : la capacité de diffusion des substances (présentes dans les extraits) dans le milieu gélosé, l'activité antimicrobienne des substances diffusées, la croissance et l'activité métabolique des microorganismes dans le milieu. Le diamètre de la zone d'inhibition peut en outre être associé à la polarité des substances qui composent les extraits testés ainsi qu'à la composition de la paroi cellulaire des organismes testés (Meziane et Goumri, 2014).

Les résultats de CMI variaient entre 0,39 et 25 mg/ml. Certaines CMI des mêmes extraits variaient en fonction des différentes souches testées, bien que certaines des souches testées aient les mêmes profils de sensibilité aux antimicrobiens. Dans leur enquête, Ahmad et Aqil, (2007) ont postulé que la présence de différents niveaux intrinsèques de tolérance aux antimicrobiens parmi les micro-organismes testés provoquait la variation des valeurs de CMI parmi les isolats présentant des profils de sensibilité aux antimicrobiens relativement similaires.

Discussion générale

Nos résultats rapportés ici montrent que différents extraits d'*Origanum majorana*, *Myrtus communis* et de *Salvia officinalis* inhibent la croissance des souches d'Entérobactéries produisant des bêta-lactamases (BLSE, CHN et CP) à des niveaux différents. Cependant, les effets toxiques des extraits de plantes n'ont pas été explorés ou testés dans ce travail. La toxicité sélective d'un agent antimicrobien sur les cellules eucaryotes est cruciale et aurait un impact sur l'utilité de cet extrait en tant que composé médicamenteux. Les extraits antibactériens qui sont parfois toxiques pour les cellules humaines peuvent être utiles comme agents antimicrobiens non médicaux, tels que les désinfectants de surface (**Abdel-Massih *et al.*, 2010**). De plus, la purification et l'identification des composants bioactifs sont deux étapes nécessaires pour examiner les mécanismes d'action de ces agents, d'autant plus que ces mécanismes diffèrent probablement de ceux des antibiotiques couramment utilisés.

*Conclusion générale,
perspectives et
recommandations*

Conclusion générale, Perspective et Recommandations

L'émergence et la propagation de bactéries multirésistantes (BMR) sont devenues un problème crucial de santé publique ces dernières années. Les infections causées par des Entérobactéries résistantes sont particulièrement préoccupantes. Il s'agit d'agents pathogènes courants à l'origine de différents types d'infections communautaires et hospitalières, et la résistance aux antibiotiques de ces bactéries à des répercussions importantes sur l'état de santé des patients.

La production d'enzymes inactivant les bêta-lactamines telle que les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), les Céphalosporinases à haut niveau (CHN) et les Carbapénèmases (CP) est le premier mécanisme de résistance chez les Entérobactéries. Les objectifs de notre étude étaient de caractériser les BLSE, les CHN et les CP produites par des Entérobactéries d'origine urinaires, d'évaluer leur profil de résistance aux antibiotiques et d'essayer de rechercher des alternatives thérapeutiques à travers l'implication des molécules bioactives inhibitrices de trois plantes médicinales algérienne sur la croissance de ces bactéries.

Sur une durée de 3 ans allant de 2018 à 2021, 557 souches de bacille à Gram négatifs ont été isolées et identifiées, dont 400 (71,81%) sont des Entérobactéries. La proportion d'infections urinaire à *Enterobacteriaceae* était relativement plus élevée chez les patients hospitalisés 351 (85,75%) que chez les patients ambulatoires 49 (12,25 %). Dans l'ensemble, *E. coli* 155 (38,75%) était le principal isolat suivi de *K. pneumoniae* et *E. cloacae* en deuxième position 39 (9,75%), de *R. ornithinolytica* 25 (6,25), et de *Kluyvera spp* 22 (5,5%) et ces Entérobactéries sont très dispersées en fonction de temps et des services.

Parmi le total de souches étudiées, 255 souches ont montré des profils de multirésistance vis à vis aux 22 antibiotiques testés. La production de β -lactamases à spectre élargi a été mise en évidence chez 238 souches parmi eux, soit 93,33%. Cependant, 93 souches des Entérobactéries-BLSE étaient des producteurs également de Céphalosporinase à haut niveau. De plus, 78 (30,58%) des *Entérobacteries* multirésistantes étaient productrices de Carbapénémase et 59 (23,13%) parmi ces derniers, des souches étaient productrices de Carbapénémase de classe B (métallo-béta-Lactamase). Nous avons constaté que parmi ces souches, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *E. cloacae*, *R. terrigena*, *R. ornithinolytica*, *S. liquefaciens*, *P. mirabilis* étaient les principales espèces productrices de ces bêta-lactamases.

Les profils de résistance des souches Entérobactéries productrices de bêta-lactamases isolées dans notre étude ont montré des niveaux de résistance très élevés, à la plupart des β -lactamines testés à savoir les pénicillines (Amoxicilline, Amoxicilline/acide Clavulanique,

Conclusion générale, Perspective et Recommandations

Pipéracilline... etc), les Céphalosporines de 3ème génération (Céftazidime et céfotaxime) et le Monobactame (Aztréonam). En revanche, des taux de co-résistances élevés ont été également obtenu avec les Aminosides (Tobramycine et Géntamicine), les Fluoroquinolones (Ciprofloxacine et l'Ofloxacine), le Fosfomycine et le SulfaméthoxazoleTriméthoprime. Toutefois, la Nitrofurantoïne suivi de l'imipénème et de l'Amikacine restent les antibiotiques les plus régulièrement actifs sur les souches étudiées.

La caractérisation moléculaire des souches a montré une diversité de gènes de résistance aux β -lactamines avec l'émergence de certains gènes chez quelques espèces pour la première fois dans notre étude. C'est l'exemple de l'émergence de gène blaVIM chez les deux espèces *R.terregina* et *R. ornithinolytica*. De plus, nous rapportons l'émergence d'une souche de *R.terregina* productrice d'oxacillinase de type OXA-48 et une souche d'*E. aérogènes* productrice de BLSE de type CTX-M et de MBL de type NDM pour la première fois en Algérie.

Ces gènes ont une implication en santé publique car ils induisent la résistance aux Pénicillines, aux Céphalosporines de troisième génération et aux Carbapénèmes. De plus, notre étude a confirmé la propagation internationale du gène de bêta-lactamases, responsable d'épidémies de colonisation et d'infections bactériennes dans le monde.

En outre, une co-expression des gènes de résistance aux β -lactamines a été mise en évidence chez 06 souches dans ce travail. Il s'agit de plusieurs cas importantes et originale de co-occurrence de différents bêta-lactamase (BLSEs, Céphalosporinase de type AmpC et des CPs) chez différentes espèces d'Entérobactéries. L'émergence de ces schémas de co-existence de gènes bla confère la résistance aux antibiotiques, rendant ainsi les possibilités de traitement des infections causées par ces Entérobactéries plus restreintes.

Notre étude a clairement démontré que les Entérobactéries productrices de ces enzymes constituent, dans la région de Tébessa, un risque infectieux croissant et peuvent conduire dans de nombreux cas à des impasses thérapeutiques. Devant cette situation inquiétante, il est devenu nécessaire d'explorer de nouvelles pistes, et peut être il est temps de y revenir à la nature et essayer de valoriser les plantes médicinales qui sont utilisées depuis longtemps pour traiter différents pathologies. D'où l'une des objectifs de ce travail de thèse est d'étudier les activités antibactériennes des huiles essentielles et des extraits poly-phénoliques de quelques plantes médicinales à savoir la Marjolaine, le Myrte et la Sauge qui sont très utilisés par la population locale pour se remédier de plusieurs maladies infectieuses.

Conclusion générale, Perspective et Recommandations

L'analyse chimique des trois huiles essentielles par GC/MS a révélé que ces échantillons huileux sont chimiquement variés. L'huile d'*Origanum majorana* est riche en alcools monoterpénique dont le Terpinen-4-ol est le composé majoritaire (34,17%), alors que les huiles de *Myrtus communis* et *Salvia officinalis* sont riches respectivement en α -Pinene (38,38%) et en Camphor (18,34%). En revanche, le dosage des composés phénolique dans les différentes fractions extraites à partir de ces trois plantes montre que la plupart de ces fractions ont donnés des teneurs importantes en polyphénols totaux.

L'activité antimicrobienne des huiles essentielles et des extraits phénoliques envers Entérobactéries productrices de bêta-lactamases (BLSE, CH et CP) a montré que ces produits sont actifs à des degrés divers sur la croissance *in vitro* des souches d'Entérobactéries et celle de référence étudiée. De plus les résultats des tests de CMI et de CMB obtenus affirment bien le pouvoir antimicrobien des huiles essentielles et des extraits polyphénoliques de plantes médicinales notamment ceux de *O. majorana*, de *M. communis* et de *S. officinalis* qui ont montré une forte activité *in vitro* contre les souches entérobactéries multirésistantes d'origine clinique à une faible concentration. Ces résultats sont très encourageants et ouvrent voie vers d'autres recherches. D'où l'utilisation de ces plantes comme alicament (utilisation alimentaire et thérapeutique) constitue un alternatif aux antibiotiques pour lutter contre la flore pathogène (uropathogène) tout en préservant la flore résidente.

Perspectives

Notre étude ouvre des perspectives de recherche en vue de compléter les résultats obtenus. Il s'agira de :

- La confirmation de l'identité de tous les isolats d'Entérobactéries multi-résistantes et productrices de différents types de bêta-lactamase, par l'analyse de leurs séquences d'ARNr 16S.
- La purification et le séquençage pour les amplicons qui étaient positive par PCR afin d'identifier précisément les β -lactamases recherchés.
- Le Typage moléculaire épidémiologique par ERIC-PCR (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) pour établir le degré de parenté entre les souches cliniques étudiées.
- Le typage moléculaire des souches par le Multi-locus sequence typing (MLST), afin d'apprécier la diversité et l'évolution de ces bactéries dans notre région.

Conclusion générale, Perspective et Recommandations

- La caractérisation des autres β -lactamases telle que les Carbapénèmases de types « IMP, KPC, IMI, SPM et SME... etc » et les Céphalosporinases plasmidique (AmpC) de type « CMY, FOX et ACC... etc »).
- La caractérisation des gènes de résistance aux autres familles d'antibiotiques associés aux β -lactamase à savoir les gènes de résistance aux fluoroquinolones, aux aminosides et au nitrofurantoïne.
- La détermination de la composition chimique précise des extraits poly-phénoliques des trois plantes étudiées par HPLC-MS, pour mieux comprendre son mécanisme d'action.
- L'évaluation de la cytotoxicité des huiles et des fractions phénoliques étudiés sur des modèles animaux et de faire des tests complémentaires sur d'autres souches bactériennes, des champignons microscopiques et des virus.
- l'étude de l'efficacité des molécules bioactives de ces plantes et leurs propriétés pharmacocinétiques à partir de modèles animaux (l'activité antimicrobienne intéressante, peut aussi nous ouvrir les portes vers l'évaluation *in vivo*, pour une future utilisation des huiles essentielles et des extraits phénoliques comme agents antimicrobiens à la place des produits de synthèse).

Recommandations

Pour la lutte contre l'émergence et la diffusion de souches d'Entérobactéries multi-résistantes aux antibiotiques et productrices de différente classe de bêta-lactamases, il convient de faire des recommandations.

- **Aux agents de santé**

Le personnel de santé doit maintenir les mesures d'hygiène hospitalière strictes au sein des services afin de limiter la diffusion de ces souches multi-résistantes, on note : le lavage des mains, le port de gants stériles, la gestion du matériel et des surfaces souillées, la détection précoce des porteurs lors de leur admission à l'hôpital et le renforcement des mesures d'hygiène autour des patients porteurs (application des précautions contact).

- **Aux prescripteurs**

Nous recommandons d'adapter l'antibiothérapie ou plutôt le traitement antibactérien sur la base des résultats d'antibiogramme. Egalement, de bien respecter les règles de prescription des antibiotiques seul ou en association et de bien renseigner les données informatives sur les

Conclusion générale, Perspective et Recommandations

malades pour une meilleure surveillance et au même temps d'éviter la prescription systématique des antibiotiques qui favorise la sélection de souches bactériennes multi-résistantes tel que les pénicillines et certaines céphalosporine ...etc. Aussi, de rechercher systématiquement une infection urinaire ou d'autres types d'infections chez tous les malades hospitalisés et de mettre en place une surveillance épidémiologique de la résistance des bactéries aux antibiotiques à l'échelle du pays.

- **Aux populations**

Afin de lutter efficacement contre la résistance bactérienne, les populations doivent arrêter la vente anarchique d'antibiotiques en dehors des structures légales et leur utilisation aveugle sans prescription médicale (Abandonner l'automédication).

- **Aux autorités gouvernementales**

Elles doivent faire prendre conscience à la population de la résistance bactérienne et les dangers liés à l'utilisation irrationnelle des antibiotiques. Elles doivent également établir des lois strictes sur l'utilisation des antibiotiques en médecine humaine, en médecine vétérinaire et d'adopter des politiques de restrictions sur l'utilisation des antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire.

Références Bibliographiques

Références bibliographiques

A

1. Abbasi-Maleki, S., Kadkhoda, Z., & Taghizad-Farid, R. (2020). The antidepressant-like effects of *Origanum majorana* essential oil on mice through monoaminergic modulation using the forced swimming test. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 10(4), 327-335. <https://doi.org/10.1016/j.jtcme.2019.01.003>
2. Abdel-Massih, R., Abdou, E., Baydoun, E., & Daoud, Z. (2010). Antibacterial activity of the extracts obtained from *Rosmarinus officinalis*, *Origanum majorana*, and *Trigonella foenum-graecum* on highly drug-resistant gram-negative bacilli. *Journal of Botany*. <https://doi.org/10.1155/2010/464087>
3. Abderrahim, A., Djahmi, N., Pujol, C., Nedjai, S., Bentakouk, M. C., Kirane-Gacemi, D., ... & Pantel, A. (2017). First case of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Annaba University hospital, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 23(7), 895-900. <https://doi.org/10.1089/mdr.2016.0213>
4. Abid, F., Nafissa, B., Mazouz, D., & Noureddine, B. (2007). *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases a spectre élargi (BLSE) isolées dans les hôpitaux de la ville de Annaba, Algérie. *Sci Study Res*, 8(2), 199-214.
5. Abo-Alella, D., Malek, M. M., & Malek, M. M. (2021). Phenotypic and Genotypic Characterization of Metallo Beta Lactamases among Gram-Negative Uropathogens from a Tertiary Care Hospital in Egypt: A Cross Sectional Study. *Microbes and Infectious Diseases*, 2(2), 295-307. <https://dx.doi.org/10.21608/mid.2021.59593.1113>
6. Abou Baker, D. H., Amarowicz, R., Kandeil, A., Ali, M. A., & Ibrahim, E. A. (2021). Antiviral activity of *Lavandula angustifolia* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. *Journal of Agriculture and Food Research*, 4, 100135. <https://doi.org/10.1016/j.jafr.2021.100135>
7. Abrar, S., Ain, N. U., Liaqat, H., Hussain, S., Rasheed, F., & Riaz, S. (2019). Distribution of bla CTX– M, bla TEM, bla SHV and bla OXA genes in Extended-spectrum- β -lactamase-producing Clinical isolates: A three-year multi-center study from Lahore, Pakistan. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 8(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0536-0>
8. Adedze-Kpodo, R. K., Feglo, P. K., Agboli, E., Asmah, R. H., & Kwadzokpui, P. K. (2022). Genotypic characterization of extended-spectrum β -lactamase producing

Références bibliographiques

- urinary isolates among pregnant women in Ho municipality, Ghana. *Heliyon*, e12513. <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2022.e12513>
9. Adesanya, O. A., & Igwe, H. A. (2020). Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) and gram-negative bacterial infections in south-west Nigeria: a retrospective epidemiological surveillance study. *AIMS public health*, 7(4), 804. <https://doi.org/10.3934/publichealth.2020062>
 10. Adzitey, F. (2015). Antibiotic classes and antibiotic susceptibility of bacterial isolates from selected poultry; a mini review.
 11. Aggoune, N., Maamar, H. T., Assaous, F., Guettou, B., Laliem, R., Benamrouche, N., ... & Rahal, K. (2018). Wide spread of OXA-48-producing Enterobacteriaceae in Algerian hospitals: A four years' study. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(11), 1039-1044. <https://doi.org/10.3855/jidc.9692>
 12. Ahmad, I., Malak, H. A., & Abulreesh, H. H. (2021). Environmental antimicrobial resistance and its drivers: A potential threat to public health. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 27, 101-111. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.08.001>
 13. Ait Taadaout, N., Hsaine, M., Rochdi, A., Nilahyane, A., & Bouharroud, R. (2012). Effet des extraits végétaux méthanoliques de certaines plantes marocaines sur *Tuta absoluta* (L. lepidoptera, Gelechiidae). *EPPO bulletin*, 42(2), 275-280. <https://doi.org/10.1111/epp.2571>
 14. Ajimuda, O. E., Sanmi-Kayode, I., Adeniyi, O. O., Alaka, O. O., & Onipede, A. (2022). Prevalence of extended spectrum Beta-Lactamase producing Klebsiella species from patients' specimens in a tertiary teaching hospital in Ile-Ife, Southwest Nigeria. *African Health Sciences*, 22(2), 146-155. <https://doi.org/10.4314/ahs.v22i2.17>
 15. Akkal, S., Louaar, S., Benahmed, M., Laouer, H., & Duddeck, H. (2010). A new isoflavone glycoside from the aerial parts of *Retama sphaerocarpa*. *Chemistry of natural compounds*, 46(5), 719-721. <http://dx.doi.org/10.1007/s10600-010-9724-0>
 16. Akpabie, A., & Prieur, B. (2001). Germes urinaires et leur sensibilité aux antibiotiques en gériatrie. *Médecine et maladies infectieuses*, 31(7-8), 461-467.
 17. Alanazi, M. Q., Alqahtani, F. Y., & Aleanizy, F. S. (2018). An evaluation of E. coli in urinary tract infection in emergency department at KAMC in Riyadh, Saudi Arabia: retrospective study. *Annals of clinical microbiology and antimicrobials*, 17(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s12941-018-0255-z>

Références bibliographiques

18. Al Dhaheri, Y., Eid, A., AbuQamar, S., Attoub, S., Khasawneh, M., Aiche, G., ... & Iratni, R. (2013). Mitotic arrest and apoptosis in breast cancer cells induced by *Origanum majorana* extract: upregulation of TNF- α and downregulation of survivin and mutant p53. *Plos one*, 8(2), e56649. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0056649>
19. Alfreijat, M. (2017). A case of urinary tract infection and severe sepsis caused by *Kluyvera ascorbata* in a 73-year-old female with a brief literature review. *Case reports in infectious diseases*, 2017. <https://doi.org/10.1155/2017/3848963>
20. Alizade, H., Teshnizi, S. H., Azad, M., Shojae, S., Gouklani, H., Davoodian, P., & Ghanbarpour, R. (2019). An overview of diarrheagenic *Escherichia coli* in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Research in Medical Sciences: The Official Journal of Isfahan University of Medical Sciences*, 24. https://doi.org/10.4103/jrms.jrms_256_18
21. Alizadeh, H., Khodavandi, A., Alizadeh, F., & Bahador, N. (2021). Molecular Characteristics of Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae* Isolates Producing blaVIM, blaNDM, and blaIMP in Clinical Centers in Isfahan, Iran. *Jundishapur J. Microbiol*, 14. <https://doi.org/10.5812/jjm.114473>
22. Almasi, H., Azizi, S., & Amjadi, S. (2020). Development and characterization of pectin films activated by nanoemulsion and Pickering emulsion stabilized marjoram (*Origanum majorana* L.) essential oil. *Food Hydrocolloids*, 99, 105338. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105338>
23. Al-Mijalli, S. H., Assaggaf, H., Qasem, A., El-Shemi, A. G., Abdallah, E. M., Mrabti, H. N., & Bouyahya, A. (2022). Antioxidant, Antidiabetic, and Antibacterial Potentials and Chemical Composition of *Salvia officinalis* and *Mentha suaveolens* Grown Wild in Morocco. *Advances in Pharmacological and Pharmaceutical Sciences*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/2844880>
24. Alsharapy, S. A., Gharout-Sait, A., Muggeo, A., Guillard, T., Cholley, P., Brasme, L., ... & De Champs, C. (2020). Characterization of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae Clinical Isolates in Al Thawra University Hospital, Sana'a, Yemen. *Microbial Drug Resistance*, 26(3), 211-217. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0443>
25. Amady, S. Y., Oumar, D. I. O. P., MBODJI, M., FAYE, M., FAYE, F. A., NDIAYE, F., ... & FAYE, N. (2021). Profil de résistance aux bêta-lactamines des entérobactéries

Références bibliographiques

- uropathogènes isolées dans le laboratoire de biologie médicale du Centre Hospitalier Régional de Thiès. *Revue Africaine de Médecine Interne*, 8(1), 39-47.
26. Amor, G., Caputo, L., La Storia, A., De Feo, V., Mauriello, G., & Fechtali, T. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *Artemisia herba-alba* and *Origanum majorana* essential oils from Morocco. *Molecules*, 24(22), 4021. <http://dx.doi.org/10.3390/molecules24224021>
27. Andersson, M. I., & MacGowan, A. P. (2003). Development of the quinolones. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 51(suppl_1), 1-11. <https://doi.org/10.1093/jac/dkg212>
28. Aouf, A., Gueddi, T., Djeghout, B., & Ammari, H. (2018). Frequency and susceptibility pattern of uropathogenic Enterobacteriaceae isolated from patients in Algiers, Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 12(04), 244-249. <https://doi.org/10.3855/jidc.10017>
29. Appel, T. M., Quijano-Martínez, N., De La Cadena, E., Mojica, M. F., & Villegas, M. V. (2021). Microbiological and Clinical Aspects of *Raoultella* spp. *Frontiers in public health*, 1125. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2021.686789>
30. Arsalane, L., Zerouali, K., Katfy, K., & Zouhair, S. (2015). Molecular characterization of extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in a university hospital in Morocco, North Africa. *African Journal of Urology*, 21(3), 161-166. <https://doi.org/10.1016/j.afju.2015.02.005>
31. Atterby, C. (2019). Antibiotic resistance gone wild: A One Health perspective on carriage, selection and transmission of Extended-Spectrum Cephalosporinase-and Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Acta Universitatis Upsaliensis*.
32. Avril J.L., Dabernat H., Denis F. & Monteil H., (2000). Bactériologie clinique, *Ellipses 2^{ième} édition*, Paris, France, 602 p.
33. Azimi, L., Nordmann, P., Lari, A. R., & Bonnin, R. A. (2014). First report of OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in Iran. *GMS hygiene and infection control*, 9(1). <https://doi.org/10.3205%2Fdgkh000227>

B

34. Barguigua, A., El Otmani, F., Lakbakbi El Yaagoubi, F., Talmi, M., Zerouali, K., & Timinouni, M. (2012). First report of a *Klebsiella pneumoniae* strain coproducing NDM-1, VIM-1 and OXA-48 carbapenemases isolated in Morocco. *APMIS: Acta*

Références bibliographiques

- Pathologica, Microbiologica, et Immunologica Scandinavica*, 121(7), 675-677.
<https://doi.org/10.1111/apm.12034>
35. Barka, M. S., Cherif-Anntar, A., & Benamar, I. (2021). Antimicrobial resistance patterns and transferable traits in Enterobacteriaceae isolates from poultry in Tlemcen, Algeria. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(2), 196-203.
<https://doi.org/10.4314/ajcem.v22i2.12>
36. Barman, S., Bhattacharya, S. S., & Mandal, N. C. (2020). Serratia. In *Beneficial Microbes in Agro-Ecology* (pp. 27-36). Academic Press.
37. Barrial, K., & Scotet, J. (2006). Classification raisonnée des β -lactamases chez les bacilles Gram négatif. *Perspective d'évolution Tigaud de bactériologie*, 3-10.
38. Barril, P., & Nates, S. (2012). Introduction to agarose and polyacrylamide gel electrophoresis matrices with respect to their detection sensitivities. *Gel Electrophoresis Principles and Basics*, 3-14.
39. Bassolé, I. H. N., Lamien-Meda, A., Bayala, B. O. L. C., Obame, L. C., Ilboudo, A. J., Franz, C., ... & Dicko, M. H. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of *Cymbopogon citratus* and *Cymbopogon giganteus* essential oils alone and in combination. *Phytomedicine*, 18(12), 1070-1074.
<https://doi.org/10.1016/j.phymed.2011.05.009>
40. Bebrone, C. (2007). Metallo- β -lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochemical pharmacology*, 74(12), 1686-1701. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2007.05.021>
41. Becker, B., & Cooper, M. A. (2013). Aminoglycoside antibiotics in the 21st century. *ACS chemical biology*, 8(1), 105-115. <https://doi.org/10.1021/cb3005116>
42. Begum, S., Begum, T., Rahman, N., & Khan, R. A. (2021). A review on antibiotic resistance and way of combating antimicrobial resistance. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*, 14(2), 087-097.
<https://doi.org/10.30574/gscbps.2021.14.2.0037>
43. Benahmed, M., Djeddi, N., Akkal, S., & Laouar, H. (2016). Saccocalyx satureioides as corrosion inhibitor for carbon steel in acid solution. *International Journal of Industrial Chemistry*, 7(2), 109-120. <http://dx.doi.org/10.1007%2Fs40090-016-0082-z>
44. Benaissa, E., Belouad, E., Mechal, Y., Benlahlou, Y., Chadli, M., Maleb, A., & Elouennass, M. (2021). Multidrug-resistant community-acquired urinary tract

Références bibliographiques

- infections in a northern region of Morocco: epidemiology and risk factors. *Germs*, 11(4), 562. <https://doi.org/10.18683%2Fgerms.2021.1291>
45. Ben Ayed, H., Koubaa, M., Hammami, F., Marrakchi, C., Rekik, K., Ben Jemaa, T., ... & Ben Jemaa, M. (2019, April). Performance of an easy and simple new scoring model in predicting multidrug-resistant enterobacteriaceae in community-acquired urinary tract infections. In *Open forum infectious diseases* (Vol. 6, No. 4, p. ofz103). US: Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz103>
46. Ben Helal, R., Dziri, R., Chedly, M., Klibi, N., Barguelli, F., El Asli, M. S., & Ben Moussa, M. (2018). Occurrence and characterization of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a Tunisian Hospital. *Microbial Drug Resistance*, 24(9), 1361-1367. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0013>
47. Benhiba, I., Bouzekraoui, T., & Zahidi, J. (2015). Epidémiologie et antibio-résistance des infections urinaires à entérobactéries chez l'adulte dans le CHU de Marrakech et implication thérapeutique. *Revue africaine d'urologie et d'andrologie*, 1(4).
48. Béliveau, M., Castonguay, S., Champagne, M., Martel, A., Guide de collecte, de transport, de conservation et d'analyse des urines Ordre professionnel des technologues médicaux du Québec, avenue Laurier, Montréal (Québec) H2T 1G2. Dépôt légal - 3e trimestre 2010 Bibliothèque et Archives nationales du Québec Bibliothèque et Archives Canada. 3^{ème} édition
49. Belmimoun, A., Meddah, B., Meddah, A. T., & Sonnet, P. (2016). Antibacterial and antioxidant activities of the essential oils and phenolic extracts of *Myrtus communis* and *Zygophyllum album* from Algeria. *Journal of Fundamental and Applied Sciences*, 8(2), 510-524. <https://doi.org/10.4314/jfas.v8i2.22>
50. Bennouar, D. (2016). Infections urinaires à germes multirésistants diagnostiquées au service de microbiologie CHU Annaba. Diplôme de doctorat en pharmacie, université Badji Mokhtar, Annab, Algérie. 123 p.
51. Bentabet, N., Boucherit-Otmani, Z., & Boucherit, K. (2014). Composition chimique et activité antioxydante d'extraits organiques des racines de *Fredolia aretioides* de la région de Béchar en Algérie. *Phytothérapie*, 12(6), 364-371. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0834-x>
52. Bentley, R., & Bennett, J. W. (2003). What is an antibiotic? Revisited. *Advances in applied microbiology*, 52, 303-331. [https://doi.org/10.1016/s0065-2164\(03\)01012-8](https://doi.org/10.1016/s0065-2164(03)01012-8)

Références bibliographiques

53. Bentroki, A. A., Gouri, A., Yakhlef, A., Touaref, A., Gueroudj, A., & Bensouilah, T. (2012, November). Antibiotic resistance of strains isolated from community acquired urinary tract infections between 2007 and 2011 in Guelma (Algeria). In *Annales de biologie clinique* (Vol. 70, No. 6, pp. 666-668). <https://doi.org/10.1684/abc.2012.0760>
54. Benyagoub, E., Benyagoub, E., Berbaoui, H., Rahmani, C., & Benyoucef, L. (2013). Identification and study of the emergence of antibiotic resistance of microorganisms responsible for urinary tract infections in Bechar (Algeria). *Rev Sci Lib*, 5, 1-13.
55. Bergšpica, I., Kaprou, G., Alexa, E. A., Prieto, M., & Alvarez-Ordóñez, A. (2020). Extended spectrum β -lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* in pigs and pork meat in the European Union. *Antibiotics*, 9(10), 678. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9100678>
56. Berthélémy, S. (2016). L'examen cyto bactériologique des urines. *Actualités Pharmaceutiques*, 55(556), 57-59. <https://doi.org/10.1016/j.actpha.2016.03.014>
57. Beyene, D., Bitew, A., Fantew, S., Mihret, A., & Evans, M. (2019). Multidrug-resistant profile and prevalence of extended spectrum β -lactamase and carbapenemase production in fermentative Gram-negative bacilli recovered from patients and specimens referred to National Reference Laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. *PloS one*, 14(9), e0222911. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0222911>
58. Białoń, M., Krzyśko-Łupicka, T., Pik, A., & Wieczorek, P. P. (2017). Chemical composition of herbal macerates and corresponding commercial essential oils and their effect on bacteria *Escherichia coli*. *Molecules*, 22(11), 1887. <https://doi.org/10.3390/molecules22111887>
59. Bilal, M., Rasheed, T., Iqbal, H. M., Hu, H., Wang, W., & Zhang, X. (2017). Macromolecular agents with antimicrobial potentialities: A drive to combat antimicrobial resistance. *International Journal of Biological Macromolecules*, 103, 554-574. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.05.071>
60. Birgand, G., Armand-Lefevre, L., Lolom, I., Ruppe, E., Andremont, A., & Lucet, J. C. (2013). Duration of colonization by extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae after hospital discharge. *American journal of infection control*, 41(5), 443-447. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2012.05.015>
61. Bitew, A., & Tsige, E. (2020). High prevalence of multidrug-resistant and extended-Spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: a cross-sectional study at Arsho

Références bibliographiques

- advanced medical laboratory, Addis Ababa, Ethiopia. *Journal of tropical medicine*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/6167234>
62. Blainski, A., Lopes, G. C., & De Mello, J. C. P. (2013). Application and analysis of the folin ciocalteu method for the determination of the total phenolic content from *Limonium brasiliense* L. *Molecules*, 18(6), 6852-6865. <https://doi.org/10.3390%2Fmolecules18066852>
63. Boivin, S., Caux, C., Soucy, C., & Allard, A. (2016). Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Perspective infirmière*, 13(5), 53-56.
64. Bonardi, S., Cabassi, C. S., Manfreda, G., Parisi, A., Fiaccadori, E., Sabatino, A., ... & Pasquali, F. (2022). Survey on Carbapenem-Resistant Bacteria in Pigs at Slaughter and Comparison with Human Clinical Isolates in Italy. *Antibiotics*, 11(6), 777. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060777>
65. Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(1), 1-14. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.1.1-14.2004>
66. Bonomo, R. A. (2017). β -Lactamases: a focus on current challenges. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 7(1), a025239. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025239>
67. Bouajaj, S., Benyamna, A., Bouamama, H., Romane, A., Falconieri, D., Piras, A., & Marongiu, B. (2013). Antibacterial, allelopathic and antioxidant activities of essential oil of *Salvia officinalis* L. growing wild in the Atlas Mountains of Morocco. *Natural Product Research*, 27(18), 1673-1676.
68. Bouaziz, A., Abdalla, S., Baghiani, A., & Charef, N. (2015). Phytochemical analysis, hypotensive effect and antioxidant properties of *Myrtus communis* L. growing in Algeria. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(1), 19-28. [https://doi.org/10.1016/S2221-1691\(15\)30165-9](https://doi.org/10.1016/S2221-1691(15)30165-9)
69. Bouchillon, S. K., Badal, R. E., Hoban, D. J., & Hawser, S. P. (2013). Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of Gram-negative bacilli in the United States: Results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009– 2011. *Clinical therapeutics*, 35(6), 872-877. <https://doi.org/10.1016/j.clinthera.2013.03.022>
70. Bouguenoun, W., Bakour, S., Bentorki, A. A., Al Bayssari, C., Merad, T., & Rolain, J. M. (2016). Molecular epidemiology of environmental and clinical carbapenemase-

Références bibliographiques

- producing Gram-negative bacilli from hospitals in Guelma, Algeria: multiple genetic lineages and first report of OXA-48 in *Enterobacter cloacae*. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 7, 135-140. <http://dx.doi.org/doi:10.1016/j.jgar.2016.08.011>
71. Bourafa, N., Chaalal, W., Bakour, S., Lalaoui, R., Boutefnouchet, N., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2018). Molecular characterization of carbapenem-resistant Gram-negative bacilli clinical isolates in Algeria. *Infection and drug resistance*, 11, 735. <https://doi.org/10.2147%2FIDR.S150005>
72. Bousbia, N., Vian, M. A., Ferhat, M. A., Petitcolas, E., Meklati, B. Y., & Chemat, F. (2009). Comparison of two isolation methods for essential oil from rosemary leaves: Hydrodistillation and microwave hydrodiffusion and gravity. *Food chemistry*, 114(1), 355-362. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2008.09.106>
73. Boutal, H., Vogel, A., Bernabeu, S., Devilliers, K., Creton, E., Cotellon, G., ... & Volland, H. (2018). A multiplex lateral flow immunoassay for the rapid identification of NDM-, KPC-, IMP- and VIM-type and OXA-48-like carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 73(4), 909-915. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx521>
74. Boutet-Dubois, A., Pantel, A., Sotto, A., & LAVIGNE, J. P. (2012). Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Hygiènes (Lyon)*, 20(3), 135-140.
75. Brada, M., Saadi, A., Wathelet, J. P., & Lognay, G. (2012). The essential oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum floribundum* munby in Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(3), 497-502. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644078>
76. Brahmi, M., Adli, D. E. H., Boufadi, M. Y., Arabi, W., Kahloula, K., & Slimani, M. (2021). Antimicrobial and Antiochratoxic Activities of *Mentha spicata* Essential Oil. *Phytothérapie*. <https://doi.org/10.3166/phyto-2021-0278>
77. Brada, M., Saadi, A., Wathelet, J. P., & Lognay, G. (2012). The essential oils of *Origanum majorana* L. and *Origanum floribundum* munby in Algeria. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 15(3), 497-502. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2012.10644078>
78. Bradford, P. A. (2001). Extended-spectrum β -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clinical microbiology reviews*, 14(4), 933-951. <https://doi.org/10.1128/CMR.14.4.933-951.2001>

Références bibliographiques

79. Bradley, J. S., & Sauberman, J. B. (2012). 292 Antimicrobial Agents. *Principles and Practice of Pediatric Infectious Disease*, 1453-1484. <https://doi.org/10.1016/B978-0-323-40181-4.00292-9>
80. Brolund, A. (2014). Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective. *Infection ecology & epidemiology*, 4(1), 24555. <https://doi.org/10.3402/iee.v4.24555>
81. Brenner, D. J., & Farmer III, J. J. (2015). Enterobacteriaceae. *Bergey's manual of systematics of archaea and bacteria*, 1-24. <https://doi.org/10.1002/9781118960608.fbm00222>
82. Bueno, M. F. C., Francisco, G. R., O'Hara, J. A., de Oliveira Garcia, D., & Doi, Y. (2013). Coproduction of 16S rRNA methyltransferase RmtD or RmtG with KPC-2 and CTX-M group extended-spectrum β -lactamases in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(5), 2397-2400. <https://doi.org/10.1128/AAC.02108-12>
83. Busatta, C., Vidal, R. S., Popiolski, A. S., Mossi, A. J., Dariva, C., Rodrigues, M. R. A., ... & Cansian, R. L. (2008). Application of *Origanum majorana* L. essential oil as an antimicrobial agent in sausage. *Food microbiology*, 25(1), 207-211. <https://doi.org/10.1016/j.fm.2007.07.003>
84. Bush, K., & Jacoby, G. A. (2010). Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(3), 969-976. <https://doi.org/10.1128/AAC.01009-09>
85. Bush, K. (2018). Past and present perspectives on β -lactamases. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 62(10), e01076-18. <https://doi.org/10.1128/AAC.01076-18>
86. Bush, N. G., Diez-Santos, I., Abbott, L. R., & Maxwell, A. (2020). Quinolones: mechanism, lethality and their contributions to antibiotic resistance. *Molecules*, 25(23), 5662. <https://doi.org/10.3390/molecules25235662>

e

87. Cai, Y., Chen, C., Zhao, M., Yu, X., Lan, K., Liao, K., ... & Huang, B. (2019). High prevalence of metallo- β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* from three tertiary hospitals in China. *Frontiers in microbiology*, 10, 1610. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.01610>

Références bibliographiques

88. Camacho-Cruz, J., Martinez, J. M., Cufino, J. M., Moreno, G. C., Murillo, C. R., Suarez Fuentes, M. A., & Castro, C. A. (2021). Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Causing Community-Acquired Urinary Tract Infections in Children in Colombia. *Indian Pediatrics*, 58(2), 144-148.
89. Cao, P., Li, C., Tan, K., Liu, C., Xu, X., Zhang, S., ... & Xiang, W. (2020). Characterization, phylogenetic analyses, and pathogenicity of *Enterobacter cloacae* on rice seedlings in Heilongjiang Province, China. *Plant Disease*, 104(6), 1601-1609. <https://doi.org/10.1094/PDIS-12-19-2557-RE>
90. Caputo, L., Capozzolo, F., Amato, G., De Feo, V., Fratianni, F., Vivenzio, G., & Nazzaro, F. (2022). Chemical composition, antibiofilm, cytotoxic, and anti-acetylcholinesterase activities of *Myrtus communis* L. leaves essential oil. *BMC Complementary Medicine and Therapies*, 22(1), 1-16. <https://doi.org/10.1186/s12906-022-03583-4>
91. Castanheira, M., Simner, P. J., & Bradford, P. A. (2021). Extended-spectrum β -lactamases: An update on their characteristics, epidemiology and detection. *JAC-antimicrobial resistance*, 3(3), dlab092. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab092>
92. Cattoir, V., & Bicêtre, F. (2008). Les nouvelles bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). *Pathologie infectieuse en réanimation*, 204-209.
93. Chebaibi, A., Marouf, Z., Rhazi-Filali, F., Fahim, M., & Ed-Dra, A. (2016). Évaluation du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles de sept plantes médicinales récoltées au Maroc. *Phytothérapie*, 14(6), 355-362. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0996-1>
94. Chbouki, O. (2011). Enterobacteria ESBL urinary infections: epidemiology and resistance. *Maroc Médical*, tome 33 n°1, mars 2011
95. Chen, Y. C., Chen, W. Y., Hsu, W. Y., Tang, H. J., Chou, Y., Chang, Y. H., ... & Chang, T. H. (2021). Distribution of β -lactamases and emergence of carbapenemases co-occurring Enterobacterales isolates with high-level antibiotic resistance identified from patients with intra-abdominal infection in the Asia–Pacific region, 2015–2018. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection*. <https://doi.org/10.1016/j.jmii.2021.07.007>
96. Chervet, D., Lortholary, O., Zahar, J. R., Dufougeray, A., Pilmis, B., & Partouche, H. (2018). Antimicrobial resistance in community-acquired urinary tract infections in Paris in 2015. *Medicine et maladies infectieuses*, 48(3), 188-192. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2017.09.013>

Références bibliographiques

97. Chitrabanu, N. A., & Mallya, S. (2021). Identification, speciation and antibiogram along with detection of metallo beta-lactamase production in acinetobacter isolated from clinical samples in a tertiary care hospital. *Journal of Pure and Applied Microbiology*, 15(2), 839-845. <https://doi.org/10.22207/JPAM.15.2.38>
98. Cizmeci, Z., Aktas, E., Otlu, B., Acikgoz, O., & Ordekci, S. (2017). Molecular characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae yields increasing rates of NDM-1 carbapenemases and colistin resistance in an OXA-48-endemic area. *Journal of Chemotherapy*, 29(6), 344-350. <https://doi.org/10.1080/1120009X.2017.1323149>
99. Clements, T., Ndlovu, T., Khan, S., & Khan, W. (2019). Biosurfactants produced by *Serratia* species: classification, biosynthesis, production and application. *Applied microbiology and biotechnology*, 103(2), 589-602. <https://doi.org/10.1007/s00253-018-9520-5>
100. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2018. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; 27th informational supplement. M100-S28. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA <https://file.qums.ac.ir/repository/mmrc/CLSI-2018-M100-S28.pdf>
101. Clinical and Laboratory Standards Institute.(2020). Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated From Animals. 5th Edn. CLSI supplement VET01S. Clinical and Laboratory Standards Institute. <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf>
102. Comité de l'Antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) 2018. Société française de microbiologie. Home page at: https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2019/02/CASFM-V1_0-FEV_2018.pdf
103. Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM/EUCAST) 2020 : recommandations 2019 V.1.0. [Accessed on February 27, 2020] <https://www.sfm-microbiologie.org/wp>
104. Colak, M., & Asgin, N. (2021). Antimicrobial resistance profiles of *Enterobacter cloacae* and *Klebsiella aerogenes* a tertiary hospital in Turkey: A five-years study: Antimicrobial resistance of *E. cloacae* and *K. aerogenes*. *Medical Science and Discovery*, 8(3), 161-166. <https://doi.org/10.36472/msd.v8i3.501>
105. González, D., Gallagher, E., Zúñiga, T., Leiva, J., & Vitas, A. I. (2020). Prevalence and characterization of β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in healthy human carriers. *International Microbiology*, 23, 171-177.

Références bibliographiques

106. Cornaglia, G., Giamarellou, H., & Rossolini, G. M. (2011). Metallo- β -lactamases: a last frontier for β -lactams?. *The Lancet infectious diseases*, 11(5), 381-393. [https://doi.org/10.1016/S1473-3099\(11\)70056-1](https://doi.org/10.1016/S1473-3099(11)70056-1)
107. Cowart, K., Worley, M., Rouby, N. E., & Sando, K. (2019). Evaluation of FDA boxed warning on prescribing patterns of fluoroquinolones for uncomplicated urinary tract infections. *Annals of Pharmacotherapy*, 53(12), 1192-1199. <https://doi.org/10.1177/1060028019865224>
108. Cristina, M. L., Sartini, M., & Spagnolo, A. M. (2019). *Serratia marcescens* infections in neonatal intensive care units (NICUs). *International journal of environmental research and public health*, 16(4), 610. <https://doi.org/10.3390/ijerph16040610>
109. Current Protocols. (2001). Common buffers, media, and stock solutions. *Current Protocols in Human Genetics*, 26, A-2D. <https://doi.org/10.1002/0471142905.hga02ds26>

D

110. Dahab, R. A., Ibrahim, A. M., & Altayb, H. N. (2017). Phenotypic and genotypic detection of carbapenemase enzymes producing gram-negative bacilli isolated from patients in Khartoum State. *F1000Research*, 6, 1656. <https://doi.org/10.12688/f1000research.12432.1>
111. Dakorah, M. P., Agyare, E., Acolatse, J. E. E., Akafity, G., Stelling, J., Chalker, V. J., ... & Ngyedu, E. K. (2022). Utilising cumulative antibiogram data to enhance antibiotic stewardship capacity in the Cape Coast Teaching Hospital, Ghana. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 11(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s13756-022-01160-5>
112. Da Silva, F. T., da Cunha, K. F., Fonseca, L. M., Antunes, M. D., El Halal, S. L. M., Fiorentini, Â. M., ... & Dias, A. R. G. (2018). Action of ginger essential oil (*Zingiber officinale*) encapsulated in proteins ultrafine fibers on the antimicrobial control in situ. *International journal of biological macromolecules*, 118, 107-115. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.06.079>
113. Da Silva Dannenberg, G., Funck, G. D., da Silva, W. P., & Fiorentini, Â. M. (2019). Essential oil from pink pepper (*Schinus terebinthifolius* Raddi): Chemical

Références bibliographiques

- composition, antibacterial activity and mechanism of action. *Food control*, 95, 115-120. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2018.07.034>
114. Das, N., Madhavan, J., Selvi, A., & Das, D. (2019). An overview of cephalosporin antibiotics as emerging contaminants: a serious environmental concern. *3 Biotech*, 9(6), 1-14. <https://doi.org/10.1007/s13205-019-1766-9>
115. Dé, E., Baslé, A., Jaquinod, M., Saint, N., Malléa, M., Molle, G., & Pagès, J. M. (2001). A new mechanism of antibiotic resistance in Enterobacteriaceae induced by a structural modification of the major porin. *Molecular microbiology*, 41(1), 189-198. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2958.2001.02501.x>
116. Deghima, A., Righi, N., Rosales-Conrado, N., León-González, M. E., Baali, F., Gomez-Mejia, E., ... & Bedjou, F. (2021). Anti-inflammatory activity of ethyl acetate and n-butanol extracts from *Ranunculus macrophyllus* Desf. and their phenolic profile. *Journal of Ethnopharmacology*, 265, 113347. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2020.113347>
117. Della Pepa, T., Elshafie, H. S., Capasso, R., De Feo, V., Camele, I., Nazzaro, F., ... & Caputo, L. (2019). Antimicrobial and phytotoxic activity of *Origanum heracleoticum* and *O. majorana* essential oils growing in Cilento (Southern Italy). *Molecules*, 24(14), 2576. <https://doi.org/10.3390/molecules24142576>
118. Deltourbe, L., Lacerda Mariano, L., Hreha, T. N., Hunstad, D. A., & Ingersoll, M. A. (2022). The impact of biological sex on diseases of the urinary tract. *Mucosal Immunology*, 15(5), 857-866. <https://doi.org/10.1038/s41385-022-00549-0>
119. De Maio Carrilho, C., de Oliveira, L. M., Gaudereto, J., Perozin, J. S., Urbano, M. R., Camargo, C. H., ... & Costa, S. F. (2016). A prospective study of treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae infections and risk factors associated with outcome. *BMC Infectious Diseases*, 16(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12879-016-1979-z>
120. Dembe kassango, S., Lutoti, I.W., Aboce, E et al (2018). Prevalence and antimicrobial susceptibility pattern of extended spectrum beta lactamase producers in gram-negative urine isolates at mbn clinical laboratories, kampala uganda. *Fortune journals* [En ligne], 2018., 2, (Consulté le 15/04/2020)
121. De Souza, E. L., de Barros, J. C., de Oliveira, C. E. V., & da Conceição, M. L. (2010). Influence of *Origanum vulgare* L. essential oil on enterotoxin production,

Références bibliographiques

- membrane permeability and surface characteristics of *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology*, 137(2-3), 308-311. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2009.11.025>
122. Devi, L. S., Broor, S., Rautela, R. S., Grover, S. S., Chakravarti, A., & Chattopadhyaya, D. (2020). Increasing prevalence of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamase, carbapenemase, and NDM-1 in patients from a rural community with community acquired infections: A 3-year study. *International Journal of Applied and Basic Medical Research*, 10(3), 156. [10.4103/ijabmr.IJABMR_360_19](https://doi.org/10.4103/ijabmr.IJABMR_360_19)
123. Dhifi, W., Jazi, S., El Beyrouthy, M., Sadaka, C., & Mnif, W. (2020). Assessing the potential and safety of *Myrtus communis* flower essential oils as efficient natural preservatives against *Listeria monocytogenes* growth in minced beef under refrigeration. *Food Science & Nutrition*, 8(4), 2076-2087. <https://doi.org/10.1002/fsn3.1497>
124. Dhull, S. B., Kaur, P., & Purewal, S. S. (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resource-Efficient Technologies*, 2(4), 168-174. <https://doi.org/10.1016/j.refffit.2016.09.003>
125. Diarrassouba, D., Solange, A. K. A., OUATTARA, K., BAGRE, I., ZINZINDORF, N. Y., DJE, K. M., & LOUKOU, Y. G. (2020). Evaluation de la composition phytochimique et des propriétés antimicrobiennes de deux plantes aromatiques utilisées dans la production du moût sucré et du tchapalo, deux boissons artisanales de Côte d'Ivoire. *Int. J. Biol. Chem. Sci*, 14(9), 3215-3230.
126. Diela, B., Sudigdoadi, S., Cahyadi, A. I., Wilopo, B. A. P., Dewi, I. M. W., & Kartasasmita, C. B. (2017). Molecular detection of DHA-1 AmpC beta-lactamase gene in Enterobacteriaceae clinical isolates in Indonesia. In *Advances in Biomolecular Medicine* (pp. 13-18). CRC Press.
127. Dilagui, I., Loqman, S., Hanchi, A. L., & Soraa, N. (2022). Antibiotic resistance patterns of carbapenemase-producing enterobacterales in Mohammed VI University Hospital of Marrakech, Morocco. *Infectious Diseases Now*, 52(6), 334-340. <https://doi.org/10.1016/j.idnow.2022.06.001>

Références bibliographiques

128. Diviney, J., & Jaswon, M. S. (2021). Urine collection methods and dipstick testing in non-toilet-trained children. *Pediatric Nephrology*, 36, 1697-1708. <https://doi.org/10.1007/s00467-020-04742-w>
129. Djilani, A., & Dicko, A. (2012). The therapeutic benefits of essential oils. *Nutrition, well-being and health*, 7, 155-179. <https://doi.org/10.5772/25344>
130. Do Evangelho, J. A., da Silva Dannenberg, G., Biduski, B., El Halal, S. L. M., Kringel, D. H., Gularte, M. A., ... & da Rosa Zavareze, E. (2019). Antibacterial activity, optical, mechanical, and barrier properties of corn starch films containing orange essential oil. *Carbohydrate polymers*, 222, 114981. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2019.114981>
131. Doi, Y., Wachino, J. I., Ishiguro, M., Kurokawa, H., Yamane, K., Shibata, N., ... & Arakawa, Y. (2004). Inhibitor-sensitive AmpC β -lactamase variant produced by an *Escherichia coli* clinical isolate resistant to oxyiminocephalosporins and cephamycins. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 48(7), 2652-2658. <https://doi.org/10.1128/AAC.48.7.2652-2658.2004>
132. Doi, Y. (2020). Ertapenem, Imipenem, Meropenem, Doripenem, and Aztreonam. *Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. 9th ed. Elsevier*, 285-90.
133. Dorman, H. D., & Deans, S. G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils. *Journal of applied microbiology*, 88(2), 308-316. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x>
134. Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2013). Épidémiologie, détection et identification des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Feuillets de Biologie*, 312, 1-13.
135. Dortet, L., Poirel, L., & Nordmann, P. (2014). Rapid detection of extended-spectrum- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae from urine samples by use of the ESBL NDP test. *Journal of clinical microbiology*, 52(10), 3701-3706. <https://doi.org/10.1128/JCM.01578-14>
136. Dortet, L., Flonta, M., Boudehen, Y. M., Creton, E., Bernabeu, S., Vogel, A., & Naas, T. (2015). Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* in Romania. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 59(11), 7100-7103. <https://doi.org/10.1128/aac.01512-15>

Références bibliographiques

137. Dortet, L., Cuzon, G., Ponties, V., & Nordmann, P. (2017). Trends in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae, France, 2012 to 2014. *Eurosurveillance*, 22(6), 30461. <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2017.22.6.30461>
138. Drawz, S. M., & Bonomo, R. A. (2010). Three decades of β -lactamase inhibitors. *Clinical microbiology reviews*, 23(1), 160-201. <https://doi.org/10.1128/CMR.00037-09>
139. Drieux, L., Brossier, F., Sougakoff, W., & Jarlier, V. (2008). Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clinical Microbiology and Infection*, 14, 90-103. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01846.x>
140. Duletić-Laušević, S., Aradski, A. A., Kolarević, S., Vuković-Gačić, B., Oalđe, M., Živković, J., ... & Marin, P. D. (2018). Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of *Origanum majorana* L.(Lamiaceae) extracts. *J. Appl. Bot. Food Qual*, 91, 126-134. <https://doi.org/10.5073/JABFQ.2018.091.018>
141. Duployez, C., Loïez, C., Cattoen, C., Wallet, F., & Vachée, A. (2019). In vitro activity of temocillin against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections in France. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(1), 47-53. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2018.10.007>
142. Dziri, R., Ayari, I., Barguellil, F., Ouzari, H. I., El Asli, M. S., & Klibi, N. (2019). First report of NDM and VIM coproducing *Klebsiella pneumoniae* in Tunisia and emergence of novel clones. *Microbial Drug Resistance*, 25(9), 1282-1286. <https://doi.org/10.1089/mdr.2019.0115>



143. Ebongue, C. O., Tsiyok, M. D., Mefo'o, J. P. N., Ngaba, G. P., Beyiha, G., & Adio, D. (2015). Evolution de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées à l'Hôpital Général de Douala de 2005 à 2012. *The Pan African Medical Journal*, 20. <https://doi.org/10.11604/2Fpamj.2015.20.227.4770>
144. El-Akhal, F., Lalami, A. E. O., Zoubi, Y. E., Greche, H., & Guemmouh, R. (2014). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum*

Références bibliographiques

- majorana (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae). *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 4(9), 746-750. <https://doi.org/10.12980/APJTB.4.2014APJTB-2014-0392>
145. El Euch, S. K., Hassine, D. B., Cazaux, S., Bouzouita, N., & Bouajila, J. (2019). *Salvia officinalis* essential oil: Chemical analysis and evaluation of anti-enzymatic and antioxidant bioactivities. *South African Journal of Botany*, 120, 253-260. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2018.07.010>
146. El Hartiti, H., El Mostaphi, A., Barrahi, M., Ben Ali, A., Chahboun, N., Amiyare, R., ... & Ouhssine, M. (2020). Chemical composition and antibacterial activity of the essential oil of *Myrtus communis* leaves. *Karbala International Journal of Modern Science*, 6(3), 3.
147. Elshikh, M., Ahmed, S., Funston, S., Dunlop, P., McGaw, M., Marchant, R., & Banat, I. M. (2016). Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnology letters*, 38(6), 1015-1019. <https://doi.org/10.1007/s10529-016-2079-2>
148. EL wartiti, M. A., BAHMANI, F. Z., ELOUENNASS, M., & BENOUDA, A. (2012). Prevalence of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in a University Hospital in Rabat, Morocco: A 19-Months Prospective Study. *The International Arabic Journal of Antimicrobial Agents*, 2(3).
149. Elyemni, M., Louaste, B., Nechad, I., Elkamli, T., Bouia, A., Taleb, M., ... & Eloutassi, N. (2019). Extraction of essential oils of *Rosmarinus officinalis* L. by two different methods: Hydrodistillation and microwave assisted hydrodistillation. *The Scientific World Journal*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/3659432>
150. Empel, J., Baraniak, A., Literacka, E., Mrówka, A., Fiett, J., Sadowy, E., ... & Gniadkowski, M. (2008). Molecular survey of β -lactamases conferring resistance to newer β -lactams in Enterobacteriaceae isolates from Polish hospitals. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 52(7), 2449-2454. <https://doi.org/10.1128/AAC.00043-08>
151. Erdogru, O.T. 2002. Antibacterial activities of some plant extracts used in folk medicine. *Pharmaceutical Biology*, 40(4): 269-273. <https://doi.org/10.1076/phbi.40.4.269.8474>
152. Erenler, R., Sen, O., Aksit, H., Demirtas, I., Yaglioglu, A. S., Elmastas, M., & Telci, I. (2016). Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum*

Références bibliographiques

- majorana and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 96(3), 822-836. <https://doi.org/10.1002/jsfa.7155>
153. Erenler, R., Tugba, A. D. A. K., Karan, T., Elmastas, M., Yildiz, I., Aksit, H., ... & Sanda, M. A. (2017). Chemical constituents isolated from *Origanum solymicum* with antioxidant activities. *The Eurasia Proceedings of Science Technology Engineering and Mathematics*, (1), 139-145.
154. Eshetie, S., Unakal, C., Gelaw, A., Ayelign, B., Endris, M., & Moges, F. (2015). Multidrug resistant and carbapenemase producing Enterobacteriaceae among patients with urinary tract infection at referral Hospital, Northwest Ethiopia. *Antimicrobial resistance and infection control*, 4(1), 1-8. <https://doi.org/10.1186/s13756-015-0054-7>.
155. Es-sbihi, F. Z., Hazzoumi, Z., Aasfar, A., & Amrani Joutei, K. (2021). Improving salinity tolerance in *Salvia officinalis* L. by foliar application of salicylic acid. *Chemical and Biological Technologies in Agriculture*, 8(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s40538-021-00221-y>
156. Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives. *Int. J. Appl. Microbiol. Biotechnol. Res*, 4(2016), 90-101.
157. Et-Touys, A., Fellah, H., Mniouil, M., Bouyahya, A., Dakka, N., Abdennebi, E. H., ... & Bakri, Y. (2016). Screening of antioxidant, antibacterial and antileishmanial activities of *Salvia officinalis* L. extracts from Morocco. *Br Microbiol Res J*, 16, 1-10.
158. Evans, B. A., & Amyes, S. G. (2014). OXA β -lactamases. *Clinical microbiology reviews*, 27(2), 241-263. <https://doi.org/10.1128/CMR.00117-13>

F

159. Fadil, M., Farah, A., Ihssane, B., Haloui, T., Lebrazi, S., Zghari, B., & Rachiq, S. (2016). Chemometric investigation of light-shade effects on essential oil yield and morphology of Moroccan *Myrtus communis* L. *SpringerPlus*, 5(1), 1-14. <https://doi.org/10.1186/s40064-016-2749-5>
160. Fam, N., Gamal, D., El Said, M., Aboul-Fadl, L., El Dabei, E., El Attar, S., ... & Klena, J. (2013). Detection of plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in clinically significant bacterial isolates in a research institute hospital in Egypt. *Life Science Journal*, 10(2), 2294-2304.

Références bibliographiques

161. Farahpour, M. R., Pirkhezr, E., Ashrafian, A., & Sonboli, A. (2020). Accelerated healing by topical administration of *Salvia officinalis* essential oil on *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* infected wound model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *128*, 110120. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2020.110120>
162. Farih, S., Saddari, A., Noussaiba, B., Araab, A., Yacoubi, L., Benaissa, E., ... & Elouennass, M. (2021). Health vigilance concerning female urinary tract infections: epidemiological profile and antibiotic resistance. In *E3S Web of Conferences* (Vol. 319, p. 01009). EDP Sciences. <https://doi.org/10.1051/e3sconf/202131901009>
163. Farmer, J. J., Boatwright, K. D., & Janda, J. M. (2007). Enterobacteriaceae: introduction and identification, *Manual of clinical microbiology*, 9th ed. ASM Press, Washington, DC. USA: ASM press. 9th ed. p649-669.
164. Fatima, S., Muhammad, I. N., Usman, S., Jamil, S., Khan, M. N., & Khan, S. I. (2018). Incidence of multidrug resistance and extended-spectrum beta-lactamase expression in community-acquired urinary tract infection among different age groups of patients. *Indian Journal of Pharmacology*, *50*(2), 69. https://doi.org/10.4103%2Fijp.IJP_200_17
165. Flores-Mireles, A. L., Walker, J. N., Caparon, M., & Hultgren, S. J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nature reviews microbiology*, *13*(5), 269-284. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3432>
166. Forge, A., & Schacht, J. (2000). Aminoglycoside antibiotics. *Audiology and Neurotology*, *5*(1), 3-22.
- Frank, U., & Tacconelli, E. (2012). *The Daschner Guide to In-Hospital Antibiotic Therapy: European Standards*. Springer Science & Business Media.
167. From, P., Bieganiec, B., Ehrenrich, Z., & Barak, M. (2000). Stability of common analytes in urine refrigerated for 24 h before automated analysis by test strips. *Clinical chemistry*, *46*(9), 1384-1386. <https://doi.org/10.1093/clinchem/46.9.1384>



168. Gadou victoire. 2019. Epidémiologie moléculaire des entérobactéries productrices de β - lactamases à spectre élargi résistantes aux aminosides et aux fluoroquinolones dans le district d'Abidjan, Côte d'Ivoire. Diplôme de doctorat, université Félix Houphouët Boigny, Côte d'Ivoire. 218 p.

Références bibliographiques

169. Gajdács, M., Ábrók, M., Lázár, A., Jánvári, L., Tóth, Á., Terhes, G., & Burián, K. (2020). Detection of VIM, NDM and OXA-48 producing carbapenem resistant Enterobacterales among clinical isolates in Southern Hungary. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 67(4), 209-215. <https://doi.org/10.1556/030.2020.01181>
170. Galani, I., Karaiskos, I., & Giamarellou, H. (2021). Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*: Mechanisms of resistance including updated data for novel β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations. *Expert review of anti-infective therapy*, 19(11), 1457-1468. <https://doi.org/10.1080/14787210.2021.1924674>
171. Garcia-Salas, P., Morales-Soto, A., Segura-Carretero, A., & Fernández-Gutiérrez, A. (2010). Phenolic-compound-extraction systems for fruit and vegetable samples. *Molecules*, 15(12), 8813-8826. <https://doi.org/10.3390/molecules15128813>
172. Gautier V., (2007). Caractérisation et expression des gènes codant pour les β -lactamases chromosomiques au sein des entérobactéries de l'environnement, Mémoire pour l'obtention du diplôme de l'Ecole Pratique des Hautes Etudes, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France, 25 p.
173. Gedefie, A., Demsis, W., Ashagrie, M., Kassa, Y., Tesfaye, M., Tilahun, M., ... & Sahle, Z. (2021). *Acinetobacter baumannii* biofilm formation and its role in disease pathogenesis: a review. *Infection and Drug Resistance*, 3711-3719. <https://doi.org/10.2147/IDR.S332051>
174. Ghaderi, R. S., Yaghoubi, A., Amirfakhrian, R., Hashemy, S. I., & Ghazvini, K. (2020). The prevalence of genes encoding ESBL among clinical isolates of *Escherichia coli* in Iran: A systematic review and meta-analysis. *Gene Reports*, 18, 100562. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2019.100562>
175. Gharout-Sait, A., Touati, A., Guillard, T., Brasme, L., & Champs, C. D. (2015). Molecular characterization and epidemiology of cefoxitin resistance among Enterobacteriaceae lacking inducible chromosomal ampC genes from hospitalized and non-hospitalized patients in Algeria: description of new sequence type in *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 19, 187-195. <https://doi.org/10.1016/j.bjid.2014.12.001>
176. Ghasemi, E., Raofie, F., & Najafi, N. M. (2011). Application of response surface methodology and central composite design for the optimisation of supercritical fluid extraction of essential oils from *Myrtus communis* L. leaves. *Food Chemistry*, 126(3), 1449-1453. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.135>

Références bibliographiques

177. Gill, C. M., Lasko, M. J., Asempa, T. E., & Nicolau, D. P. (2020). Evaluation of the EDTA-Modified Carbapenem inactivation method for detecting metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of clinical microbiology*, 58(6), e02015-19. <https://doi.org/10.1128%2FJCM.02015-19>
178. Giske, C. G., Sundsfjord, A. S., Kahlmeter, G., Woodford, N., Nordmann, P., Paterson, D. L., ... & Walsh, T. R. (2009). Redefining extended-spectrum β -lactamases : balancing science and clinical need. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 63(1), 1-4. <https://doi.org/10.1093/jac/dkn444>
179. Goudarzi, M., Azad, M., & Seyedjavadi, S. S. (2015). Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants and OqxAB efflux pumps among extended-spectrum-lactamase producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with nosocomial urinary tract infection in Tehran, Iran. *Scientifica*, 2015. <https://doi.org/10.1155/2015/518167>
180. Govindaswamy, A., Bajpai, V., Khurana, S., Aravinda, A., Batra, P., Malhotra, R., & Mathur, P. (2019). Prevalence and characterization of beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from a tertiary care hospital in India. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(02), 123-127. DOI: 10.4103/JLP.JLP_122_18
181. Grohs, P., Podglajen, I., Guerot, E., Bellenfant, F., Caumont-Prim, A., Kac, G., ... & Gutmann, L. (2014). Assessment of five screening strategies for optimal detection of carriers of third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in intensive care units using daily sampling. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(11), O879-O886. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12663>
182. Guillard, F., Merens, A., Dortet, L., Janvier, F., Lebrun, C., Yin, N., ... & Héry-Arnaud, M. (2019). Évaluation de la prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les entérobactéries isolées de prélèvements urinaires dans les services d'urgence de France. *Médecine et Maladies Infectieuses*, 49(4), S111-S112. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2019.04.267>
183. Gulcan, A., Bayram, P., Levent, B., & Gulcan, E. (2012). A case of urinary tract infection due to *Salmonella enterica* serovar Virchow and review of the related literature. *Acta microbiologica et immunologica Hungarica*, 59(1), 85-89. <https://doi.org/10.1556/amicr.59.2012.1.9>

Références bibliographiques

184. Gupta, A., Naraniwal, M., & Kothari, V. (2012). Modern extraction methods for preparation of bioactive plant extracts. *International journal of applied and natural sciences*, 1(1), 8-26.

H

185. Hajlaoui, H., Mighri, H., Aouni, M., Gharsallah, N., & Kadri, A. (2016). Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microbial pathogenesis*, 95, 86-94. <http://dx.doi.org/10.1016/j.micpath.2016.03.003>
186. Hammond, D. S., Schooneveldt, J. M., Nimmo, G. R., Huygens, F., & Giffard, P. M. (2005). bla SHV genes in *Klebsiella pneumoniae*: different allele distributions are associated with different promoters within individual isolates. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(1), 256-263. <https://doi.org/10.1128/AAC.49.1.256-263.2005>
187. Halake, K., Birajdar, M., & Lee, J. (2016). Structural implications of polyphenolic antioxidants. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 35, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jiec.2016.01.003>
188. Han, R., Shi, Q., Wu, S., Yin, D., Peng, M., Dong, D., ... & China Antimicrobial Surveillance Network (CHINET) Study Group. (2020). Dissemination of carbapenemases (KPC, NDM, OXA-48, IMP, and VIM) among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated from adult and children patients in China. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 10, 314. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2020.00314>
189. Hanes D., 2003. Nontyphoid *Salmonella*, Bier J. (Eds) *International Handbook of Foodborne Pathogens Edition*. Milotis N., New york, 149p
190. Hanif, M. A., Nisar, S., Khan, G. S., Mushtaq, Z., & Zubair, M. (2019). Essential oils. In *Essential oil research* (pp. 3-17). Springer, Cham. [doi: 10.1007/978-3-030-16546-8_1](https://doi.org/10.1007/978-3-030-16546-8_1)
191. Harada, S., Aoki, K., Yamamoto, S., Ishii, Y., Sekiya, N., Kurai, H., ... & Doi, Y. (2019). Clinical and molecular characteristics of *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bloodstream infections in Japan: occurrence of hypervirulent infections in

Références bibliographiques

- health care. *Journal of clinical microbiology*, 57(11), e01206-19.
<https://doi.org/10.1128/JCM.01206-19>
192. Harizia, A., Benguerai, A., Elouissi, A., Mahi, T., & Bonal, R. (2021). Chemical composition and biological activity of *Salvia officinalis* L. essential oil against *Aphis fabae* Scopoli (Hemiptera: Aphididae). *Journal of Plant Diseases and Protection*, 128(6), 1547-1556. <https://doi.org/10.1007/s41348-021-00525-z>
193. Hart, C. A. (2006). *Klebsiella, citrobacter, enterobacter and serratia spp. Principles and practice of Clinical Bacteriology*, 377-386.
<http://dx.doi.org/10.1002/9780470017968.ch30>
194. Hasan, T. H., & Al-Harmoosh, R. A. (2020). Mechanisms of antibiotics resistance in bacteria. *Sys Rev Pharm*, 11(6), 817-823.
<http://dx.doi.org/10.5530/srp.2019.2.04>
195. Hashemizadeh, Z., Hosseinzadeh, Z., Azimzadeh, N., & Motamedifar, M. (2020). Dissemination pattern of multidrug resistant carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* isolates using pulsed-field gel electrophoresis in Southwestern Iran. *Infection and drug resistance*, 13, 921.
<https://dx.doi.org/10.2147%2FIDR.S227955>
196. Hegazy, W. A., Khayat, M. T., Ibrahim, T. S., Youns, M., Mosbah, R., & Soliman, W. E. (2021). Repurposing of antidiabetics as *Serratia marcescens* virulence inhibitors. *Brazilian Journal of Microbiology*, 52(2), 627-638.
<https://doi.org/10.1007/s42770-021-00465-8>
197. Helène Garrec, Laurence Drieux-Rouzet, Jean-Louis Golmard, Vincent Jarlier, and Jerome Robert (2011). Comparison of Nine Phenotypic Methods for Detection of Extended-Spectrum β -Lactamase Production by Enterobacteriaceae. *Journal of clinical microbiology*, Vol. 49, No. 3. Mar. 2011, p. 1048–1057
<https://doi.org/10.1128/JCM.02130-10>
198. Heller, I., Grif, K., & Orth, D. (2012). Emergence of VIM-1-carbapenemase-producing *Enterobacter cloacae* in Tyrol, Austria. *Journal of medical microbiology*, 61(4), 567-571. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.038646-0>
199. Henna, A., Nemmiche, S., Dandlen, S., & Miguel, M. G. (2019). Myrtus communis essential oils: Insecticidal, antioxidant and antimicrobial activities: A review. *Journal of Essential Oil Research*, 31(6), 487-545.
<https://doi.org/10.1080/10412905.2019.1611672>

Références bibliographiques

200. Herindrainy, P., Randrianirina, F., Ratovoson, R., Ratsima Hariniana, E., Buisson, Y., Genel, N., ... & Richard, V. (2011). Rectal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing gram-negative bacilli in community settings in Madagascar. *PLoS one*, 6(7), e22738. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0022738>
201. Hidalgo, L., Hopkins, K. L., Gutierrez, B., Ovejero, C. M., Shukla, S., Douthwaite, S., ... & Gonzalez-Zorn, B. (2013). Association of the novel aminoglycoside resistance determinant RmtF with NDM carbapenemase in Enterobacteriaceae isolated in India and the UK. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 68(7), 1543-1550. <https://doi.org/10.1093/jac/dkt078>
202. Hooper, D. C., & Jacoby, G. A. (2016). Topoisomerase inhibitors: fluoroquinolone mechanisms of action and resistance. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, 6(9), a025320. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025320>
203. Hooton, T. M. (2012). Uncomplicated urinary tract infection. *New England Journal of Medicine*, 366(11), 1028-1037. <https://doi.org/10.1056/nejmcp1104429>
204. Huang, T. D., Bogaerts, P., Berhin, C., Guisset, A., & Glupczynski, Y. (2010). Evaluation of Brilliance ESBL agar, a novel chromogenic medium for detection of extended-spectrum-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Clinical Microbiology*, 48(6), 2091-2096. <https://doi.org/10.1128/JCM.02342-09>

J

205. Iacchini, S., Sabbatucci, M., Gagliotti, C., Rossolini, G. M., Moro, M. L., Iannazzo, S., ... & Pantosti, A. (2019). Bloodstream infections due to carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Italy: results from nationwide surveillance, 2014 to 2017. *Eurosurveillance*, 24(5), 1800159.
206. Ibrahim, M. E., Abbas, M., Al-Shahrai, A. M., & Elamin, B. K. (2019). Phenotypic characterization and antibiotic resistance patterns of extended-spectrum β -Lactamase-and AmpC β -lactamase-producing Gram-negative bacteria in a referral hospital, Saudi Arabia. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/6054694>
207. Ioannou, P., Vamvoukaki, R., & Kofteridis, D. P. (2022). Infective endocarditis by *Enterobacter cloacae*: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Chemotherapy*, 34(1), 1-8. <https://doi.org/10.1080/1120009X.2021.1959786>

Références bibliographiques

208. Iredell, J., Brown, J., & Tagg, K. (2016). Antibiotic resistance in Enterobacteriaceae: mechanisms and clinical implications. *Bmj*, 352. <https://doi.org/10.1136/bmj.h6420>
209. Iseppi, R., Di Cerbo, A., Aloisi, P., Manelli, M., Pellesi, V., Provenzano, C., ... & Sabia, C. (2020). In vitro activity of essential oils against planktonic and biofilm cells of extended-spectrum β -lactamase (ESBL)/carbapenamase-producing gram-negative bacteria involved in human nosocomial infections. *Antibiotics*, 9(5), 272. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9050272>
210. Ismail, S. J., & Mahmoud, S. S. (2018). First detection of New Delhi metallo- β -lactamases variants (NDM-1, NDM-2) among *Pseudomonas aeruginosa* isolated from Iraqi hospitals. *Iranian journal of microbiology*, 10(2), 98.
- J**
211. Jauregui, F. 2009. Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris*. 25(3): 221-223. <https://doi.org/10.1051/medsci/2009253221>
212. Jacoby, G. A., & Munoz-Price, L. S. (2005). The new β -lactamases. *New England Journal of Medicine*, 352(4), 380-391. <https://doi.org/10.1056/NEJMra041359>
213. Jacob, G. (2010). Émergence des entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi. *Option/Bio*, 21(438), 18-20. [https://doi.org/10.1016/S0992-5945\(10\)70476-1](https://doi.org/10.1016/S0992-5945(10)70476-1)
214. Jalil, M. B., & Al Atbee, M. Y. N. (2022). The prevalence of multiple drug resistance *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated from patients with urinary tract infections. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 36(9), e24619. <https://doi.org/10.1002/jcla.24619>
215. Jedidi, S., Aloui, F., Selmi, H., Rtibi, K., Dallali, S., & SEBAI, C. A. E. H. (2018). Ethnobotanical survey on the traditional use of officinal sage (*Salvia officinalis* L.) in Tabarka and Aïn Draham (Northwestern of Tunisia). *J. New Sci.*, 18, 3402-3412
216. Jeong, M. R., Kim, H. Y., & Cha, J. D. (2009). Antimicrobial activity of methanol extract from *Ficus carica* leaves against oral bacteria. *Journal of Bacteriology and Virology*, 39(2), 97-102. <https://doi.org/10.4167/jbv.2009.39.2.97>

Références bibliographiques

217. Jeong, S., Lee, N., Park, Y., Kim, J., Jeon, K., Park, M. J., & Song, W. (2022). Prevalence and clinical impact of coinfection in patients with coronavirus disease 2019 in Korea. *Viruses*, 14(2), 446. <https://doi.org/10.3390/v14020446>
218. Jin, Y., Shao, C., Li, J., Fan, H., Bai, Y., & Wang, Y. (2015). Outbreak of multidrug resistant NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* from a neonatal unit in Shandong Province, China. *PLoS One*, 10(3), e0119571. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0119571>
219. Jovanović, A. A., Đorđević, V. B., Zdunić, G. M., Pljevljakušić, D. S., Šavikin, K. P., Gođevac, D. M., & Bugarski, B. M. (2017). Optimization of the extraction process of polyphenols from *Thymus serpyllum* L. herb using maceration, heat-and ultrasound-assisted techniques. *Separation and Purification Technology*, 179, 369-380. <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2017.01.055>
220. Joy, N. B., Cajethan, O. E., Munachimso, E. N., & Tolulope, S. A. (2021). Prevalence of integrons in Enterobacteriaceae obtained from clinical samples. *Journal of Microbiology and Antimicrobials*, 13(1), 1-10. <https://doi.org/10.5897/JMA2020.433>
221. Juergens, L. J., Racké, K., Tuleta, I., Stoeber, M., & Juergens, U. R. (2017). Anti-inflammatory effects of 1, 8-cineole (eucalyptol) improve glucocorticoid effects in vitro: a novel approach of steroid-sparing add-on therapy for COPD and asthma?. *Synergy*, 5, 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.synres.2017.08.001>
222. Jugreet, B. S., Suroowan, S., Rengasamy, R. K., & Mahomoodally, M. F. (2020). Chemistry, bioactivities, mode of action and industrial applications of essential oils. *Trends in Food Science & Technology*, 101, 89-105. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2020.04.025>

K

223. Kaase, M., Schimanski, S., Schiller, R., Beyreiss, B., Thuermer, A., Steinmann, J., ... & Gatermann, S. G. (2016). Multicentre investigation of carbapenemase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in German hospitals. *International Journal of Medical Microbiology*, 306(6), 415-420. <https://doi.org/10.1016/j.ijmm.2016.05.009>
224. Kadri, K. (2019). Polymerase chain reaction (PCR): principle and applications. In *Synthetic Biology-New Interdisciplinary Science*. IntechOpen.

Références bibliographiques

225. Kandhai, M. C., Reij, M. W., Van Puyvelde, K., Guillaume-Gentil, O., Beumer, R. R., & Van Schothorst, M. (2004). A new protocol for the detection of *Enterobacter sakazakii* applied to environmental samples. *Journal of food protection*, 67(6), 1267-1270. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-67.6.1267>
226. Kang, C. I., Kim, J., Park, D. W., Kim, B. N., Ha, U. S., Lee, S. J., ... & Wie, S. H. (2018). Clinical practice guidelines for the antibiotic treatment of community-acquired urinary tract infections. *Infection & chemotherapy*, 50(1), 67-100. <https://doi.org/10.3947/ic.2018.50.1.67>
227. Kaper, J. B., Nataro, J. P., & Mobley, H. L. (2004). Pathogenic escherichia coli. *Nature reviews microbiology*, 2(2), 123-140.
228. Karanika, S., Karantanos, T., Arvanitis, M., Grigoras, C., & Mylonakis, E. (2016). Fecal colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae and risk factors among healthy individuals: a systematic review and metaanalysis. *Reviews of Infectious Diseases*, 63(3), 310-318. <https://doi.org/10.1093/cid/ciw283>
229. Kaya, D. A., Ghica, M. V., Dănilă, E., Öztürk, Ş., Türkmen, M., Albu Kaya, M. G., & Dinu-Pîrvu, C. E. (2020). Selection of optimal operating conditions for extraction of *Myrtus Communis* L. essential oil by the steam distillation method. *Molecules*, 25(10), 2399. <https://doi.org/10.3390/molecules25102399>
230. Kazmierczak, K. M., Rabine, S., Hackel, M., McLaughlin, R. E., Biedenbach, D. J., Bouchillon, S. K., ... & Bradford, P. A. (2016). Multiyear, multinational survey of the incidence and global distribution of metallo- β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(2), 1067-1078. <https://doi.org/10.1128/AAC.02379-15>
231. Kengne, L. G., Nyegue, M. A., Del, E., Ndedi, F. M., & Etoa, F. X. (2019). Antibacterial activity of selected plant essential oils on airborne bacteria and mode of action on membrane integrity. *Am. J. Essent*, 7, 28-35. <https://doi.org/10.1155%2F2015%2F795435>
232. Khaldi, Z., Nayme, K., Bourjilat, F., Bensaci, A., Timinouni, M., & El-Hadj-Khelil, A. O. (2022). Detection of ESBLs and carbapenemases among Enterobacteriaceae isolated from diabetic foot infections in Ouargla, Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 16(11), 1732-1738. <https://doi.org/10.3855/jidc.16660>

Références bibliographiques

233. Khalil, R., & Li, Z. G. (2011). Antimicrobial activity of essential oil of *Salvia officinalis* L. collected in Syria. *African Journal of Biotechnology*, 10(42), 8397-8402. <https://doi.org/10.5897/AJB10.2615>
234. Khan, M. A., Mohamed, A. M., Faiz, A., & Ahmad, J. (2019). Enterobacterial infection in Saudi Arabia: First record of *Klebsiella pneumoniae* with triple carbapenemase genes resistance. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 334-341. <https://doi.org/10.3855/jidc.11056>
235. Khanna A, Khanna M, Aggarwal A (2013) *Serratia marcescens*—a rare opportunistic nosocomial pathogen and measures to limit its spread in hospitalized patients. *J Clin Diagn Res* 7(2):243. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/5010.2737>
236. Khiya, Z., Oualcadi, Y., Gamar, A., Berrekhis, F., Zair, T., & Hilali, F. E. (2021). Correlation of total polyphenolic content with antioxidant activity of hydromethanolic extract and their fractions of the *Salvia officinalis* leaves from different regions of Morocco. *Journal of Chemistry*, 2021, 1-11. <https://doi.org/10.1155/2021/8585313>
237. Kieffer, N., Nordmann, P., Aires-de-Sousa, M., & Poirel, L. (2016). High prevalence of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among hospitalized children in Luanda, Angola. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(10), 6189-6192. <https://doi.org/10.1128/aac.01201-16>
238. Kim, S. H., Ha, U. S., Yoon, B. I., Kim, S. W., Sohn, D. W., Kim, H. W., ... & Cho, Y. H. (2014). Microbiological and clinical characteristics in acute bacterial prostatitis according to lower urinary tract manipulation procedure. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(1), 38-42. <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2013.11.004>
239. Kimera, F., Sewilam, H., Fouad, W. M., & Suloma, A. (2021). Efficient utilization of aquaculture effluents to maximize plant growth, yield, and essential oils composition of *Origanum majorana* cultivation. *Annals of Agricultural Sciences*, 66(1), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.11.002>
240. Köksal, E., Tohma, H., Kılıç, Ö., Alan, Y., Aras, A., Gülçin, İ., & Bursal, E. (2017). Assessment of antimicrobial and antioxidant activities of *Nepeta trachonitica*: analysis of its phenolic compounds using HPLC-MS/MS. *Scientia pharmaceutica*, 85(2), 24. <https://doi.org/10.3390/scipharm85020024>
241. Köning, W.A., Hochmuth, D.H., Joulain, D. (2004). Terpenoids and related constituents of essential oils. University of Hambourg, Institute of Organic Chemistry, Hambourg, Germany

Références bibliographiques

242. Kontogianni, V. G., Tomic, G., Nikolic, I., Nerantzaki, A. A., Sayyad, N., Stosic-Grujicic, S., ... & Tzakos, A. G. (2013). Phytochemical profile of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis* extracts and correlation to their antioxidant and anti-proliferative activity. *Food chemistry*, *136*(1), 120-129. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.07.091>
243. Kopotsa, K., Osei Sekyere, J., & Mbelle, N. M. (2019). Plasmid evolution in carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: a review. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *1457*(1), 61-91. <https://doi.org/10.1111/nyas.14223>
244. Korzeniewska, E., & Harnisz, M. (2013). Beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital effluents. *Journal of Environmental Management*, *123*, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2013.03.024>
245. Kpoda, D. S., Guessennd, N., Somda, N. S., Ajayi, A., Bonkougou, J. I., Konan, F., ... & Traore, A. S. (2017). Antimicrobial susceptibility of extended-spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae causing urinary tract infections in Ouagadougou, Burkina Faso. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, *18*(3), 139-144. <https://doi.org/10.4314/ajcem.v18i3.2>
246. Kumar, A., & Schweizer, H. P. (2005). Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Advanced drug delivery reviews*, *57*(10), 1486-1513. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2005.04.004>
247. Kumarasamy, K. K., Toleman, M. A., Walsh, T. R., Bagaria, J., Butt, F., Balakrishnan, R., ... & Woodford, N. (2010). Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study. *The Lancet infectious diseases*, *10*(9), 597-602. [https://doi.org/10.1016%2FS1473-3099\(10\)70143-2](https://doi.org/10.1016%2FS1473-3099(10)70143-2)
248. Kuriyama, T., Karasawa, T., & Williams, D. W. (2014). Antimicrobial chemotherapy: Significance to healthcare. In *Biofilms in Infection Prevention and Control* (pp. 209-244). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397043-5.00013-X>
249. Kurmukov, A. G. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. In *Medicinal Plants of Central Asia: Uzbekistan and Kyrgyzstan* (pp. 13-14). Springer, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-3912-7_4
250. Kurz, M. S., Bayingana, C., Ndoli, J. M., Sendegeya, A., Durst, A., Pfüller, R., ... & Mockenhaupt, F. P. (2017). Intense pre-admission carriage and further acquisition

Références bibliographiques

- of ESBL-producing Enterobacteriaceae among patients and their caregivers in a tertiary hospital in Rwanda. *Tropical Medicine & International Health*, 22(2), 210-220. <https://doi.org/10.1111/tmi.12824>
251. Kwetche, P. R. F., Louokdom, J. S., Kamba, C., Kaba, K., & Kouamouo, J. (2015). β -Lactamase-Associated resistance phenotypes amongst multidrug resistant Bacteria isolated in a School Hospital of West Cameroon. *Integrated Journal of British*, 2(8), 01-70.
252. Kwok, K. O., Chan, E., Chung, P. H., Tang, A., Wei, W. I., Zhu, C., ... & Ip, M. (2020). Prevalence and associated factors for carriage of Enterobacteriaceae producing ESBLs or carbapenemase and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Hong Kong community. *Journal of Infection*, 81(2), 242-247. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.05.033>

L

253. Iacovelli, V., Gaziev, G., Topazio, L., Bove, P., Vespasiani, G., & Agrò, E. F. (2014). Nosocomial urinary tract infections: A review. *Urologia Journal*, 81(4), 222-227. <https://doi.org/10.5301/uro.5000092>
254. Lakhal, H., Ghorab, H., Chibani, S., Kabouche, A., Semra, Z., Smati, F., ... & Kabouche, Z. (2013). Chemical composition and biological activities of the essential oil of *Salvia officinalis* from Batna (Algeria). *Der Pharmacia Lettre*, 5(3), 310-314.
255. Laib, I. (2012). Etude des activités antioxydante et antifongique de l'huile essentielle des fleurs sèches de *Lavandula officinalis*: application aux moisissures des légumes secs. *Revue Nature et Technologie*, 4(2), 44-52.
256. Lee, P. Y., Costumbrado, J., Hsu, C. Y., & Kim, Y. H. (2012). Agarose gel electrophoresis for the separation of DNA fragments. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, (62), e3923. <https://doi.org/10.3791%2F3923>
257. Lee, M., & Chung, H. S. (2015). Different antimicrobial susceptibility testing methods to detect ertapenem resistance in Enterobacteriaceae: VITEK2, MicroScan, Etest, disk diffusion, and broth microdilution. *Journal of microbiological methods*, 112, 87-91. <https://doi.org/10.1016/j.mimet.2015.03.014>
258. Lee, D. S., Choe, H. S., Kim, H. Y., Yoo, J. M., Bae, W. J., Cho, Y. H., ... & Lee, S. J. (2016). Role of age and sex in determining antibiotic resistance in febrile

Références bibliographiques

- urinary tract infections. *International Journal of Infectious Diseases*, 51, 89-96. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.08.015>
259. Lee, Y. L., Chen, H. M., Hii, M., & Hsueh, P. R. (2022). Carbapenemase-producing Enterobacterales infections : Recent advances in diagnosis and treatment. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 59(2), 106528. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2022.106528>
260. Leela, T., & Satirapipathkul, C. (2011). Studies on the antibacterial activity of *Quercus infectoria* galls. In *International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* (Vol. 5, pp. 410-414). IACSIT Press Singapore.
261. Lefebvre, T., Destandau, E., & Lesellier, E. (2021). Selective extraction of bioactive compounds from plants using recent extraction techniques: A review. *Journal of Chromatography A*, 1635, 461770. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2016.04.004>
262. Lekhniuk, N., Fesenko, U., Pidhirnyi, Y., Sękowska, A., Korniychuk, O., & Konechnyi, Y. (2021). *Raoultella terrigena*: Current state of knowledge, after two recently identified clinical cases in Eastern Europe. *Clinical Case Reports*, 9(5). <https://doi.org/10.1002%2Fccr3.4089>
263. Levison, M. E., & Kaye, D. (2013). Treatment of complicated urinary tract infections with an emphasis on drug-resistant gram-negative uropathogens. *Current infectious disease reports*, 15(2), 109-115. <https://doi.org/10.1007/s11908-013-0315-7>
264. Le Saux, N., Société canadienne de pédiatrie, & Comité des maladies infectieuses et d'immunisation. (2014). La gestion des antimicrobiens dans la pratique quotidienne: administrer une ressource importante. *Paediatrics & Child Health*, 19(4), 266-270.
265. Liang, C., Xing, B., Yang, X., Fu, Y., Feng, Y., & Zhang, Y. (2015). Molecular epidemiology of aminoglycosides resistance on *Klebsiella pneumoniae* in a hospital in China. *International journal of clinical and experimental medicine*, 8(1), 1381.
266. Li, B., Zhao, Y., Liu, C., Chen, Z., & Zhou, D. (2014). Molecular pathogenesis of *Klebsiella pneumoniae*. *Future microbiology*, 9(9), 1071-1081. <https://doi.org/10.2217/fmb.14.48>
267. Li, B., Feng, J., Zhan, Z., Yin, Z., Jiang, Q., Wei, P., ... & Zhou, D. (2018). Dissemination of KPC-2-encoding IncX6 plasmids among multiple Enterobacteriaceae species in a single Chinese hospital. *Frontiers in microbiology*, 9, 478. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00478>

Références bibliographiques

268. Lichtenberger, P., & Hooton, T. M. (2008). Complicated urinary tract infections. *Current infectious disease reports*, 10(6), 499-504. <https://doi.org/10.1007/s11908-008-0081-0>
269. Lima, L. M., da Silva, B. N. M., Barbosa, G., & Barreiro, E. J. (2020). β -lactam antibiotics: An overview from a medicinal chemistry perspective. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 208, 112829. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2020.112829>
270. Lindstedt, B. A., Finton, M. D., Porcellato, D., & Brandal, L. T. (2018). High frequency of hybrid *Escherichia coli* strains with combined Intestinal Pathogenic *Escherichia coli* (IPEC) and Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* (ExPEC) virulence factors isolated from human faecal samples. *BMC infectious diseases*, 18(1), 1-12. <https://doi.org/10.1186/s12879-018-3449-2>
271. Lister, S. A., & Barrow, P. (2008). Enterobacteriaceae. Poultry diseases, 110.10.1016/B978-0-7020-2862-5.50013-1
272. Liu, J., Bai, R., Liu, Y., Zhang, X., Kan, J., & Jin, C. (2018). Isolation, structural characterization and bioactivities of naturally occurring polysaccharide–polyphenolic conjugates from medicinal plants—A reievw. *International journal of biological macromolecules*, 107, 2242-2250. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.10.097>
273. Liu, H., Qiu, S., Chen, M., Lyu, J., Yu, G., & Xue, L. (2022). A clinical prediction tool for extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae urinary tract infection. *BMC infectious diseases*, 22(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07040-y>
274. Lobel, B., Soussy, C. J., Elkharrat, D., Arrouy, L., Benhamou, F., Dray, A., ... & Corre, A. L. (2007). Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. Les infections urinaires, 1-20.
275. Logan, L. K., Braykov, N. P., Weinstein, R. A., & Laxminarayan, R. (2014). Extended-spectrum β -lactamase–producing and third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae in children: trends in the United States, 1999–2011. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 3(4), 320-328. <https://doi.org/10.1093/jpids/piu010>
276. Loqman, S., Soraa, N., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2021). Dissemination of Carbapenemases (OXA-48, NDM and VIM) Producing Enterobacteriaceae Isolated from the Mohamed VI University Hospital in Marrakech, Morocco. *Antibiotics*, 10(5), 492. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050492>

Références bibliographiques

277. Lorme, F., Maataoui, N., Rondinaud, E., Esposito-Farèse, M., Clermont, O., Ruppe, E., ... & Armand-Lefevre, L. (2018). Acquisition of plasmid-mediated cephalosporinase producing Enterobacteriaceae after a travel to the tropics. *PLoS One*, 13(12), e0206909. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0206909>
278. Lopes, E., Saavedra, M. J., Costa, E., de Lencastre, H., Poirel, L., & Aires-de-Sousa, M. (2020). Epidemiology of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* in northern Portugal: Predominance of KPC-2 and OXA-48. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 22, 349-353. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.04.007>
279. Loughlin, R., Gilmore, B. F., McCarron, P. A., & Tunney, M. M. (2008). Comparison of the cidal activity of tea tree oil and terpinen-4-ol against clinical bacterial skin isolates and human fibroblast cells. *Letters in applied microbiology*, 46(4), 428-433. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2008.02334.x>
280. Lupo, A., Papp-Wallace, K. M., Sendi, P., Bonomo, R. A., & Endimiani, A. (2013). Non-phenotypic tests to detect and characterize antibiotic resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 77(3), 179-194. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2013.06.001>
281. Lynch III, J. P., Clark, N. M., & Zhanel, G. G. (2013). Evolution of antimicrobial resistance among Enterobacteriaceae (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert opinion on pharmacotherapy*, 14(2), 199-210. <https://doi.org/10.1517/14656566.2013.763030>

M

282. Maamar, B., Messadi, A. A., & Thabet, L. (2019). Profil moléculaire et résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de carbapénèmases chez le brûlé. *Annals of Burns and Fire Disasters*, 32(3), 203.
283. Mahamat, O. O., Kempf, M., Lounnas, M., Tidjani, A., Hide, M., Benavides, J. A., ... & Godreuil, S. (2021). Epidemiology and prevalence of extended-spectrum β -lactamase-and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in humans, animals and the environment in West and Central Africa. *International journal of antimicrobial agents*, 57(1), 106203. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2020.106203>

Références bibliographiques

284. Mahdi, S., Azzi, R., & Lahfa, F. B. (2020). Evaluation of in vitro α -amylase and α -glucosidase inhibitory potential and hemolytic effect of phenolic enriched fractions of the aerial part of *Salvia officinalis* L. *Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews*, 14(4), 689-694. <https://doi.org/10.1016/j.dsx.2020.05.002>
285. Makena, A., Düzgün, A. Ö., Brem, J., McDonough, M. A., Rydzik, A. M., Abboud, M. I., ... & Schofield, C. J. (2016). Comparison of Verona integron-borne metallo- β -lactamase (VIM) variants reveals differences in stability and inhibition profiles. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(3), 1377-1384. <https://doi.org/10.1128/aac.01768-15>
286. Mancini, S., Kieffer, N., Poirel, L., & Nordmann, P. (2017). Evaluation of the RAPIDEC® CARBA NP and β -CARBA® tests for rapid detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 88(4), 293-297. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.05.006>
287. Mansour, W., Grami, R., Khalifa, A. B. H., Dahmen, S., Châtre, P., Haenni, M., ... & Madec, J. Y. (2015). Dissemination of multidrug-resistant blaCTX-M-15/IncFIIk plasmids in *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospital-and community-acquired human infections in Tunisia. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 83(3), 298-304. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2015.07.023>
288. Markovska, R. D., Stoeva, T. J., Bojkova, K. D., & Mitov, I. G. (2014). Epidemiology and molecular characterization of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacter* spp., *Pantoea agglomerans*, and *Serratia marcescens* isolates from a Bulgarian hospital. *Microbial Drug Resistance*, 20(2), 131-137. <https://doi.org/10.1089/mdr.2013.0102>
289. Martínez-Martínez, L., & González-López, J. J. (2014). Carbapenemases in Enterobacteriaceae: types and molecular epidemiology. *Enfermedades infecciosas y microbiología clinica*, 32, 4-9. [https://doi.org/10.1016/S0213-005X\(14\)70168-5](https://doi.org/10.1016/S0213-005X(14)70168-5)
290. Martin, D., Fougnot, S., Grobost, F., Thibaut-Jovelin, S., Ballereau, F., Gueudet, T., ... & Weber, P. (2016). Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in community-onset urinary tract infections in France in 2013. *Journal of Infection*, 72(2), 201-206. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2015.11.009>
291. Martins, A. F., Bail, L., Ito, C. A. S., da Silva Nogueira, K., Dalmolin, T. V., Martins, A. S., ... & Tuon, F. F. (2018). Antimicrobial activity of plazomicin against Enterobacteriaceae-producing carbapenemases from 50 Brazilian medical

Références bibliographiques

- centers. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease*, 90(3), 228-232.
<https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2017.11.004>
292. Mateos, M., Hernández-García, M., Del Campo, R., Martínez-García, L., Gijón, D., Morosini, M. I., ... & Cantón, R. (2021). Emergence and persistence over time of carbapenemase-producing *Enterobacter* isolates in a Spanish university hospital in Madrid, Spain (2005–2018). *Microbial Drug Resistance*, 27(7), 895-903.
<https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0265>
293. Mathlouthi N., Al-Bayssari C., El Salabi A., Bakour S., Ben Gwierif S., Zorgani A.A., Jridi Y., Ben Slama K., Rolain J.M. & Chouchani C., 2016. Carbapenemases and extended-spectrum β -lactamases producing *Enterobacteriaceae* isolated from Tunisian and Libyan hospitals. *Journal of Infection in Developing Countries*, 10 : 718-727
294. Matsumura, Y., Peirano, G., Devinney, R., Bradford, P. A., Motyl, M. R., Adams, M. D., ... & Pitout, J. D. (2017). Genomic epidemiology of global VIM-producing *Enterobacteriaceae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 72(8), 2249-2258. <https://doi.org/10.1093/jac/dkx148>
295. Meini, S., Tascini, C., Cei, M., Sozio, E., & Rossolini, G. M. (2019). AmpC β -lactamase-producing *Enterobacterales*: what a clinician should know. *Infection*, 47(3), 363-375.
296. Mellouli, A., Chebbi, Y., Raddaoui, A., El Fatmi, R., Ladeb, S., Othmen, T. B., & Achour, W. (2021). *Raoultella terrigena* infections in hematopoietic stem cell transplant recipients: High rate of mortality in multidrug-resistant strains-A retrospective observational study. *Indian Journal of Transplantation*, 15(2), 118.
https://doi.org/10.4103/ijot.ijot_99_20
297. Melo, L. C., Oresco, C., Leigue, L., Netto, H. M., Melville, P. A., Benites, N. R., ... & Madec, J. Y. (2018). Prevalence and molecular features of ESBL/pAmpC-producing *Enterobacteriaceae* in healthy and diseased companion animals in Brazil. *Veterinary microbiology*, 221, 59-66.
<https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2018.05.017>
298. Merah-Fergani, O., Sebahia, M., Berrazeg, M., Amraoui, R., Diene, S. M., & Rolain, J. M. (2022). Occurrence and Diversity of Extended-Spectrum β -lactamases in Clinical Isolates of *Enterobacteriaceae* in A Tertiary Care Hospital in Algeria.

Références bibliographiques

299. Meziane, M. A. L. I. K. A., & Goumri, H. A. L. I. M. A. (2014). The antimicrobial effect of extracts of *Melia azedarach* on some pathogenic microorganisms. *Int. J. Appl. Nat. Sci*, 3, 173-180.
300. Miftode, I. L., Nastase, E. V., Miftode, R. Ş., Miftode, E. G., Iancu, L. S., Luncă, C., ... & Dorneanu, O. S. (2021). Insights into multidrug-resistant *K. pneumoniae* urinary tract infections: From susceptibility to mortality. *Experimental and Therapeutic Medicine*, 22(4), 1-9.
301. Mighri, H., Hajlaoui, H., Akrou, A., Najjaa, H., & Neffati, M. (2010). Antimicrobial and antioxidant activities of *Artemisia herba-alba* essential oil cultivated in Tunisian arid zone. *Comptes Rendus Chimie*, 13(3), 380-386. <https://doi.org/10.1016/j.crci.2009.09.008>
302. Miguel, G., Cruz, C., Faleiro, M. L., Simões, M. T. F., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., & Pedro, L. G. (2011). *Salvia officinalis* L. essential oils: effect of hydrodistillation time on the chemical composition, antioxidant and antimicrobial activities. *Natural product research*, 25(5), 526-541. <https://doi.org/10.1080/14786419.2010.499513>
303. Millán-Rodríguez, F., Palou, J., Bujons-Tur, A., Musquera-Felip, M., Sevilla-Cecilia, C., Serrallach-Orejas, M., ... & Villavicencio-Mavrich, H. (2006). Acute bacterial prostatitis: two different sub-categories according to a previous manipulation of the lower urinary tract. *World journal of urology*, 24(1), 45-50. <https://doi.org/10.1007/s10156-011-0350-y>
304. Mimica-Dukić, N., Bugarin, D., Grbović, S., Mitić-Ćulafić, D., Vuković-Gačić, B., Orčić, D., ... & Couladis, M. (2010). Essential oil of *Myrtus communis* L. as a potential antioxidant and antimutagenic agents. *Molecules*, 15(4), 2759-2770. <https://doi.org/10.3390/molecules15042759>
305. Mir, M. A., Bashir, N., Alfaiy, A., & Oteef, M. D. (2020). GC-MS analysis of *Myrtus communis* extract and its antibacterial activity against Gram-positive bacteria. *BMC complementary medicine and therapies*, 20(1), 1-9. <https://doi.org/10.1186/s12906-020-2863-3>
306. Mirza, S., Jadhav, S., Misra, R. N., & Das, N. K. (2019). Coexistence of β -lactamases in community-acquired infections in a tertiary care hospital in India. *International Journal of Microbiology*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/7019578>

Références bibliographiques

307. Mirzaei, B., Babaei, R., Bazgir, Z. N., Goli, H. R., Keshavarzi, S., & Amiri, E. (2021). Prevalence of Enterobacteriaceae spp. and its multidrug-resistant rates in clinical isolates: a two-center cross-sectional study. *Molecular Biology Reports*, 48(1), 665-675.
308. Misra, R., & Bavro, V. N. (2009). Assembly and transport mechanism of tripartite drug efflux systems. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Proteins and Proteomics*, 1794(5), 817-825. <https://doi.org/10.1016/j.bbapap.2009.02.017>
309. Mizrahi, A., Delerue, T., Morel, H., Le Monnier, A., Carbonnelle, E., Pilmis, B., ... & Saint-Joseph/Avicenna Study Group. (2020). Infections caused by naturally AmpC-producing Enterobacteriaceae: Can we use third-generation cephalosporins? A narrative review. *International journal of antimicrobial agents*, 55(2), 105834. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2019.10.015>
310. Mobarki, N., Almerabi, B., & Hattan, A. (2019). Antibiotic resistance crisis. *Int. J. Med. Dev. Ctries*, 40(4), 561-564. <https://doi.org/10.7175/rhc.v7i1.1226>
311. Mohamed, A. H., Mohamud, M. F. Y., & Mohamud, H. A. (2020). Epidemiology and antimicrobial susceptibility pattern of uropathogens in patients with the community-and hospital-acquired urinary tract infections at a tertiary hospital in Somalia. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 13(9).
312. Mohd Khari, F. I., Karunakaran, R., Rosli, R., & Tee Tay, S. (2016). Genotypic and phenotypic detection of AmpC β -lactamases in *Enterobacter* spp. isolated from a teaching hospital in Malaysia. *PloS one*, 11(3), e0150643. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0150643>
313. Morris, S., & Cerceo, E. (2020). Trends, epidemiology, and management of multi-drug resistant gram-negative bacterial infections in the hospitalized setting. *Antibiotics*, 9(4), 196. <https://doi.org/10.3390/antibiotics9040196>
314. Mouanga Ndzime, Y., Onanga, R., Kassa Kassa, R. F., Bignoumba, M., Mbehang Nguema, P. P., Gafou, A., ... & Bisseye, C. (2021). Epidemiology of community origin *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* uropathogenic strains resistant to antibiotics in Franceville, Gabon. *Infection and Drug Resistance*, 585-594. <https://doi.org/10.2147/IDR.S296054>
315. Mouas, Y., Benrebiha, F. Z., & Chaouia, C. (2017). Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et de l'extrait méthanolique du romarin *rosmarinus officinalis* l. *Revue agrobiologia*, 7(1), 363-370.

Références bibliographiques

316. Mouas, T. N., Kabouche, Z., Aissani, Z., & Aryan, K. (2021). Medicinal Plant Roots Microbiome in Antibiotic Resistant Fight Therapy <https://doi.org/10.3390/IECAG2021-09698>
317. Moxon, C. A., & Paulus, S. (2016). Beta-lactamases in Enterobacteriaceae infections in children. *Journal of infection*, 72, S41-S49. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2016.04.021>
318. Muhwezi, I., Bazira, J., Zamarano, H., Byarugaba, F., Sabiiti, W., Holden, M., & Asiimwe, B. B. (2022). Quantification and Molecular Characterization of Extended Spectrum Beta-Lactamase Producing Enterobacteriaceae from Agropastoral Communities of Mbarara District, South Western Uganda. *Systematic Reviews in Pharmacy*, 13(8), 830-840. [doi: 10.31858/0975-8453.13.8.830-840](https://doi.org/10.31858/0975-8453.13.8.830-840)
319. Mulas, M., & Melis, R. A. M. (2011). Essential oil composition of myrtle (*Myrtus communis*) leaves. *Journal of herbs, spices & medicinal plants*, 17(1), 21-34. <https://doi.org/10.1080/10496475.2011.556986>
320. Muylaert, A., & Mainil, J. (2013). Quinolones et fluoroquinolones: des décennies de développement et d'utilisation. Le point sur les molécules vétérinaires Partie 1: le regard du bactériologiste. *de médecine vétérinaire*, 158, 73-81.

N

321. Naas, T., Poirel, L., & Nordmann, P. (2008). Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clinical microbiology and infection*, 14, 42-52. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2007.01861.x>
322. Nabti, L. Z., Sahli, F., Radji, N., Mezaghcha, W., Semara, L., Aberkane, S., ... & Godreuil, S. (2019). High prevalence of multidrug-resistant *Escherichia coli* in urine samples from inpatients and outpatients at a tertiary care hospital in Setif, Algeria. *Microbial Drug Resistance*, 25(3), 386-393. <https://doi.org/10.1089/mdr.2018.0314>
323. Nakasone, E. S., Kaneshiro, R., Min, K., & Tokeshi, J. (2015). Emergence of *Raoultella ornithinolytica* on O 'ahu: a case of community-acquired *R. ornithinolytica* urinary tract infection. *Hawai'i Journal of Medicine & Public Health*, 74(5), 174
324. Nakhli, R., Rada, R., Arsalane, L., Zouhair, S., & El Kamouni, Y. (2022). Bacteriological Profile of Urinary Tract Infections at the Avicenne Military Hospital in

Références bibliographiques

- Marrakech. *Saudi J Pathol Microbiol*, 7(2), 90-97.
<http://dx.doi.org/10.36348/sjpm.2022.v07i02.001>
325. Natoubi, S., Barguigua, A., Diawara, I., Timinouni, M., Rakib, K., Amghar, S., & Zerouali, K. (2020). Epidemiology of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases producing Enterobacteriaceae in Morocco. *J Contemp Clin Pract*, 6(2), 75-85.
326. NCCLS (1999): Methods for determining bactericidal activity of antimicrobial agents. Wayne Pa; Approved guideline, M26-A, National Committee for Clinical Laboratory Standards.
327. NCCLS (2002) Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals, Approved Standard. 2nd Edition, NCCLS Document M31-A2 22(6), Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne.
328. Ndoutamia, G., Bessimbaye, N., Kerah-Hinzoumbe, C., Yandai, F. H., Sangare, L., Traore, A. S., ... & Barro, N. (2014). Profil de résistance des agents étiologiques des diarrhées isolés au Tchad. *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 8(6), 2452-2461. <https://doi.org/10.4314/ijbcs.v8i6.8>
329. Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., & Timinouni, M. (2012). Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Médecine et maladies infectieuses*, 42(1), 20-29. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2011.10.001>
330. Neubauer, S., Madzgalla, S., Marquet, M., Klabunde, A., Büttner, B., Göhring, A., ... & Makarewicz, O. (2020). A genotype-phenotype correlation study of SHV β -lactamases offers new insight into SHV resistance profiles. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(7), e02293-19. <https://doi.org/10.1128/AAC.02293-19>
331. Nielsen, D. W., Ricker, N., Barbieri, N. L., Allen, H. K., Nolan, L. K., & Logue, C. M. (2020). Outer membrane protein A (OmpA) of extraintestinal pathogenic Escherichia coli. *BMC research notes*, 13(1), 1-7. <https://doi.org/10.1186/s13104-020-4917-5>
332. Nielubowicz, G. R., & Mobley, H. L. (2010). Host-pathogen interactions in urinary tract infection. *Nature Reviews Urology*, 7(8), 430-441. <https://doi.org/10.1038/nrurol.2010.101>

Références bibliographiques

333. Nilsen, E., Haldorsen, B. C., Sundsfjord, A., Simonsen, G. S., Ingebretsen, A., Naseer, U., ... & Norwegian Study Group on Invasive Enterobacter. (2013). Large IncHI2-plasmids encode extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) in *Enterobacter* spp. bloodstream isolates, and support ESBL-transfer to *Escherichia coli*. *Clinical Microbiology and Infection*, 19(11), E516-E518. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12274>
334. Niranjana, V., & Malini, A. (2014). Antimicrobial resistance pattern in *Escherichia coli* causing urinary tract infection among inpatients. *The Indian journal of medical research*, 139(6), 945.
335. Nordmann, P., & Carrer, A. (2010). Les carbapénèmases des entérobactéries. *Archives de pédiatrie*, 17, S154-S162. [https://doi.org/10.1016/S0929-693X\(10\)70918-0](https://doi.org/10.1016/S0929-693X(10)70918-0)
336. Nordmann, P., Naas, T., & Poirel, L. (2011). Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging infectious diseases*, 17(10), 1791. <https://doi.org/10.3201%2Fid1710.110655>
337. Nordmann, P., Poirel, L., Walsh, T. R., & Livermore, D. M. (2011). The emerging NDM carbapenemases. *Trends in microbiology*, 19(12), 588-595. <https://doi.org/10.1016/j.tim.2011.09.005>
338. Nordmann, P., Gniadkowski, M., Giske, C. G., Poirel, L., Woodford, N., Miriagou, V., & on Carbapenemases, E. N. (2012). Identification and screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(5), 432-438. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2012.03815.x>
339. Nordmann, P., Poirel, L., & Dortet, L. (2012). Rapid detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerging infectious diseases*, 18(9), 1503. <https://doi.org/10.3201%2Fid1809.120355>
340. Nordmann, P., Dortet, L., & Poirel, L. (2013). Multirésistance aux antibiotiques: l'émergence des entérobactéries productrices de carbapénèmases. *Revue francophone des laboratoires*-février, 449, 35-37. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(13\)71854-9](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(13)71854-9)
341. Nordmann, P., & Poirel, L. (2014). The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among *Enterobacteriaceae* worldwide. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(9), 821-830. <https://doi.org/10.1111/1469-0691.12719>
342. Nordmann, P., Sadek, M., Demord, A., & Poirel, L. (2020). NitroSpeed-Carba NP test for rapid detection and differentiation between different classes of

Références bibliographiques

- carbapenemases in Enterobacterales. *Journal of Clinical Microbiology*, 58(9), e00932-20. <https://doi.org/10.1128/jcm.00932-20>
343. Nouria, L., Djamel, E. A., Hafida, H., Frderic, R., & Richard, B. (2014). First characterization of CTX-M-15 and DHA-1 β -lactamases among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Laghouat Hospital, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 8(11), 1221-1227. <https://doi.org/10.5897/AJMR2013.6229>
344. Nouria, L., Hafida, H., Frderic, R., Richard, B., & Djamel-Eddine, A. (2016). Prevalence and molecular typing of extended-spectrum \hat{I}^2 -lactamases in *Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae* and *Citrobacter freundii* isolates from Laghouat Hospital, Algeria. *African Journal of Microbiology Research*, 10(35), 1430-1438. <https://doi.org/10.5897/AJMR2016.8263>
345. Nurzyńska-Wierdak, R., Zawislak, G., & Kowalski, R. (2015). The Content and composition of essential oil of *Origanum majorana* L. grown in Poland depending on harvest time and method of raw material preparation. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 18(6), 1482-1489. <http://dx.doi.org/10.1080/0972060X.2013.831569>
- O**
346. Ogbolu, D. O., Terry Alli, O. A., Webber, M. A., Oluremi, A. S., & Oloyede, O. M. (2018). CTX-M-15 is established in most multidrug-resistant uropathogenic Enterobacteriaceae and Pseudomonaceae from hospitals in Nigeria. *European Journal of Microbiology and Immunology*, 8(1), 20-24. <https://doi.org/10.1556/1886.2017.00012>
347. Oguntibeju, O. O. (2018). Medicinal plants with anti-inflammatory activities from selected countries and regions of Africa. *Journal of inflammation research*, 11, 307. <https://doi.org/10.2147/JIR.S167789>
348. Okoche, D., Asimwe, B. B., Katabazi, F. A., Kato, L., & Najjuka, C. F. (2015). Prevalence and characterization of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolated from Mulago National Referral Hospital, Uganda. *PloS one*, 10(8), e0135745. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0135745>
349. Oliphant, C. M., & Green, G. (2002). Quinolones: a comprehensive review. *American family physician*, 65(3), 455.

Références bibliographiques

350. Olivier, N. E., Oscar, N. D. Y., Alima, N. L. N., François, M. G., & Barthelemy, N. (2018). Antibacterial properties of the extracts of *Allexis obanensis* and *Allexis batangae* (Violaceae) collected at Kribi (South Cameroon). *J. Phytol*, 7, 275-284.
351. Olson, D. S., Asare, K., Lyons, M., & Hofinger, D. M. (2013). A novel case of *Raoultella planticola* urinary tract infection. *Infection*, 41, 259-261.
352. Onanga, R., Mbehang Nguema, P. P., Ndong Atome, G. R., Mabika Mabika, A., Ngoubangoye, B., Komba Tonda, W. L., ... & Lebibi, J. (2020). Prevalence of extended-spectrum β -lactamases in *E. coli* of Rats in the Region North East of Gabon. *Veterinary Medicine International*, 2020. <https://doi.org/10.1155/2020/5163493>
353. Osei Sekyere, J. (2018). Genomic insights into nitrofurantoin resistance mechanisms and epidemiology in clinical Enterobacteriaceae. *Future science OA*, 4(5), FSO293. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2017-0156>
354. Osei Sekyere, J., Reta, M. A., & Bernard Fourie, P. (2021). Risk factors for, and molecular epidemiology and clinical outcomes of, carbapenem-and polymyxin-resistant Gram-negative bacterial infections in pregnant women, infants, and toddlers: a systematic review and meta-analyses. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1502(1), 54-71. <https://doi.org/10.1111/nyas.14650>
355. Ouattara, L. H., Kabran, G. R. M., Guessennd, N. K., Konan, K. F., Mamyrbekova-Bekro, J. A., & Bekro, Y. A. (2017). Activités antibactériennes in vitro des extraits d'écorces de racines de *Mezoneuron benthamianum* et de tiges de *Paullinia pinnata*: 2 plantes de la pharmacopée Ivoirienne. *Pharmacopée et médecine traditionnelle africaine*, 18, 31-40.
356. Ouedraogo, S., Kpoda, D. S., Ouattara, L. P., Zongo, C., Hien, Y. E., Karfo, P., ... & Savadogo, A. (2022). Identification of Bacteria Strains Isolated in Urinary Tract Infections and Their Antibiotic Susceptibility at the National Public Health Laboratory, Ouagadougou. *Open Journal of Medical Microbiology*, 12(3), 83-95. <https://doi.org/10.4236/ojmm.2022.123008>
357. Oumaskour, K., Benaziz, M., & Ainane, T. (2021). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *pistacia lentiscus* l.
358. Ovidi, E., Laghezza Masci, V., Zambelli, M., Tiezzi, A., Vitalini, S., & Garzoli, S. (2021). *Laurus nobilis*, *Salvia sclarea* and *Salvia officinalis* essential oils and hydrolates: Evaluation of liquid and vapor phase chemical composition and biological activities. *Plants*, 10(4), 707. <https://doi.org/10.3390/plants10040707>

Références bibliographiques

P

359. Paczosa, M. K., & Meccas, J. (2016). *Klebsiella pneumoniae*: going on the offense with a strong defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629-661. <https://doi.org/10.1128/MMBR.00078-15>
360. Pagés, J. M., & Garnotel, E. (2003). Perméabilité membranaire et résistance aux antibiotiques chez les bactéries à gram négatif. *Revue française des laboratoires*, 2003(352), 57-63. [https://doi.org/10.1016/S0338-9898\(03\)80502-4](https://doi.org/10.1016/S0338-9898(03)80502-4)
361. Pagotto, F. J., Nazarowec-White, M., Bidawid, S., & Farber, J. M. (2003). *Enterobacter sakazakii*: infectivity and enterotoxin production in vitro and in vivo. *Journal of food protection*, 66(3), 370-375. <https://doi.org/10.4315/0362-028X-66.3.370>
362. Pandey, N., & Cascella, M. (2019). Beta lactam antibiotics. *Int. J. Europe PMC*.
Page, M. G. (2012). Beta-lactam antibiotics. In *Antibiotic discovery and development* (pp. 79-117). Springer, Boston, MA.
363. Pantel, A. (2015). Multirésistance des entérobactéries aux antibiotiques et modulation de l'influx et de l'efflux membranaires chez *Escherichia coli* ST131 (Doctoral dissertation, Université Montpellier).
364. Papp-Wallace, K. M., Endimiani, A., Taracila, M. A., & Bonomo, R. A. (2011). Carbapenems: past, present, and future. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(11), 4943-4960. <https://doi.org/10.1128/AAC.00296-11>
365. Papp-Wallace, K. M., Winkler, M. L., Gatta, J. A., Taracila, M. A., Chilakala, S., Xu, Y., ... & Bonomo, R. A. (2014). Reclaiming the efficacy of β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations: avibactam restores the susceptibility of CMY-2-producing *Escherichia coli* to ceftazidime. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 58(8), 4290-4297. <https://doi.org/10.1128/AAC.02625-14>
366. Partridge, S. R. (2015). Resistance mechanisms in Enterobacteriaceae. *Pathology*, 47(3), 276-284. <https://doi.org/10.1097/PAT.000000000000237>
367. Pavez, M., Vieira, C., de Araujo, M. R., Cerda, A., de Almeida, L. M., Lincopan, N., & Mamizuka, E. M. (2016). Molecular mechanisms of membrane impermeability in clinical isolates of Enterobacteriaceae exposed to imipenem selective

Références bibliographiques

- pressure. *International journal of antimicrobial agents*, 48(1), 78-85.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2016.04.016>
368. Paterson, D. L., & Bonomo, R. A. (2005). Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clinical microbiology reviews*, 18(4), 657-686.
<https://doi.org/10.1128/cmr.18.4.657-686.2005>
369. Paudel, P. N., Satyal, P., Satyal, R., Setzer, W. N., & Gyawali, R. (2022). Chemical Composition, Enantiomeric Distribution, Antimicrobial and Antioxidant Activities of *Origanum majorana* L. Essential Oil from Nepal. *Molecules*, 27(18), 6136.
<https://doi.org/10.3390/molecules27186136>
370. Pena, I., Picazo, J. J., Rodríguez-Avial, C., & Rodríguez-Avial, I. (2014). Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in a tertiary hospital in Madrid, Spain: high percentage of colistin resistance among VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* ST11 isolates. *International journal of antimicrobial agents*, 43(5), 460-464.
<https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.01.021>
371. Perdikouri, E. I. A., Arvaniti, K., Lathyris, D., Apostolidou Kiouti, F., Siskou, E., Haidich, A. B., & Papandreou, C. (2019). Infections due to multidrug-resistant bacteria in oncological patients: insights from a five-year epidemiological and clinical analysis. *Microorganisms*, 7(9), 277 <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090277>
372. Perera, P. D. V. M., Gamage, S., De Silva, H. S. M., Jayatilleke, S. K., de Silva, N., Aydin, A., ... & Corea, E. M. (2022). Phenotypic and genotypic distribution of ESBL, AmpC β -lactamase and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in community-acquired and hospital-acquired urinary tract infections in Sri Lanka. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 30, 115-122.
<https://doi.org/10.1016/j.jgar.2022.05.024>
373. Perez, F., Endimiani, A., Hujer, K. M., & Bonomo, R. A. (2007). The continuing challenge of ESBLs. *Current opinion in pharmacology*, 7(5), 459-469.
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2007.08.003>
374. Pérez, C. D. A., López-Fresneña, N., Carlavilla, A. L. R., Garcia, M. H., Ruiz-Garbajosa, P., Aranaz-Andrés, J. M., ... & Canton, R. (2019). Local prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae intestinal carriers at admission and co-expression of ESBL and OXA-48 carbapenemase in *Klebsiella pneumoniae*: a prevalence survey in a Spanish University Hospital. *BMJ open*, 9(3), e024879. <http://dx.doi.org/10.1136/bmjopen-2018-024879>

Références bibliographiques

375. Perry, J. D., Naqvi, S. H., Mirza, I. A., Alizai, S. A., Hussain, A., Ghirardi, S., ... & Raza, M. W. (2011). Prevalence of faecal carriage of Enterobacteriaceae with NDM-1 carbapenemase at military hospitals in Pakistan, and evaluation of two chromogenic media. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 66(10), 2288-2294. <https://doi.org/10.1093/jac/dkr299>
376. Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.95849>
377. Phelan, E. K., Miraula, M., Selleck, C., Ollis, D. L., Schenk, G., & Mitić, N. (2014). Metallo- β -lactamases: a major threat to human health. *American Journal of Molecular Biology*, 4(03), 89. <http://dx.doi.org/10.4236/ajmb.2014.43011>
378. Philippon, A. (2013). Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE). *Immuno-analyse & Biologie Spécialisée*, 28(5-6), 287-296. <https://doi.org/10.1016/j.immbio.2013.04.006>
379. Pieboji, J. G. (2007). Caractérisation des beta-lactamases et leur inhibition par les extraits de plantes médicinales. *Thse prsente en vue de lobtention du diplme de Doctorat s Sciences en Biochimie*.
380. Pimple, B. P., Kadam, P. V., & Patil, M. J. (2012). Ulcer healing properties of different extracts of Origanum majorana in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Asian Pacific journal of tropical disease*, 2(4), 312-318. [https://doi.org/10.1016/S2222-1808\(12\)60068-1](https://doi.org/10.1016/S2222-1808(12)60068-1)
381. Poinant, S., Guinard, J., Guigon, A., Bret, L., Poisson, D. M., Boulain, T., & Barbier, F. (2016). Risk factors and outcomes for intestinal carriage of AmpC-hyperproducing Enterobacteriaceae in intensive care unit patients. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 60(3), 1883-1887. <https://doi.org/10.1128/AAC.02101-15>
382. Poirel, L., Revathi, G., Bernabeu, S., & Nordmann, P. (2011). Detection of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* in Kenya. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 55(2), 934-936. <https://doi.org/10.1128/AAC.01247-10>
383. Poirel, L., Bonnin, R. A., & Nordmann, P. (2012). Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative rods. *Infection, Genetics and Evolution*, 12(5), 883-893.
384. Ponce, A. G., Fritz, R., Del Valle, C., Roura, S. I. (2003). Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684 [https://doi.org/10.1016/S0023-6438\(03\)00088-4](https://doi.org/10.1016/S0023-6438(03)00088-4)

Références bibliographiques

385. Ponce-Alonso, M., Rodríguez-Rojas, L., Del Campo, R., Cantón, R., & Morosini, M. I. (2016). Comparison of different methods for identification of species of the genus *Raoultella*: report of 11 cases of *Raoultella* causing bacteraemia and literature review. *Clinical Microbiology and Infection*, 22(3), 252-257. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2015.10.035>
386. Poole, K. (2004). Resistance to β -lactam antibiotics. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 61(17), 2200-2223. <https://doi.org/10.1007/s00018-004-4060-9>
387. Pourbaix, A., & Guérin, F. (2016). Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. *Journal des Anti-infectieux*, 18(3), 85-97. <https://doi.org/10.1016/j.antinf.2016.07.004>
388. Principe, L., Mauri, C., Conte, V., Pini, B., Giani, T., Rossolini, G. M., & Luzzaro, F. (2017). First report of NDM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* imported from Africa to Italy: evidence of the need for continuous surveillance. *Journal of global antimicrobial resistance*, 8, 23-27. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2016.10.004>

Q

389. Quan, J., Dai, H., Liao, W., Zhao, D., Shi, Q., Zhang, L., ... & Yu, Y. (2021). Etiology and prevalence of ESBLs in adult community-onset urinary tract infections in East China: a prospective multicenter study. *Journal of Infection*, 83(2), 175-181. <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2021.06.004>
390. Qureshi Z.A., Paterson D.L., Pakstis D.L., Adams-Haduch J.M., Sandkovsky G., Sordillo E., Polsky B., Peleg A.Y., Bhussar M.K. & Doi Y. 2011. Risk factors and outcome of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* bloodstream infections. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 37 : 26-32 <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2010.09.009>

R

391. Rada, A. M., De La Cadena, E., Agudelo, C., Capataz, C., Orozco, N., Pallares, C., ... & Restrepo, E. (2020). Dynamics of bla KPC-2 dissemination from non-CG258 *Klebsiella pneumoniae* to other Enterobacterales via IncN plasmids in an area of high endemicity. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 64(12), e01743-20. <https://doi.org/10.1128/AAC.01743-20>

Références bibliographiques

392. Radaelli, M., Silva, B. P. D., Weidlich, L., Hoehne, L., Flach, A., Costa, L. A. M. A. D., & Ethur, E. M. (2016). Antimicrobial activities of six essential oils commonly used as condiments in Brazil against *Clostridium perfringens*. *brazilian journal of microbiology*, 47, 424-430. <https://doi.org/10.1016/j.bjm.2015.10.001>
393. Rahal K., Belouni R., Benslimani A. (2005). Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale. Rec de L'OMS. 4^{ème} édition. Algérie.46-52
394. Raina, A. P., & Negi, K. S. (2012). Essential oil composition of *Origanum majorana* and *Origanum vulgare* ssp. *hirtum* growing in India. *Chemistry of Natural Compounds*, 47(6), 1015-1017. <https://doi.org/10.1007/s10600-012-0133-4>
395. Rakotovao-Ravahatra, Z. D., Randriatsarafara, F. M., Rasoanandrasana, S., Raverohanta, L., & Rakotovao, A. L. (2017). Phénotypes de résistance des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infection urinaire au laboratoire du Centre Hospitalo-Universitaire de Befelatanana Antananarivo. *The Pan African Medical Journal*, 26. . <https://doi.org/10.11604/2Fpamj.2017.26.166.11828>
396. Rakotovao-Ravahatra, Z. D., Randriatsarafara, F. M., Rakotovao, A. L., & Rasamindrakotroka, A. (2021). Prevalence and factors associated with extended-spectrum β lactamase producing Enterobacteriaceae bacteraemia in University Hospital of Befelatanana, Madagascar. *African Journal of Clinical and Experimental Microbiology*, 22(1), 52-59. <https://dx.doi.org/10.4314/ajcem.v22i1.7>
397. Ramazanzadeh, R. (2010). Etiologic agents and extended-spectrum beta-lactamase production in urinary tract infections in Sanandaj, Iran. *Eastern Journal of Medicine*, 15(2), 57-62.
398. Ramos, S., Rojas, L. B., Lucena, M. E., Meccia, G., & Usubillaga, A. (2011). Chemical composition and antibacterial activity of *Origanum majorana* L. essential oil from the Venezuelan Andes. *Journal of Essential Oil Research*, 23(5), 45-49. <https://doi.org/10.1080/10412905.2011.9700481>
399. Ramos, S., Silva, V., Dapkevicius, M. D. L. E., Caniça, M., Tejedor-Junco, M. T., Igrejas, G., & Poeta, P. (2020). *Escherichia coli* as commensal and pathogenic bacteria among food-producing animals: Health implications of extended spectrum β -lactamase (ESBL) production. *Animals*, 10(12), 2239. <https://doi.org/10.3390/ani10122239>

Références bibliographiques

400. Ranjbar, R., & Farahani, A. (2019). Shigella: antibiotic-resistance mechanisms and new horizons for treatment. *Infection and drug resistance*, 12, 3137. <https://doi.org/10.2147/IDR.S219755>.
401. Richelsen, R., Smit, J., Schønheyder, H. C., Laxsen Anru, P., Gutiérrez-Gutiérrez, B., Rodríguez-Báño, J., & Nielsen, H. (2020). Outcome of community-onset ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia and urinary tract infection: a population-based cohort study in Denmark. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 75(12), 3656-3664. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa361>
402. Rizi, K. S., Mosavat, A., Youssefi, M., Jamehdar, S. A., Ghazvini, K., Safdari, H., ... & Farsiani, H. (2020). High prevalence of blaCMY AmpC beta-lactamase in ESBL co-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. clinical isolates in the northeast of Iran. *Journal of global antimicrobial resistance*, 22, 477-482. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.03.011>
403. Robin, F., Aggoune-Khinache, N., Delmas, J., Naim, M., & Bonnet, R. (2010). Novel VIM metallo- β -lactamase variant from clinical isolates of Enterobacteriaceae from Algeria. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 54(1), 466-470. <https://doi.org/10.1128/AAC.00017-09>
404. Robin, F., Gibold, L., & Bonnet, R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne?. *Revue Francophone des laboratoires*, 2012(445), 47-58. [https://doi.org/10.1016/S1773-035X\(12\)71676-3](https://doi.org/10.1016/S1773-035X(12)71676-3)
405. Rocha, J. L., Tuon, F. F., & Johnson, J. R. (2012). Sex, drugs, bugs, and age: rational selection of empirical therapy for outpatient urinary tract infection in an era of extensive antimicrobial resistance. *The Brazilian Journal of Infectious Diseases*, 16(2), 115-121. [https://doi.org/10.1016/S1413-8670\(12\)70291-X](https://doi.org/10.1016/S1413-8670(12)70291-X)
406. Rodriguez-Villalobos, H., & Struelens, M. J. (2006). Résistance bactérienne par β -lactamases à spectre étendu: implications pour le réanimateur. *Réanimation*, 15(3), 205-213 <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2006.03.006>
407. Roe, C. C., Vazquez, A. J., Esposito, E. P., Zarrilli, R., & Sahl, J. W. (2019). Diversity, virulence, and antimicrobial resistance in isolates from the newly emerging *Klebsiella pneumoniae* ST101 lineage. *Frontiers in Microbiology*, 10, 542. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00542>

Références bibliographiques

408. Roll, D. M., Yang, Y., Wildey, M. J., Bush, K., & Lee, M. D. (2010). Inhibition of metallo- β -lactamases by pyridine monothiocarboxylic acid analogs. *The Journal of antibiotics*, 63(5), 255-257. <https://doi.org/10.1038/ja.2010.20>
409. Rondinelli, M. A. (2022). Variations in carbapenem resistance associated with the Verona integron-encoded metallo-beta-lactamase across the order Enterobacterales. Queen's University, Kingstone, Ontario, Canada. Diplome de Doctorat.
410. Roodsari, M. R., Fallah, F., Taherpour, A., Vala, M. H., & Hashemi, A. (2014). Carbapenem-resistant bacteria and laboratory detection methods. *Archives of Pediatric Infectious Diseases*, 2(1), 188-191. <https://doi.org/10.5812/pedinfect.5193>
411. Rudresh, S. M., & Nagarathnamma, T. (2011). Extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae & antibiotic co-resistance. *The Indian journal of medical research*, 133(1), 116.
412. Rudresh, S. M., Ravi, G. S., Sunitha, L., Hajira, S. N., Kalaiarasan, E., & Harish, B. N. (2017). Simple, rapid, and cost-effective modified Carba NP test for carbapenemase detection among Gram-negative bacteria. *Journal of laboratory physicians*, 9(04), 303-307. https://doi.org/10.4103/jlp.jlp_138_16
413. Ruppé, E. (2010). Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M. *Antibiotiques*, 12(1), 3-16. <https://doi.org/10.1016/j.antib.2010.01.003>
414. Russo, T. A., & Johnson, J. R. (2008). Diseases Caused by Gram-Negative Enteric Bacilli. In A. S. Fauci, & A. Fauci (Eds.), *Harrison's principles of internal medicine* (17th ed.,). New York: McGraw-Hill Medical Pub.
415. Rusu, A., Lungu, I. A., Moldovan, O. L., Tanase, C., & Hancu, G. (2021). Structural characterization of the millennial antibacterial (fluoro) quinolones—shaping the fifth generation. *Pharmaceutics*, 13(8), 1289. <https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13081289>

S

416. Saad, N. Y., Muller, C. D., & Lobstein, A. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *Flavour and Fragrance Journal*, 28(5), 269-279. <https://doi.org/10.1002/ffj.3165>

Références bibliographiques

417. Sabir, A., El Khalfi, B., Errachidi, F., Chemsî, I., Serrano, A., & Soukri, A. (2017). Evaluation of the potential of some essential oils in biological control against phytopathogenic agent *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 responsible for the tomatoes speck. <https://doi.org/10.4172/2157-7471.1000420>
418. Sadeghi, M., Ebrahim-Saraie, H. S., & Mojtahedi, A. (2022). Prevalence of ESBL and AmpC genes in *E. coli* isolates from urinary tract infections in the north of Iran. *New Microbes and New Infections*, 45, 100947. <https://doi.org/10.1016/j.nmni.2021.100947>
419. Sahoo, S., Otta, S., Swain, B., & Kar, S. K. (2019). Detection and genetic characterization of extended-spectrum beta-lactamases producers in a tertiary care hospital. *Journal of Laboratory Physicians*, 11(03), 253-258. https://doi.org/10.4103%2FJLP.JLP_31_19
420. Saighi D., Peyromaure M. et Debré D. (2004). Urologie. Ed Masson. Belgique. Elsevier-masson Abreges Connaissances et Pratique. 6 Septembre 2004 Sciences & Techniques. 190 p.
421. Salah, F. D., Sadji, A. Y., Akolly, K., Bidjada, B., Awoussi, K. S., Abaya, A. M., ... & Saka, B. (2021). Augmentation de la résistance aux antibiotiques des Entérobactéries isolées à l'Institut National d'Hygiène de Lomé de 2010 à 2017. *Journal of Interventional Epidemiology and Public Health*, 4(3). <https://doi.org/10.11604/JIEPH.suppl.2021.4.3.1089>
422. Salamandane, A., Alves, S., Chambel, L., Malfeito-Ferreira, M., & Brito, L. (2022). Characterization of *Escherichia coli* from Water and Food Sold on the Streets of Maputo: Molecular Typing, Virulence Genes, and Antibiotic Resistance. *Applied Microbiology*, 2(1), 133-147. <https://doi.org/10.3390/applmicrobiol2010008>
423. Salvia, T., Dolma, K. G., Dhakal, O. P., Khandelwal, B., & Singh, L. S. (2022). Phenotypic Detection of ESBL, AmpC, MBL, and Their Co-occurrence among MDR Enterobacteriaceae Isolates in a Tertiary Care Hospital in Sikkim, India. *Journal of Laboratory Physicians*. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1744239>
424. Sambrook J, Russel DW (2001). *Molecular Cloning : A Laboratory Manual* 3rd Ed. Cold Spring Harbor Laboratory Press. Cold Spring Harbor, NY
425. Sandal, G., & Ozen, M. (2014). Fatal *Raoultella ornithinolytica* sepsis and purpura fulminans in a preterm newborn. *Indian Journal of Paediatric Dermatology*, 15(1), 24-26. DOI: 10.4103/2319-7250.131833

Références bibliographiques

426. Sawa, T., Kooguchi, K., & Moriyama, K. (2020). Molecular diversity of extended-spectrum β -lactamases and carbapenemases, and antimicrobial resistance. *Journal of intensive care*, 8(1), 1-13. <https://doi.org/10.1186/s40560-020-0429-6>
427. Saxena, M., Saxena, J., Nema, R., Singh, D., & Gupta, A. (2013). Phytochemistry of medicinal plants. *Journal of pharmacognosy and phytochemistry*, 1(6).
428. Sbiti, M., Lahmadi, K., & Louzi, L. (2017). Epidemiological profile of uropathogenic enterobacteria producing extended spectrum beta-lactamases. *The Pan African Medical Journal*, 28, 29-29. <https://doi.org/10.11604/2Fpamj.2017.28.29.11402>
429. Scharff, A. Z., Rousseau, M., Mariano, L. L., Canton, T., Consiglio, C. R., Albert, M. L., ... & Ingersoll, M. A. (2019). Sex differences in IL-17 contribute to chronicity in male versus female urinary tract infection. *JCI insight*, 4(13). <https://doi.org/10.1172/2Fjci.insight.122998>
430. Sękowska, A. (2017). Raoultella spp.—clinical significance, infections and susceptibility to antibiotics. *Folia microbiologica*, 62(3), 221-227. <https://doi.org/10.1007/s12223-016-0490-7>
431. Sękowska, A., Bogiel, T., Woźniak, M., & Gospodarek-Komkowska, E. (2020). Raoultella spp.—reliable identification, susceptibility to antimicrobials and antibiotic resistance mechanisms. *Journal of medical microbiology*, 69(2), 233-238. <https://doi.org/10.1099/jmm.0.001150>
432. Seman, A., Mihret, A., Sebre, S., Awoke, T., Yeshitela, B., Yitayew, B., ... & Abebe, T. (2022). Prevalence and Molecular Characterization of Extended Spectrum β -Lactamase and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae Isolates from Bloodstream Infection Suspected Patients in Addis Ababa, Ethiopia. *Infection and Drug Resistance*, 15, 1367. <https://doi.org/10.2147/2FIDR.S349566>
433. Semiz, G., Semiz, A., & Mercan-Doğan, N. (2018). Essential oil composition, total phenolic content, antioxidant and antibiofilm activities of four Origanum species from southeastern Turkey. *International Journal of Food Properties*, 21(1), 194-204. <https://doi.org/10.1080/10942912.2018.1440240>
434. Seng, P., Boushab, B. M., Romain, F., Gourié, F., Bruder, N., Martin, C., ... & Stein, A. (2016). Emerging role of Raoultella ornithinolytica in human infections: a

Références bibliographiques

- series of cases and review of the literature. *International Journal of Infectious Diseases*, 45, 65-71. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2016.02.014>
435. Seyedjavadi, S. S., Goudarzi, M., & Sabzehali, F. (2016). Relation between blaTEM, blaSHV and blaCTX-M genes and acute urinary tract infections. *Journal of Acute Disease*, 5(1), 71-76. <https://doi.org/10.1016/j.joad.2015.07.007>
436. Shacheraghi, F., Shakibaie, M. R., & Noveiri, H. (2010). Molecular identification of ESBL Genes blaGES-blaVEB-blaCTX-M blaOXA-blaOXA-4, blaOXA-10 and blaPER-in *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients by PCR, RFLP and sequencing techniques. *Int J Biol Life Sci*, 3(6), 138-42.
437. Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Kamal, M. A. (2015). Risk factors for acquisition of extended spectrum beta lactamase producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in North-Indian hospitals. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 22(1), 37-41. <https://doi.org/10.1016%2Fj.sjbs.2014.05.006>
438. Shaikh, S., Fatima, J., Shakil, S., Rizvi, S. M. D., & Kamal, M. A. (2015). Antibiotic resistance and extended spectrum beta-lactamases: Types, epidemiology and treatment. *Saudi journal of biological sciences*, 22(1), 90-101. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2014.08.002>
439. Shakibaei, M. R., Shah, C. F., Hashemi, A., & SAEID, A. N.. (2008). Detection of TEM, SHV and PER type extended-spectrum B-Lactamase genes among clinical strains of *pseudomonas aemginosa* isolated from burnt patients at Shafa-Hospital, Kerman, Iran. <https://doi.org/10.22038/ijbms.2008.5220>
440. Shakya, P., Shrestha, D., Maharjan, E., Sharma, V. K., & Paudyal, R. (2017). ESBL production among *E. coli* and *Klebsiella* spp. causing urinary tract infection: a hospital based study. *The open microbiology journal*, 11, 23. <https://doi.org/10.2174%2F1874285801711010023>
441. Sheng, W. H., Badal, R. E., & Hsueh, P. R. (2013). Distribution of extended-spectrum β -lactamases, AmpC β -lactamases, and carbapenemases among *Enterobacteriaceae* isolates causing intra-abdominal infections in the Asia-Pacific region: results of the study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 57(7), 2981-2988. <https://doi.org/10.1128/AAC.00971-12>
442. Shen, Y., Xiao, W. Q., Gong, J. M., Pan, J., & Xu, Q. X. (2017). Detection of New Delhi Metallo-Beta-Lactamase (Encoded by bla NDM-1) in *Enterobacter*

Références bibliographiques

- aerogenes in China. *Journal of Clinical Laboratory Analysis*, 31(2), e22044. <https://doi.org/10.1002/jcla.22044>
443. Shrestha, S., Nyaupane, D. R., Yahara, S., Rajbhandari, M., & Gewali, M. B. (2013). Quality assessment of the essential oils from *Artemisia Gmelinii* and *Orifanum Majorana* of Nepali origin. *Scientific World*, 11(11), 77-80.
444. Sinha, M., Srinivasa, H., & Macaden, R. (2007). Antibiotic resistance profile & extended spectrum beta-lactamase (ESBL) production in *Acinetobacter* species. *Indian journal of medical research*, 126(1), 63.
445. Singh, B., Singh, J. P., Kaur, A., & Singh, N. (2019). Antimicrobial potential of pomegranate peel: A review. *International Journal of Food Science & Technology*, 54(4), 959-965. <https://doi.org/10.1111/ijfs.13964>
446. Singleton, V.L.(1999). Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxidants by means of Folin-Ciocalteu reagent. *Methods in Enzymology*, 299, page : 152-178.
447. Silago, V., Kovacs, D., Samson, H., Seni, J., Matthews, L., Oravcová, K., ... & Mshana, S. E. (2021). Existence of multiple ESBL genes among phenotypically confirmed ESBL producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* concurrently isolated from clinical, colonization and contamination samples from neonatal units at Bugando Medical Center, Mwanza, Tanzania. *Antibiotics*, 10(5), 476. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10050476>
448. Silva, N. C. C., & Fernandes Júnior, A. J. J. O. V. A. (2010). Biological properties of medicinal plants: a review of their antimicrobial activity. *Journal of venomous animals and toxins including tropical diseases*, 16(3), 402-413. <https://doi.org/10.1590/S1678-91992010000300006>
449. Şimşek, M. (2019). Determination of the antibiotic resistance rates of *Serratia marcescens* isolates obtained from various clinical specimens. *Nigerian journal of clinical practice*, 22(1).
450. Sofowora, A. (2010). *Plantes médicinales et médecine traditionnelle d'Afrique*. Karthala Editions. 384p.
451. Snoussi, A., Kachouri, F., Chaabouni, M. M., & Bouzouita, N. (2013). Activite antioxydante et teneur en polyphenols des differents extraits des fruits, des racines et de bourgeons floraux de *Myrtus communis* L. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2013.997.12>

Références bibliographiques

452. Solgi, H., Giske, C. G., Badmasti, F., Aghamohammad, S., Havaei, S. A., Sabeti, S., ... & Shahcheraghi, F. (2017). Emergence of carbapenem resistant *Escherichia coli* isolates producing blaNDM and blaOXA-48-like carried on IncA/C and IncL/M plasmids at two Iranian university hospitals. *Infection, genetics and evolution*, 55, 318-323. <https://doi.org/10.1016/j.meegid.2017.10.003>
453. Sorlozano, A., Jimenez-Pacheco, A., Del Castillo, J. D. D. L., Sampedro, A., Martinez-Brocal, A., Miranda-Casas, C., ... & Gutiérrez-Fernández, J. (2014). Evolution of the resistance to antibiotics of bacteria involved in urinary tract infections: a 7-year surveillance study. *American journal of infection control*, 42(10), 1033-1038. <https://doi.org/10.1016/j.ajic.2014.06.013>
454. Souna, D., Amir, A. S., Bekhoucha, S. N., Berrazeg, M., & Drissi, M. (2014). Molecular typing and characterization of TEM, SHV, CTX-M, and CMY-2 β -lactamases in *Enterobacter cloacae* strains isolated in patients and their hospital environment in the west of Algeria. *Medecine et maladies infectieuses*, 44(4), 146-152. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2014.01.008>
455. Standardisation de l'Antibiogramme à échelle Nationale (Médecine Humaine et Vétérinaire). Selon les recommandations de l'OMS. (2011). 6^{ème}. Ed. P 54-56.
456. Staněk, L. (2013). Polymerase chain reaction: basic principles and applications in molecular pathology. *Ceskoslovenska patologie*, 49(3), 119-121.
457. Stefaniuk, E., Suchocka, U., Bosacka, K., & Hryniewicz, W. (2016). Etiology and antibiotic susceptibility of bacterial pathogens responsible for community-acquired urinary tract infections in Poland. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 35(8), 1363-1369. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2673-1>
458. Struelens, M. J., Monnet, D. L., Magiorakos, A. P., O'Connor, F. S., & Giesecke, J. (2010). New Delhi metallo-beta-lactamase 1-producing *Enterobacteriaceae*: emergence and response in Europe. *Eurosurveillance*, 15(46), 19716. <https://doi.org/10.2807/es.e15.46.19716-en>
459. Suarez, C., & Gudiol, F. (2009). Beta-lactam antibiotics. *Enfermedades infecciosas y microbiologia clinica*, 27(2), p: 116-129 <https://doi.org/10.1016/j.eimc.2008.12.001>
460. Suhartono, S., Mahdani, W., Hayati, Z., & NURHALIMAH, N. (2021). Species distribution of *Enterobacteriaceae* and non-*Enterobacteriaceae* responsible for urinary

Références bibliographiques

- tract infections at the Zainoel Abidin Hospital in Banda Aceh, Indonesia. *Biodiversitas Journal of Biological Diversity*, 22(8). <https://doi.org/10.13057/biodiv/d220826>
461. Su, L. H., Ou, J. T., Leu, H. S., Chiang, P. C., Chiu, Y. P., Chia, J. H., ... & Chang, B. J. (2003). Extended epidemic of nosocomial urinary tract infections caused by *Serratia marcescens*. *Journal of Clinical Microbiology*, 41(10), 4726-4732. <https://doi.org/10.1128/JCM.41.10.4726-4732.2003>
462. Su C, Xiang Z, Liu Y, Zhao X, Sun Y, Li Z, Li L, Chang F, Chen T, Wen X, Zhou Y (2016) Analysis of the genomic sequences and metabolites of *Serratia surfactantfaciens* sp. nov. YD25T that simultaneously produces prodigiosin and serrawettin W2. *BMC Genomics* 17(1):865. <https://doi.org/10.1186/s12864-016-3171-7>
463. Sultan, A., Rizvi, M., Khan, F., Sami, H., Shukla, I., & Khan, H. M. (2015). Increasing antimicrobial resistance among uropathogens: Is fosfomycin the answer ?. *Urology annals*, 7(1), 26. <https://doi.org/10.4103%2F0974-7796.148585>
- T**
464. Tadesse, S., Mulu, W., Genet, C., Kibret, M., & Belete, M. A. (2022). Emergence of high prevalence of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae species among patients in Northwestern Ethiopia Region. *BioMed Research International*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/5727638>
465. Tafoukt, R., Touati, A., Leangapichart, T., Bakour, S., & Rolain, J. M. (2017). Characterization of OXA-48-like-producing Enterobacteriaceae isolated from river water in Algeria. *Water research*, 120, 185-189. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.04.073>
466. Tagajdid, M. R., Boumhil, L., Iken, M., Adnaoui, M., & Benouda, A. (2010). Étude de la résistance des souches d'Escherichia coli isolées dans les urines aux fluoroquinolones et aux céphalosporines de troisième génération. *Médecine et maladies infectieuses*, 40(2), 70-73. <https://doi.org/10.1016/j.medmal.2008.10.015>
467. Tamma, P. D., Doi, Y., Bonomo, R. A., Johnson, J. K., Simner, P. J., & Antibacterial Resistance Leadership Group Tamma PD Doi Y Bonomo RA. (2019). A primer on AmpC β -lactamases: necessary knowledge for an increasingly multidrug-

Références bibliographiques

- resistant world. *Clinical Infectious Diseases*, 69(8), 1446-1455. <https://doi.org/10.1093%2Fcid%2Fciz173>
468. Tang, J., Dunshea, F. R., & Suleria, H. A. (2019). Lc-esi-qtof/ms characterization of phenolic compounds from medicinal plants (hops and juniper berries) and their antioxidant activity. *Foods*, 9(1), 7. <https://doi.org/10.3390/foods9010007>
469. Tang, M., Kong, X., Hao, J., & Liu, J. (2020). Epidemiological characteristics and formation mechanisms of multidrug-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. *Frontiers in Microbiology*, 11, 2774. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2020.581543>
470. Tayh, G., Al Laham, N., Ben Yahia, H., Ben Sallem, R., Elottol, A. E., & Ben Slama, K. (2019). Extended-spectrum β -lactamases among Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections in Gaza strip, Palestine. *BioMed research international*, 2019. <https://doi.org/10.1155/2019/4041801>
471. Tayh, G., Nagarjuna, D., Sallem, R. B., Verma, V., Chairat, S., Boudabous, A., ... & Slama, K. B. (2020). First report of VIM metallo- β -lactamase production in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from Gaza Strip, Palestine. *Germs*, 10(1), 18. <https://doi.org/10.18683%2Fgerms.2020.1181>
472. Teelucksingh, T., Thompson, L. K., & Cox, G. (2020). The evolutionary conservation of *Escherichia coli* drug efflux pumps supports physiological functions. *Journal of Bacteriology*, 202(22), e00367-20. <https://doi.org/10.1128/JB.00367-20>
473. Tekele, S. G., Teklu, D. S., Legese, M. H., Weldehana, D. G., Belete, M. A., Tullu, K. D., & Birru, S. K. (2021). Multidrug-Resistant and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae in Addis Ababa, Ethiopia. *BioMed research international*, 2021. <https://doi.org/10.1155/2021/9999638>
474. Tijet, N., Sheth, P. M., Lastovetska, O., Chung, C., Patel, S. N., & Melano, R. G. (2014). Molecular characterization of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing Enterobacteriaceae in Ontario, Canada, 2008-2011. *PLoS One*, 9(12), e116421. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0116421>
475. Toner, L., Papa, N., Aliyu, S. H., Dev, H., Lawrentschuk, N., & Al-Hayek, S. (2016). Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in hospital urinary tract infections: incidence and antibiotic susceptibility profile over 9

Références bibliographiques

- years. *World journal of urology*, 34(7), 1031-1037. <https://doi.org/10.1007/s00345-015-1718-x>
476. Tomé, A. M., & Filipe, A. (2011). Quinolones: review of psychiatric and neurological adverse reactions. *Drug safety*, 34, 465-488. <https://doi.org/10.2165/11587280-000000000-00000>
477. Tooke, C. L., Hinchliffe, P., Bragginton, E. C., Colenso, C. K., Hirvonen, V. H., Takebayashi, Y., & Spencer, J. (2019). β -Lactamases and β -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *Journal of molecular biology*, 431(18), 3472-3500. <https://doi.org/10.1016/j.jmb.2019.04.002>
478. Torres, J. A., Villegas, M. V., & Quinn, J. P. (2007). Current concepts in antibiotic-resistant gram-negative bacteria. *Expert review of anti-infective therapy*, 5(5), 833-843. <https://doi.org/10.1586/14787210.5.5.833>
479. Tosun, A., Khan, S., Kim, Y. S., Calín-Sánchez, Á., Hysenaj, X., & Carbonell-Barrachina, A. (2014). Essential oil composition and anti-inflammatory activity of *Salvia officinalis* L (Lamiaceae) in murin macrophages. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 13(6), 937-942. <https://doi.org/10.4314/tjpr.v13i6.16>
480. Touaibia, M. (2015). Composition chimique et activité antifongique de l'huile essentielle de *Myrtus communis* L. sur milieu de laboratoire et sur les fruits du fraisier. *Nature Technol*, 12, 66-72.
481. Touati, A., Medboua, C., Touati, D., Denine, R., Brasme, L., & De Champs, C. (2012). CTX-M-15-producing Enterobacteriaceae isolates causing bloodstream infections at the Beni-Messous hospital in Algiers (Algeria). *Int. Res. J. Microbiol*, 3(5), 181-185.
- V**
482. Vahhabi, A., Hasani, A., Rezaee, M. A., Baradaran, B., Hasani, A., Kafil, H. S., & Soltani, E. (2021). Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from northwest Iran: high prevalence of OXA genes in sync. *Iranian Journal of Microbiology*, 13(3), 282. <https://doi.org/10.18502/2Fijm.v13i3.6388>
483. Van Bambeke, F., Michot, J. M., Van Eldere, J., & Tulkens, P. M. (2008). Quinolones in 2005: an update. *Clinical Microbiology and infection*, 11(4), 256-280. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2005.01131.x>

Références bibliographiques

484. Van den Bunt, G., Liakopoulos, A., Mevius, D. J., Geurts, Y., Fluit, A. C., Bonten, M. J., ... & van Pelt, W. (2016). ESBL/AmpC-producing Enterobacteriaceae in households with children of preschool age: prevalence, risk factors and co-carriage. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, dkw443. <https://doi.org/10.1093/jac/dkw443>
485. Van Houdt, R., Givskov, M., & Michiels, C. W. (2007). Quorum sensing in *Serratia*. *FEMS microbiology reviews*, 31(4), 407-424. <https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x>
486. Van Hoek, A. H., Mevius, D., Guerra, B., Mullany, P., Roberts, A. P., & Aarts, H. J. (2011). Acquired antibiotic resistance genes: an overview. *Frontiers in microbiology*, 2, 203. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00203>
487. van Pelt-Verkuil, E., van Belkum, A., & Hays, J. P. (2008). A brief comparison between in vivo DNA replication and in vitro PCR amplification. *Principles and Technical Aspects of PCR Amplification*, 9-15. https://doi.org/10.1007%2F978-1-4020-6241-4_2
488. Vardar-Ünlü, G., Candan, F., Sökmen, A., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, M., ... & Tepe, B. (2003). Antimicrobial and antioxidant activity of the essential oil and methanol extracts of *Thymus pectinatus* Fisch. et Mey. Var. *pectinatus* (Lamiaceae). *Journal of Agricultural and food chemistry*, 51(1), 63-67. <https://doi.org/10.1021/jf025753e>
489. Vaziri, S., Afsharian, M., Mansouri, F., Azizi, M., Nouri, F., Madadi-Goli, N., ... & Ahmadi, K. (2020). Frequency of *qnr* and *aac* (6') *Ib-cr* Genes among ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from burn patients in Kermanshah, Iran. *Jundishapur Journal of Microbiology*, 13(7). <https://dx.doi.org/10.5812/jjm.100348>
490. Vervoort, J., Gazin, M., Kazma, M., Kotlovsky, T., Lammens, C., Carmeli, Y., ... & Malhotra-Kumar, S. (2014). High rates of intestinal colonisation with fluoroquinolone-resistant ESBL-harboring Enterobacteriaceae in hospitalised patients with antibiotic-associated diarrhoea. *European journal of clinical microbiology & infectious diseases*, 33(12), 2215-2221. <https://doi.org/10.1007/s10096-014-2193-9>
491. Vieira, D. C., Lima, W. G., & de Paiva, M. C. (2020). Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) among Enterobacteriales in Latin America: a systematic review. *Molecular Biology Reports*, 47(2), 1471-1483. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05220-9>

Références bibliographiques

492. V. Phé, m. Rouprêt (2010). Malade porteur d'une sonde vésicale à domicile. Service d'urologie, hôpital pitié-salpêtrière, 47-83, boulevard de l'hôpital, 75651 paris cedex 13, france. Faculté de médecine pierre et marie curie, université paris vi, paris, france. [50686] doi : [10.1016/s1634-6939\(10\)53012-6](https://doi.org/10.1016/s1634-6939(10)53012-6)
493. Vuolo, M. M., Lima, V. S., & Junior, M. R. M. (2019). Phenolic compounds: Structure, classification, and antioxidant power. In *Bioactive compounds* (pp. 33-50). Woodhead Publishing. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-814774-0.00002-5>

W

494. Wajima, T., Hirai, Y., Otake, T., Momose, Y., Nakaminami, H., & Noguchi, N. (2020). First isolation of an IMP-1 metallo- β -lactamase-producing *Kluyvera ascorbata* in Japan. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 228-231. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.09.026>
495. Wang, S., Xu, L., Chi, X., Li, Y., Kou, Z., Hou, P., ... & Zheng, B. (2019). Emergence of NDM-1-and CTX-M-3-producing *Raoultella ornithinolytica* in human gut microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 2678. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02678>
496. White, R. J. (2012). The early history of antibiotic discovery: empiricism ruled. In *Antibiotic discovery and development* (pp. 3-31). Springer, Boston, MA. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-1400-1_1
497. Widodo, A., Effendi, M. H., & Khairullah, A. R. (2020). Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Eschericia coli* from livestock. *Sys Rev Pharm*, 11(7), 382-392.
498. Wolff, M., Joly-Guillou, M. L., & Pajot, O. (2009). Les carbapénèmes : Comparative review of carbapenems. *Réanimation*, 18, S199-S208. [https://doi.org/10.1016/S1624-0693\(09\)75318-6](https://doi.org/10.1016/S1624-0693(09)75318-6)
499. Wu, W., Feng, Y., Tang, G., Qiao, F., McNally, A., & Zong, Z. (2019). NDM metallo- β -lactamases and their bacterial producers in health care settings. *Clinical microbiology reviews*, 32(2), 10-1128. <https://doi.org/10.1128/cmr.00115-18>
500. Wu, W., Wei, L., Feng, Y., Kang, M., & Zong, Z. (2019). *Enterobacter huaxiensis* sp. nov. and *Enterobacter chuandaensis* sp. nov., recovered from human

Références bibliographiques

blood. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 69(3), 708-714. <https://doi.org/10.1099/ijsem.0.003207>

X

501. Xu, D., Xie, D., & Guo, H. (2006). Catalytic mechanism of class B2 metallo- β -lactamase. *Journal of Biological Chemistry*, 281(13), 8740-8747. <https://doi.org/10.1074/jbc.M512517200>
502. Xu, Y., Gu, B., Huang, M., Liu, H., Xu, T., Xia, W., & Wang, T. (2015). Epidemiology of carbapenem resistant Enterobacteriaceae (CRE) during 2000-2012 in Asia. *Journal of thoracic disease*, 7(3), 376. <https://doi.org/10.3978%2Fj.issn.2072-1439.2014.12.33>

Y

503. Yan, J. J., Wu, J. J., Tsai, S. H., & Chuang, C. L. (2004). Comparison of the double-disk, combined disk, and Etest methods for detecting metallo- β -lactamases in gram-negative bacilli. *Diagnostic microbiology and infectious disease*, 49(1), 5-11. <https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2004.01.002>
504. Yanat, B., Rodríguez-Martínez, J. M., & Touati, A. (2017). Plasmid-mediated quinolone resistance in Enterobacteriaceae: a systematic review with a focus on Mediterranean countries. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 36(3), 421-435. <https://doi.org/10.1007/s10096-016-2847-x>
505. Yang, F. C., Yan, J. J., Hung, K. H., & Wu, J. J. (2012). Characterization of ertapenem-resistant Enterobacter cloacae in a Taiwanese university hospital. *Journal of clinical microbiology*, 50(2), 223-226. <https://doi.org/10.1128/JCM.01263-11>
506. Yengui, M., Trabelsi, R., Khannous, L., Mathlouthi, N. E., Adnan, M., Siddiqui, A. J., ... & Gdoura, R. (2022). Rapid Detection of Beta-Lactamases Genes among Enterobacterales in Urine Samples by Using Real-Time PCR. *BioMed Research International*, 2022. <https://doi.org/10.1155/2022/8612933>
507. Yong, D., Toleman, M. A., Giske, C. G., Cho, H. S., Sundman, K., Lee, K., & Walsh, T. R. (2009). Characterization of a new metallo- β -lactamase gene, bla NDM-1, and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 53(12), 5046-5054. <https://doi.org/10.1128/aac.00774-09>

Références bibliographiques

508. Yoon, E. J., Kang, D. Y., Yang, J. W., Kim, D., Lee, H., Lee, K. J., & Jeong, S. H. (2018). New Delhi metallo-beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in South Korea between 2010 and 2015. *Frontiers in microbiology*, 9, 571. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2018.00571>
509. Younas, S., Ejaz, H., Zafar, A., Ejaz, A., Saleem, R., & Javed, H. (2018). AmpC beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: An emerging threat to the paediatric patients. *JPMA*, 68(893).

Z

510. Zahar, J. R., Bille, E., Schnell, D., Lanternier, F., Mechai, F., Masse, V., ... & Lortholary, O. (2009). Diffusion communautaire des entérobactéries sécrétrices de β -lactamase à spectre élargi (EBLSE). *médecine/sciences*, 25(11), 939-944. <https://doi.org/10.1051/medsci/20092511939>
511. Zander, E., Fernández-González, A., Schleicher, X., Dammhayn, C., Kamolvit, W., Seifert, H., & Higgins, P. G. (2014). Worldwide dissemination of acquired carbapenem-hydrolysing class D β -lactamases in *Acinetobacter* spp. other than *Acinetobacter baumannii*. *International journal of antimicrobial agents*, 43(4), 375-377. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.01.012>
512. Zenati, F., Barguigua, A., Nayme, K., Benbelaïd, F., Khadir, A., Bellahsene, C., ... & Timinouni, M. (2019). Characterization of uropathogenic ESBL-producing *Escherichia coli* isolated from hospitalized patients in western Algeria. *The Journal of Infection in Developing Countries*, 13(04), 291-302. <https://doi.org/10.3855/jidc.10702>
513. Zhanel, G. G., Wiebe, R., Dilay, L., Thomson, K., Rubinstein, E., Hoban, D. J., ... & Karlowsky, J. A. (2007). Comparative review of the carbapenems. *Drugs*, 67(7), 1027-1052. <https://doi.org/10.2165/00003495-200767070-00006>
514. Zhanel, G. G., Zhanel, M. A., & Karlowsky, J. A. (2018). Intravenous fosfomycin: an assessment of its potential for use in the treatment of systemic infections in Canada. *Canadian Journal of Infectious Diseases and Medical Microbiology*, 2018. <https://doi.org/10.1155/2018/8912039>
515. Zhao, W. H., & Hu, Z. Q. (2011). Epidemiology and genetics of VIM-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli. *Future microbiology*, 6(3), 317-333. <https://doi.org/10.2217/fmb.11.13>

Références bibliographiques

516. Zhou, H., Zhang, K., Chen, W., Chen, J., Zheng, J., Liu, C., ... & Cao, X. (2020). Epidemiological characteristics of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae collected from 17 hospitals in Nanjing district of China. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 9(1), 1-10. <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0674-4>
517. Zomorodian, K., Moein, M., Lori, Z. G., Ghasemi, Y., Rahimi, M. J., Bandegani, A., ... & Abbasi, N. (2013). Chemical composition and antimicrobial activities of the essential oil from *Myrtus communis* leaves. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 16(1), 76-84. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2013.764183>
518. Zou, H., Berglund, B., Wang, S., Zhou, Z., Gu, C., Zhao, L., ... & Li, X. (2022). Emergence of blaNDM-1, blaNDM-5, blaKPC-2 and blaIMP-4 carrying plasmids in *Raoultella* spp. in the environment. *Environmental Pollution*, 306, 119437. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119437>

Annexes

Annexes

Annexe n° 01 :

Tableau 01 : Composition de Milieu de cultures

Type de milieu	Composition	Gramme/litre
Bouillon nutritif	Peptones	10 g
	Extrait de boeuf	1 g
	Extrait de levure	2 g
	Chlorure de sodium	5 g
	pH final	6,8 ± 0,2 à 25°C
Gélose nutritif	Tryptone	5 g
	Extrait de viande	3 g
	Agar agar	12 g
	pH final	7,0 ± 0,2 à 25°C
Mac Conkey	Peptone	20 g
	Sels biliaires n°3	1 g
	Cristal violet	0,001 g
	Lactose	10 g
	Rouge neutre	0,05 g
	Chlorure de sodium	5 g
	Agar agar	15 g
	pH final	7 ± 0,1 à 25°C
Chromagar	Peptone et extrait de levure	22 g
	Facteur de croissance	3,7 g
	Seles minéraux	4,9 g
	Mix chromogénique et sélectif	0,7 g
	Agar agar	11 g
	pH final	7,4 ± 0,2 à 25°C
Mueller-Hinton (Gélose)	Peptone	17,5 g
	Extrait de viande	2 g
	Amidon	1,5 g
	Calcium	0,02 à 0,025
	Magnésium	0,01 à 0,0125
	Agar agar	15 g
	pH final	7,4 ± 0,2 à 25°C
Mueller-Hinton (Bouillon)	Peptone	17,5 g
	Extrait de viande	2 g
	Amidon	1,5 g
	Calcium	0,02 à 0,025
	Magnésium	0,01 à 0,0125
	pH final	7,4 ± 0,2 à 25°C

Annexe n° 02 : Coloration de Gram

Principe

La coloration de Gram est la plus utilisée en bactériologie pour étudier la classification des bactéries. Elle nous renseigne sur :

- Le type Gram + ou Gram -, la forme des bactéries, la taille et le mode de regroupement.

Ce processus permet de séparer la plupart des bactéries en 2 groupes par rapport à la proportion de peptidoglycanes contenue dans les membranes :

- Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycanes et pauvres en lipides.
- Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycanes et plus riches en lipides.

Protocole :

A. Préparation de frottis :

- On réalise un frottis sur une lame de microscope à partir d'une suspension bactérienne : on agite la suspension afin de l'homogénéiser et d'éviter d'avoir un culot au fond du tube. à l'aide d'une anse que l'on aura préalablement stérilisé, on prélève un peu de la solution bactérienne en plongeant le fil de platine de l'anse dans le tube à essai.
- On dépose ensuite ce prélèvement au milieu sur la lame en faisant des rotations jusqu'à séchage.
- On procède à la fixation du frottis (on passe directement 3 fois la lame dans la flamme du bec Bunsen).

B. Coloration :

La coloration au violet de Gentiane (colorant basique) :

- La lame est plongée pendant 1 à 2 minutes (en fonction de la concentration) dans la coloration au violet de gentiane. Toutes les bactéries sont colorées en violet puis rincer à l'eau.

C. Mordantage au lugol (solution iodo-iodurée) : (Cette étape permet de stabiliser la coloration violette).

- La lame est étalée par le lugol et laisser agir 1 minute ; Rincer à l'eau.

D. Décoloration à l'alcool :

- L'alcool est versé goutte à goutte sur la lame inclinée obliquement pendant 5 à 10 secondes.

Annexes

- Le filet doit être clair à la fin de la décoloration. Rincer sous un filet d'eau. (L'alcool pénètre dans la bactérie).
- La coloration au violet de Gentiane disparaît (les bactéries décolorées sont des bactéries Gram (-)).
- Si l'alcool ne traverse pas la paroi, on est en présence de bactéries Gram+.

E. Contre coloration avec de la Fuchsine ou de la Safranine :

- La lame est plongée pendant 1 à 2 minutes dans le colorant de Fuchsine. Laisser agir 1 minute.
- Laver doucement à l'eau.
- Sécher la lame sur une platine chauffante à 40°C, 10 à 15 minutes.
- Les bactéries Gram (-) sont colorées en rose.

Annexe n° 03 :

Microtube	Substrat	Caractère recherché	Lecture directe ou indirecte (Test si nécessaire)	Résultat +	Résultat -
ONPG	Ortho-Nitro-Phényl-Galactoside	β -galactosidase	Lecture directe		
ADH LDC ODH	Arginine Lysine Ornithine	Arginine dihydrolase Lysine décarboxylase Ornithine décarboxylase	Lecture directe		
CIT	Citrate	Utilisation du citrate	Lecture directe		
H ₂ S	Thiosulfate de sodium	Production d'H ₂ S	Lecture directe		
URE	Urée	Uréase	Lecture directe		
TDA	Tryptophane	Tryptophane désaminase	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de Perchlorure de Fer		
IND	Tryptophane	Production d'indole	Lecture indirecte Test : ajouter 1 goutte de réactif de Kovacs		
VP	Pyruvate de sodium	Production d'acétoïne	Lecture indirecte (Attendre 10 minutes) Test : ajouter 1 goutte de KOH et d' α -naphthol		
GEL	Gélatine emprisonnant des particules de charbon	Gélatinase	Lecture directe		
GLU à ARA	Substrat carboné	Utilisation de substrat carboné	Lecture directe		
NO ₂ / N ₂	Nitrates (NO ₃)	Nitrate réductase	Lecture indirecte dans la cupule GLU Test : ajouter 1 goutte de réactif de Griess Ajouter de la poudre zinc en cas de résultat négatif		

Figure 01 : Guide de lecture de la galerie miniaturisée API 20°.

Annexes

Annexe n° 04 :

Fiche d'enquête ethnobotanique
Population cible : Herboristes et tradithérapeutes

Age < 20 [20 -30] [30 -40] [40 -50] > 60
Sexe Masculin Féminin

Les plantesantilithiasiques conseillées par l'informateur :

Espèces médicinales	Pathologie	Partie utilisée	Mode de Préparation	Mode d'administration

N.B :
Partie utilisée : 1- Racine 2- Tige 3- Feuille 4- Ecorce 5- Rhizome 6- Fleur
 7- Style 8- Fruit 9- Graine 10- Plante entière 11- Résine

Figure 02 : Fiche d'enquête ethnobotanique.

Annexes

Annexe N° 05 :

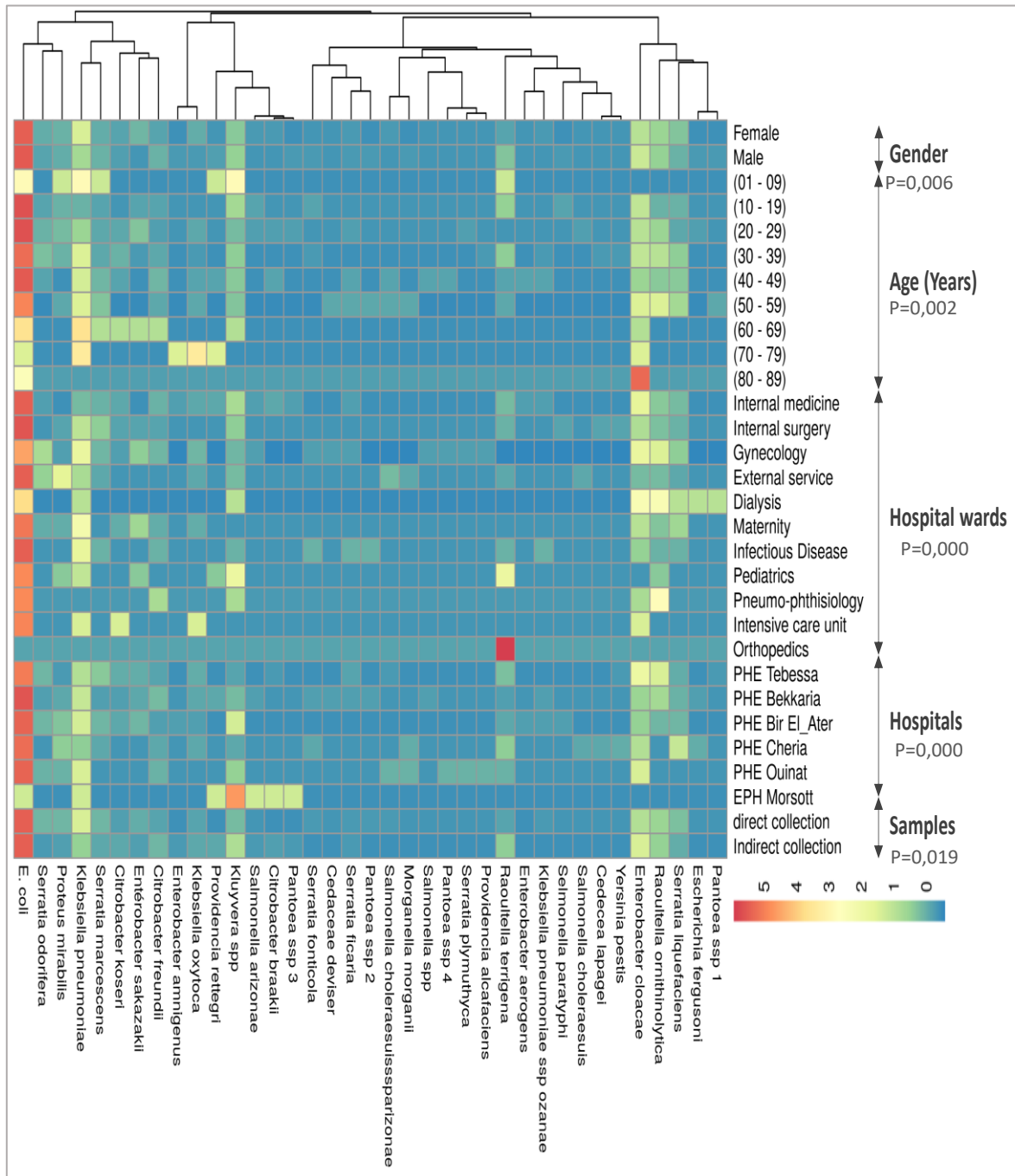


Figure 03 : Caractéristiques démographiques et cliniques des patients infectées par les souches d'Entérobactériaceae (400 souches)

Annexes

Annexe 06 :

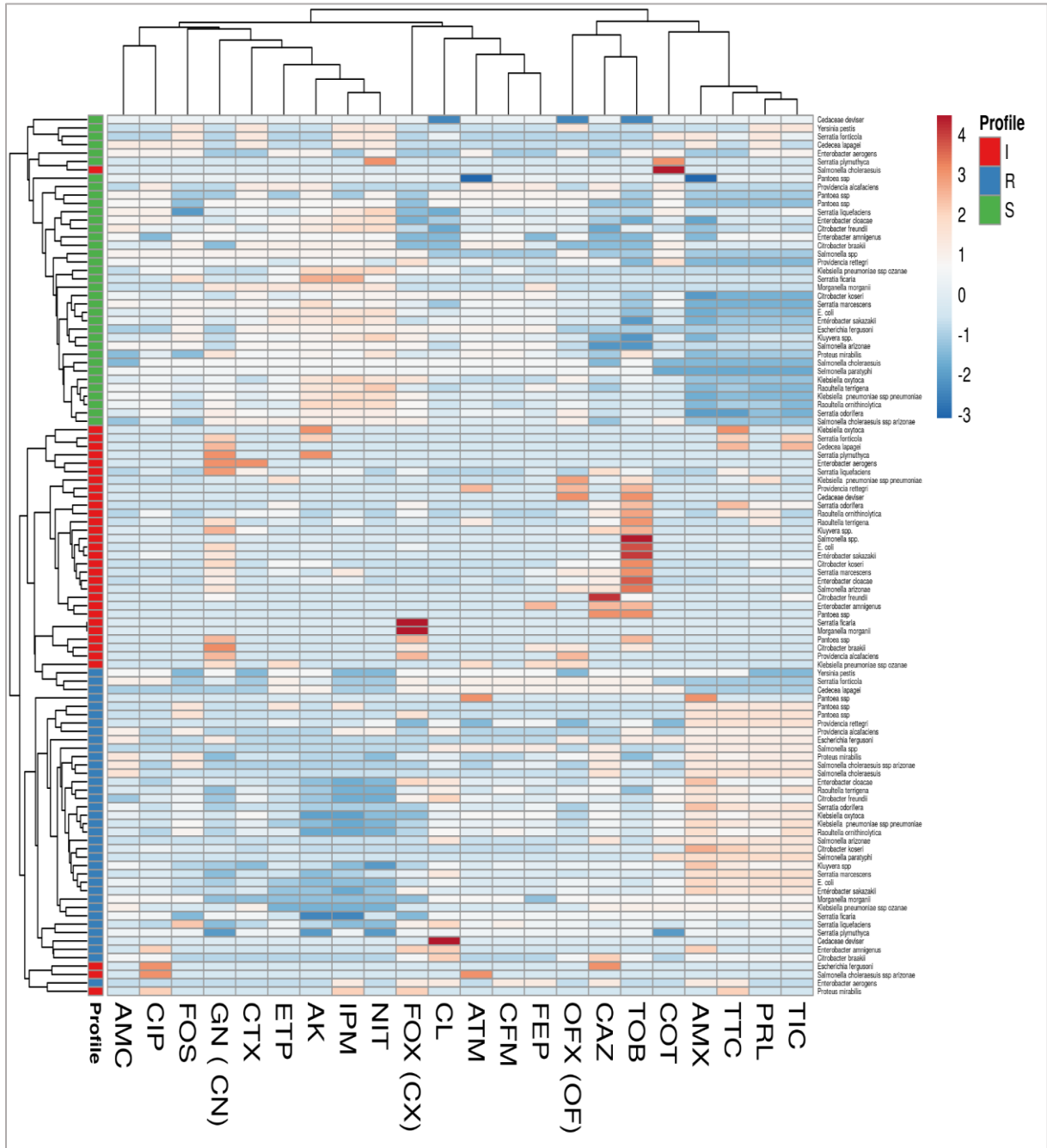


Figure 04 : Les profils de résistance de chaque espèce d'Entérobactéries étudiés

Annexe 07 :

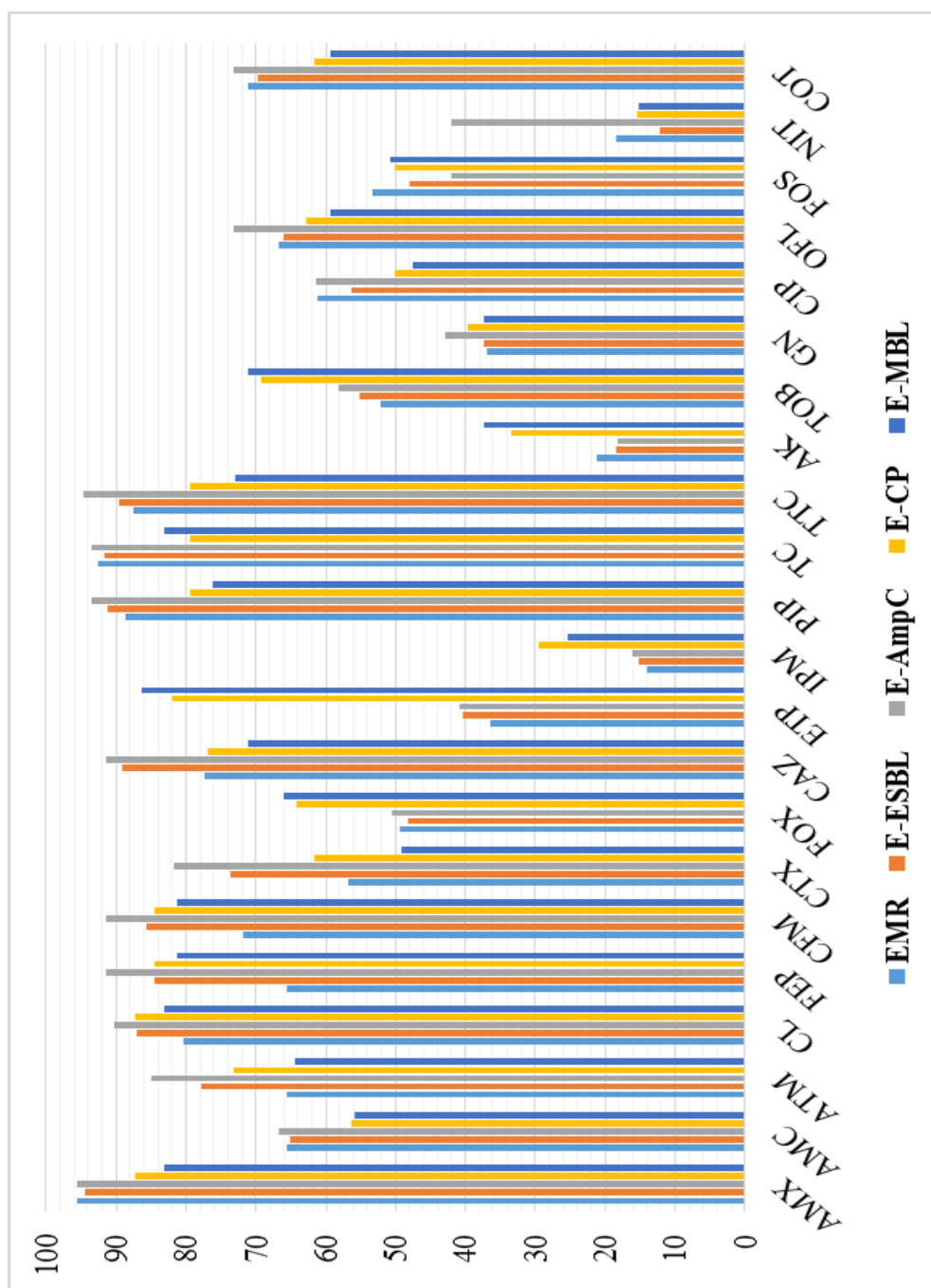


Figure 05: Profils des résistances aux antibiotiques des souches des Entérobactéries multirésistantes (EMR), des Entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE), des Céphalosorinase de type AmpC (CHN), des carbapénémases (E-CP) et des métallobêta-lactamases (E-MBL).

Annexe 08 :

Diagrammes résultant de chromatographie, analyse des constituants chimiques des huiles essentielles.

A. Chromatogramme d'*Origanum majoranna L.*

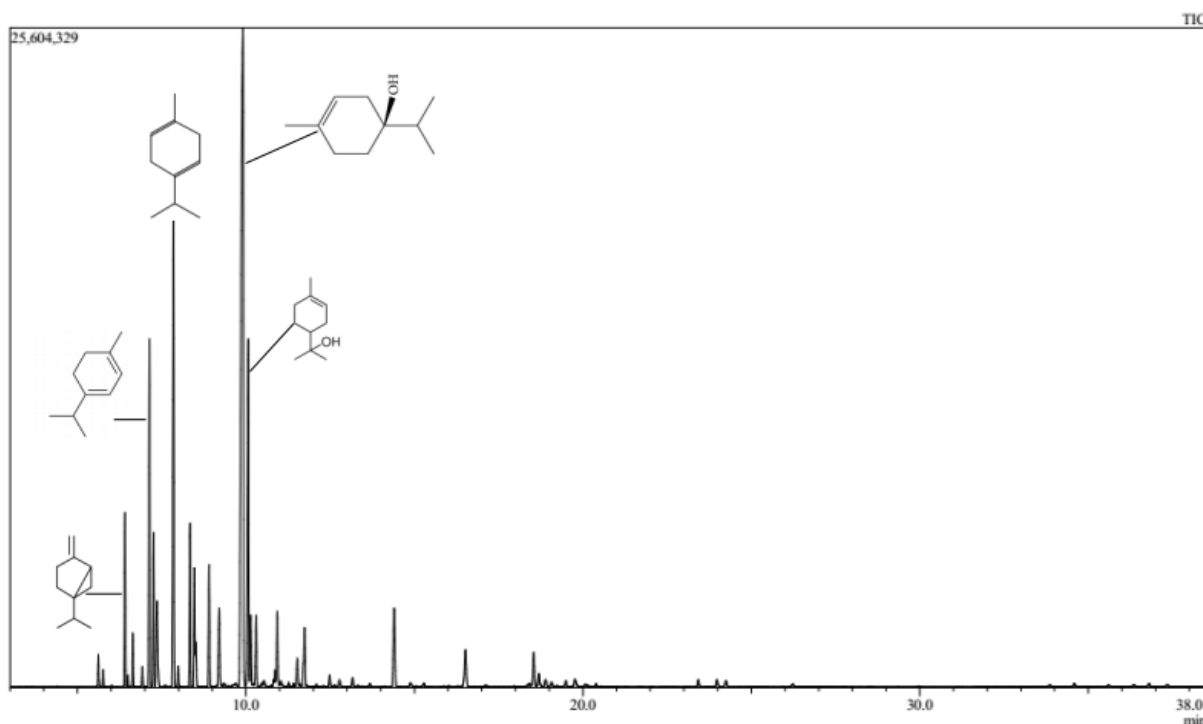


Figure 06: Diagrammes résultant de chromatographie, analyse des constituants chimiques des huiles essentielles d'*Origanum majoranna L.*

B. Chromatogramme de *Myrtus communis L.*

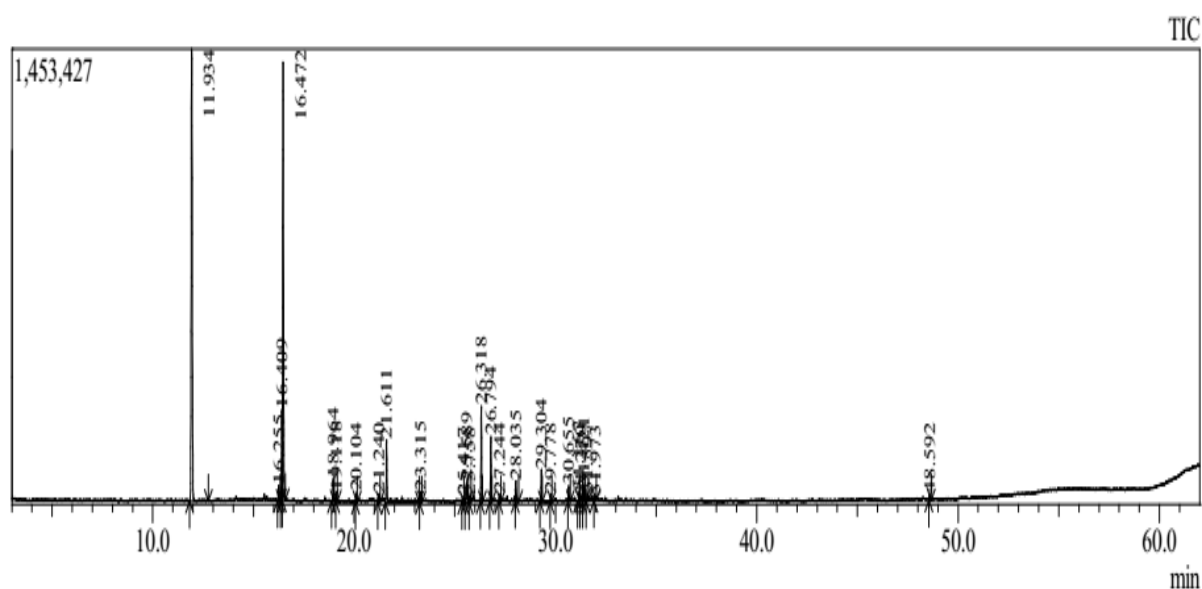


Figure 07: Diagrammes résultant de chromatographie, analyse des constituants chimiques des huiles essentielles de *Myrtus communis L.*

C. Chromatogramme de *Salvia officinalis* L.

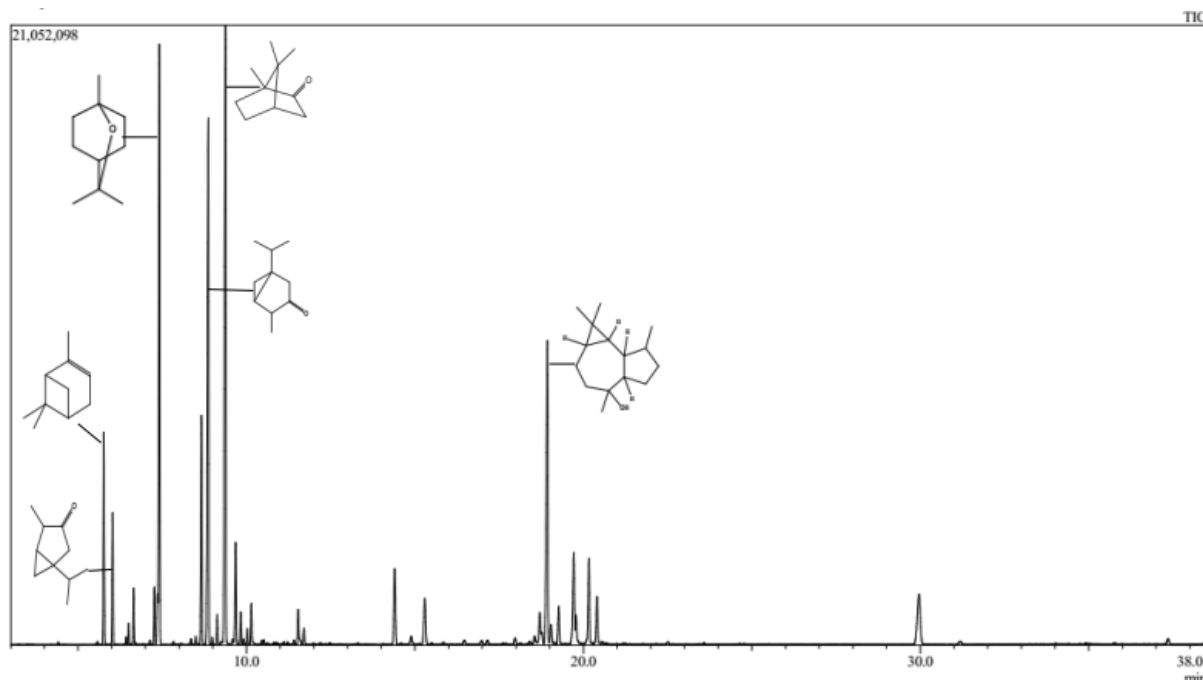


Figure 08: Diagrammes résultant de chromatographie, analyse des constituants chimiques des huiles essentielles de *Salvia officinalis* L.

Annexe N° 09 :

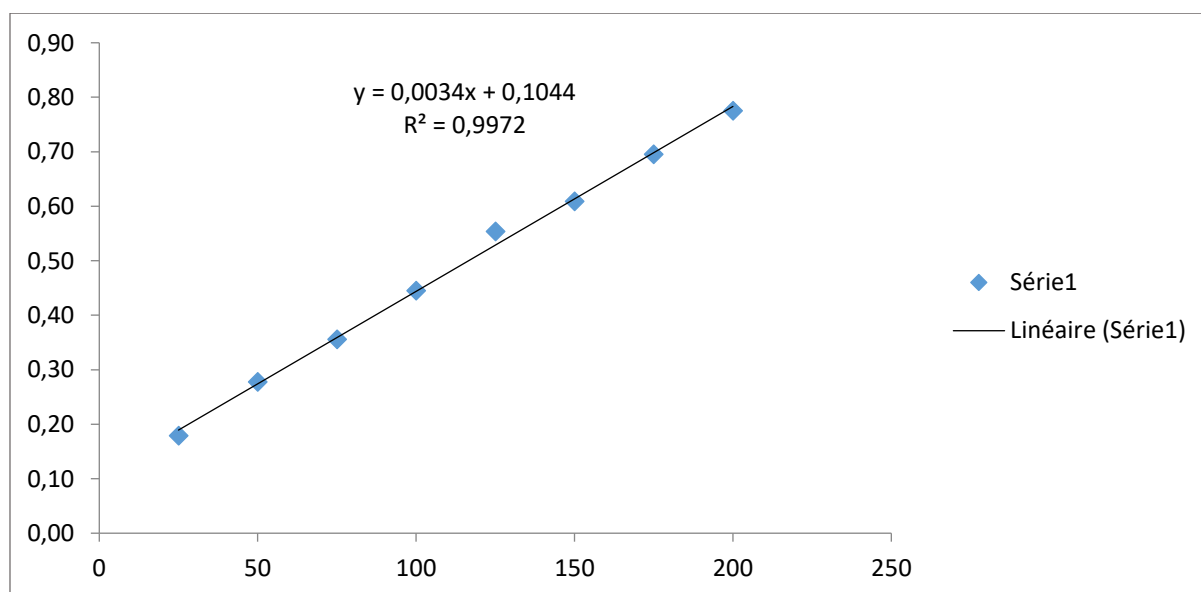


Figure 09 : Le courbe d'étalonnage de l'acide gallique

Annexe 10 : Production scientifique

1. Communications

1.1. Congrès internationaux avec comité de lecture

- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : La contamination de l'environnement hospitalier, principale cause des infections urinaires nosocomiales dues aux Entérobactéries productrices de BLSE. Université de Skikda 27-28 Décembre, 2021
- **FARES Roufaïda**, FARES Naceredine, DJEDDAI Samir et MECHAI Abd El Basset : Caractérisation phénotypique de la résistance aux β -lactamines à large spectre des bacilles à Gram négatifs isolés à partir des prélèvements d'urines. Tunisie 2018
- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Caractérisation et inhibition des Carbapénèmase par les plantes : Activités des extraits phénoliques et des huiles essentielles des plantes médicinales sur des Entérobactérie productrice de Carbapénèmase (EPC). Université de Béjaïa 04 juin 2022.
- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Caractérisation phénotypique de mécanismes de résistances aux Béta-lactamines des souches d'entérobactéries d'origine urinaire. Université de Kouba 20 – 22 October 2021.
- **FARES Roufaïda**, DEBABZA Manel, MECHAI Abdelbasset, BOUGUESSA Amel: Entérobactéries uropathogènes productrices des carbapénèmases isolées à l'hôpital Bouguerra Boulaares de Tébessa (Algérie). Centre universitaire A. Boussouf – Mila, le 9-10 March 2020.
- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Détection de β -lactamases à spectre étendu dans le groupe *K E S* (Klebsiella-Enterobacter-Serratia) responsables d'infections urinaires, dans

Annexes

les établissements de santé à Tébessa (Algérie). Université de Ouargla, le 01 et 02 Mars 2022.

- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Évolution récente du profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi à Tébessa-Algérie 2020. Université de Tlemcen, le 21 -22 Septembre 2021.

1.2. Congrès nationaux avec comité de lecture

- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, DEBABZA Manel, MECHAI Abdelbasset, BOUGUESSA Amel: Caractérisation phénotypique de souches d'entérobactéries productrices des carbapénèmes isolées à partir des produits pathologiques à l'hôpital Bouguerra Boulaares de Tébessa (Algérie) Université de Laghouat, le 17 Octobre 2021.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Evaluation de l'effet inhibiteur des extraits polyphénolique de Myrtus communis L sur des souches d'entérobactéries productrice de Bêta-lactamase à spectre élargie. Université de Batna, le 09 Décembre 2021.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Résistance aux antibiotiques des souches d'Entérobactérie isolées des prélèvements pathologiques Université de Béjaïa, le 25- 26 Septembre 2019
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Évolution de la résistance des Escherichia coli uropathogènes aux antibiotiques dans les établissements de santé à Tébessa : émergence des bêta-lactamases à spectre élargi. Université de Ghardaya, le 16 Avril 2022.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Caractérisation phénotypique des souches de Serratia spp uropathogènes

Annexes

productrices de Carbapénèmases et de bêta-Lactamase à spectre étendu. Université de Relizane, le 05 décembre 2022.

- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Évaluation in-vitro de l'activité antibactérienne des extraits polyphénolique et des huiles essentielles d'Origanum majorana l. vis-à-vis des Entérobactéries pathogènes. Université de Khenchela, le 07 Juin 2022.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Etude de l'activité antibactérienne des huiles essentielles de la Marjolaine : Origanum majorana L. sur quelques entérobactéries pathogènes. Université de Khenchela, le 19-20 Septembre 2022.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de klebsiella pneumoniae uropathogènes productrice de carbapénémase et de bêta-lactamases à spectre étendu. Université de Khenchela, le 26 - 27 Octobre 2022.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Caractérisation phénotypique des carbapénémases associée aux bêtalactamases à spectre élargi chez des souches d'Entérobactéries. Université de khmisse Miliana, le 19-20 Septembre 2022.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Extraction et évaluation expérimentale in Vitro de l'activité antibactérienne des extraits polyphénolique de trois plantes médicinales sur des souches d'Entérobactéries productrices des Carbapénémase. Centre universitaire A. Boussouf – Mila, le 26 - 27 Octobre 2021.
- **FARES Roufaïda** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : *Salvia officinalis* et *Origanum majorana L* : de la biotechnologie à la santé humaine. Centre universitaire A. Boussouf – Mila, 10 Novembre 2021.

Annexes

- **FARES Roufaida** , METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Entérobactéries uropathogènes productrices des carbapénèmes isolées à l'hôpital Bouguerra Boulaares de Tébessa (Algérie). Centre universitaire A. Boussouf – Mila 9-10 March 2020.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Effet inhibiteur in vitro de l'huile essentielle de *Myrtus communis*. L sur des Entérobactéries uropathogène productrice de Béta-Lactamase à spectre élargi. Université Mohamed Boudiaf de M'Sila, le 17 et 18 Mai 2021.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Activité antibactériennes des huiles essentielle de *Myrtus communis*. L sur *Escherichia coli* (BLSE) responsables d'infections urinaires d'origine hospitalière. Université d'Oum El Bouaghi 13- 14 Décembre 2021.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Activité antibactériennes des huiles essentielle de *Myrtus communis*. L sur *Entérobactéries* productrice de BLSE responsables d'infections urinaires. Université de Souk Ahras 20 Février 2021.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : le pouvoir antibactérienne d'huiles essentielles et des extraits polyphénolique de *Salvia officinalis* sur des bacille gram négative mutiresistantes aux antibiotique
- Université de Souk Ahras 24- 25 Novembre 2021.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Evaluation des la résistance aux antibiotiques des souches d'entérobactéries isolée de sondes urinaires. Université de Tébessa 28- 29 Octobree 2019.
- **FARES Roufaida**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Composition chimique et activité antibactérienne de l'huile essentielle de *Salvia*

Annexes

officinalis L. Contre des bacilles à gram négatif productrice de Carbapénèmases.
Université de Tébessa 20- 21 Novembre 2021.

- **FARES Roufaïda**, METROUH Roumaïssa, MECHAI Abdelbasset et DEBABZA Manel : Evaluation in vitro de l'activité antibactérienne des extraits hydroalcoolique de *Salvia officinalis* sur des souches d'entérobactéries uropathogène productrice de BLSE.
Université de Tlemcen, le 05 -06 juin 2021.

2. Publication

Detection and prevalence of extended spectrum β -lactamases production among Enterobacteriaceae isolated from urinary tract infections