République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Chikh Chahid Larbi Tebessi –Tebessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de BiologieAppliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Science biologique
Option : Microbiologie appliquée

Par :
Melle. GUEFAIFIA Insaf & Melle. HAOUAM Nermine

Intitulée :

Evaluation intégrée de l'antibiorésistance et des propriétés antibactériennes d'une huile essentielle ciblant les souches pathogènes du groupe KES

Devant le jury :

Mm. DEBEBZA M	Prof	Université de Tébessa	Président
Mm. TOUAITIA R	MCB	Université de Tébessa	Rapporteur
Mm. BENHADJ M	MCA	Université de Tébessa	Examinateur

Date de soutenance : 04 / 06 / 2025

Remerciement

Avant tout, nous remercions le grand Dieu, le tout puissant de nous avoir donné la force, la santé, la patience et la volonté pour réaliser ce travail.
Ce mémoire est le fruit des efforts de nombreux personnes qui nous tenons à les remercier dans ces humbles lignes.

Nous tenons tout d'abord à exprimer nos chaleureuxremerciements à notre encadrente Mme Dr. ***TOUAITIA Rahima*** pour ses conseils précieux, sa gentillesse, et pour les connaissances qu'elle nous a transmises, aussi pour ses encouragements tout au long de notre travail, ainsi que ses orientations pertinentes qui ont été un soutien et nous ont aidées dans notre parcours.

Nos remerciements vont aux membres de jury :

Mme Pr. ***DBEBZA Manel*** qui nous a fait l'honneur de présider notre jury et Mme Dr. ***BENHADJ Mabrouka*** d'examiner ce travail.

Nous sommes également reconnaissants envers tous les enseignants qui nous ont servi pendant 17 ans par leur connaissance et guidant.
Enfin, nous sincères remerciements à toute personne qui a contribué de près ou de loin dans notre réussite et à la réalisation de ce modeste travail.

Merci

Dédicaces

Par la volonté de Dieu, qui mérite toute reconnaissance, et merci à Lui avant tout.
Je dédie fièrement ce travail à moi-même, pour ma détermination, mes efforts et pour tout ce que j'ai accompli.

Puis, à ma force après Dieu, ma fierté, source de mon réconfort et de mon courage, à ceux qui m'ont élevée avec bonté et bienveillance,
À l'homme exceptionnel, mon père ***Guefaifia Abdallah***, et à mon pilier premier et éternel, ma chère mère ***Dib Hayat***,
je suis parvenue là où je suis grâce à Dieu, puis grâce à vous, à vos prières et à votre soutien sans limites, Merci du fond du cœur.

Merci aussi à mes chères compagnes de vie, mes sœurs : médecin ***Guefaifia Ines*** et professeure ***Guefaifia Asma***, vous avez toujours été un soutien précieux et inestimable.

Merci infiniment à ceux qui m'ont accompagnée dans mon parcours, partagé mes moments, et transformé ces années en souvenirs inoubliables
Et en aparté, je tiens aussi à adresser une pensée à ma binôme ***Nermine***, ainsi qu'à toutes mes amies qui ont fait partie du chemin, chacune à sa manière

"Ce succès est le vôtre, papa
Cet accomplissement t'appartient, maman."

Avec toute mon affection «***INSAF***»

Dédicaces

D'un sentiment plein d'amour, de sincérité et fidélité, je dédié ce travail à Dieu de m'avoir permis d'accomplir ce travail, tous mes remerciements.

À mon cher père ***HaouamTarek***, au meilleur homme dans le monde, mon idole qui m'a toujours poussé à étudier et à réussir. Qui est toujours présent dans mon cœur et j'aurais tant aimé que tu sois parmi nous à ce moment, Que Dieu ait pitié de toi, père.

À l'étoile de ma vie, à la lumière de mes jours, à la source de mes forces, et ma bonheur ma mère***NaamouneAkila***. Qui s'est sacrifié pour moi afin que je puisse réussir et réaliser mes rêves. Elle n'a pas arrêté de prier et de prier pour moi.

Ma sœur ***Raouene***, Merci pour tes encouragements.

Ma chère tante ***Ouafa*** et ma grande mère ***Khamsa***, je ne peux pas exprimer à travers ses lignes tous mes sentiments merci pour tous les encouragements que vous m'avez donné.

Mes cousines ***Yasmine*** et ***Ranime***

Mes cousins ***Youcef*** et ***Mohamed Yacine***

Je dédie ce travail aussi : A mon binôme***Insaf***

A mes chères amies : ***Safa, Amani, Soumaya, Malek, Donia, Takwa, Hana et Ikram.***

A tous mes enseignants, mes amis (es) et collègues depuis le primaire jusqu'à l'univercité.

A toute ma famille ***Haouam*** et ***Naamoune*** Pour votre amour et vosencouragements.

Que Dieu vous protège tous « ***NERMINE*** »

Résumé

Le groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter, Serratia*) regroupe des entérobactéries opportunistes impliquées dans les infections nosocomiales, caractérisées par une forte résistance aux antibiotiques.

Cette étude avait pour but d'évaluer leur profil de résistance aux carbapénèmes (ertapénème, imipénème), à la colistine, et de détecter la présence éventuelle de BLSE parmi 50 souches (21 *Klebsiella*, 13 *Enterobacter*, 16 *Serratia*) isolées à partir de divers prélèvements humains dans la wilaya de Tébessa.

La majorité des isolats provenaient d'urines, principalement chez des femmes adultes.

Les résultats ont révélé une résistance importante aux carbapénèmes, sans détection de BLSE, ainsi qu'une efficacité décroissante de la colistine, soulignant la nécessité d'une surveillance accrue.

En réponse à cette problématique, l'effet antibactérien de l'huile essentielle *d'Ammi visnaga* a été testé sur ces souches, montrant une activité notable. La CMI pour *Enterobacter* et *Serratia* était de 1,5 µL/mL, traduisant une sensibilité similaire probablement liée à leurs caractéristiques communes.

Ces résultats suggèrent que l'huile essentielle *d'Ammi visnaga* constitue une alternative thérapeutique prometteuse contre les souches multirésistantes du groupe KES.

Mots clés : groupe K.E.S, entérobacteries, BLSE, carbapénèmases, colistine, *Ammi visnaga*.

الملخص

أنواعًا من البكتيريا المعوية الانتهازية المتورطة في (*Serratia*، *Enterobacter*، *Klebsiella*) KES يضمّ مجموعة العدوى المكتسبة داخل المستشفيات، وتتميّز بمقاومتها القوية للمضادات الحيوية.

هدفت هذه الدراسة إلى تقييم نمط مقاومتها للكاربابينيمات (الإرتابينيم، الإيميبينيم)، للكوليستين، وكشف وجود إمكانية تم عزلها من عينات (*Serratia* من 16، *Enterobacter* من 13، *Klebsiella* لدى 50 عزلة (21 من BLSE لإنتاج بشرية مختلفة في ولاية تبسة. أغلب العزلات كانت من البول، خاصة عند النساء البالغات.

، بالإضافة إلى انخفاض فعالية الكوليستين، مما يبرز BLSE كشفت النتائج عن مقاومة كبيرة للكاربابينيمات، دون وجود ضرورة المراقبة المستمرة.

على هذه العزلات، *Ammi visnaga* كاستجابة لهذه المشكلة، تم اختبار التأثير المضاد للبكتيريا للزيت العطري لنبات ، 1.5 µL/mL تساوي *Serratia* و *Enterobacter* لـ (CMI) حيث أظهر نشاطًا ملحوظًا. كانت الكمية المثبطة الدنيا .مما يدل على حساسية متقاربة، ربما تعود إلى خصائص مشتركة بينهما

قد يكون بديلًا علاجيًا واعدًا ضد العزلات المتعددة *Ammi visnaga* تشير هذه النتائج إلى أن الزيت العطري لنبات المقاومة ضمن مجموعة KES.

الكلمات المفتاحية: مجموعة K.E.S، البكتيريا المعوية، BLSE، colistine، الكاربابينيميز، *Ammi visnaga*.

Abstract

The KES group (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) includes opportunistic Enterobacteriaceae involved in nosocomial infections, characterized by strong antibiotic resistance.

This study aimed to assess their resistance profile to carbapenems (ertapenem, imipenem), colistin, and to detect potential ESBL production among 50 strains (21 *Klebsiella*, 13 *Enterobacter*, 16 *Serratia*) isolated from various human samples in the Tébessa region.

Most isolates came from urine, mainly from adult women.

The results revealed high resistance to carbapenems, no detection of ESBLs, and a decreasing efficacy of colistin, emphasizing the need for increased surveillance.

In response to this issue, the antibacterial effect of *Ammi visnaga* essential oil was tested on these strains, showing notable activity. The MIC for *Enterobacter* and *Serratia* was 1.5 µL/mL, indicating similar sensitivity likely due to shared characteristics.

These findings suggest that *Ammi visnaga* essential oil represents a promising therapeutic alternative against multidrug-resistant KES group strains.

Keywords: K.E.S group, Enterobacteriaceae, ESBL, carbapenemase, colistine,*Ammi visnaga*.

Liste des tableaux

Tableau 1: caractères biochimiques de Klebsiella 8
Tableau 2: caractères biochimiques d'Enterobacter 11
Tableau 3: caractères biochimiques de Serratia 14
Tableau 4: Taxonomie d'Ammi visnaga 25
Tableau 5: Les utilisations d'Ammi visnaga 26
Tableau 6: Grammage des milieux (pour 1L).....33
Tableau 7: Interprétation de coloration de gram 38
Tableau 8: liste des antibiotiques utilisés 47
Tableau 9: Tableau des concentrations de l'huile essentielle d'Ammi visnaga exprimées en %, µL/mL et mg/mL. 54
Tableau 10: Aspect macroscopique de *Klebsiella* :.....62
Tableau 11: Aspect macroscopique d*'Enterobacter :*.....63
Tableau 12: Aspect macroscopique de Serratia 64
Tableau 13: Nombre des éspeces identifiées dans chaque genre par la galerie miniaturiséeAPI20E 67
Tableau 14: Pourcentage de résistance et sensibilité des souches de groupe K.E.S aux antibiotiques.....71
Tableau 15:Répartition des phénotypes (S, I, R) pour les antibiotiques testés sur un nombre variable de souches du groupe K.E.S".....72
Tableau 16: Tableau comparatif des resultats de CMI 89
Tableau 17 : Résultats de CMI de groupe K.E.S 91

Liste des figures :

Figure 1: Aspect botanique d'Ammi visnaga 24
Figure 2: Milieux de culture Chromagar, GN, MacConKey et Hektoen.....32
Figure 3: Les étapes de coulage 32
Figure 4: Les étapes de préparation d'un milieu de culture (MH) à partir d'une poudre.....34
Figure 5: Isolement par la methode de 4 quadrants.....36
Figure 6: Les étapes de la coloration de Gram.....38
Figure 7 : Api 20E avant incubation.....40
Figure 8: Les réactifs de l'Api 20E 42
Figure 9: Disposition des disques pour test BLSE.....44
Figure 10: Préparation de l'inoculum.....45
Figure 11: Applicateur des disques d'antibiotiques 46
Figure 12: Quelques étapes d'antibiogramme.....46
Figure 13: l'extraction d'Ammi visnaga.....49
Figure 14: appareil Clevenger d'extraction.....49
Figure 15: Rendement de l'huile essentielle d'ammi visnaga.....50
Figure 16: test d'activité d'huile Ammi visnaga sur les souches bacteriennes de groupe K.E.S 52
Figure 17: Microplaque de CMI avant incubation.....53
Figure 18: les étapes de la conservation courte durée 55
Figure 19: materiels utilisé pour la conservaton longue durée 57
Figure 20: Répartition des souches selon le prélèvement.....59
Figure 21: Répartition des souches selon le sexe.....60
Figure 22: Répartition des souches selon l'âge 61
Figure 23: Klebsiella sur Mac Conkey.....62
Figure 24: Klebsiella sur Hektoen.....62
Figure 25: Klebsiella sur GN 62
Figure 26: Klebsiella sur Chromagar 62
Figure 27: Enterobacter sur Chromagar 63
Figure 28: Enterobacter sur GN 63
Figure 29: Enterobacter sur Hektoen.....63
Figure 30: Enterobacter sur mac Conkey.....63
Figure 31: Serratia sur Chromagar 64

Figure 32: Serratia sur GN.....64
Figure 34: Serratia sur Mac Conkey.....64
Figure 33: Serratia sur Hektoen 64
Figure 35: Klebsiella pneumoniae.....65
Figure 36: Klebsiella oxytoca 65
Figure 37: Enterobater cloacoe 65
Figure 38: Enterobacter aerogenes.....65
Figure39: Enterobacter sakazakii 66
Figure 40: Serratia marcescens.....66
Figure 42: Serratia liquefaciens.....66
Figure 41: Serratia odorifera 66
Figure 43: l'identification des éspeces de Klebsiella par API20E 68
Figure 44: l'identification des éspeces d'Enterobacter par API20E.....69
Figure 45: l'identification des éspeces de Serratia par API20E 70
Figure 46: Résistance et sensibilité des souches de groupe K.E.S aux antibiotiques 73
Figure 47: Résistance et sensibilité des souches de Klebsiella aux antibiotiques 74
Figure 48: Résistance et sensibilité des souches d'Enterobacter aux antibiotiques 75
Figure 49: Résistance et sensibilité des souches de Serratia aux antibiotiques 76
Figure 50: Résultat d'antibiogramme d'une souche de Klebsiella.....77
Figure 51: Résultat d'antibiogramme d'une souche d'Enterobacter.....78
Figure 52: Résultat d'antibiogramme d'une souche de Serratia 78
Figure 53:résultats d'activité antimicrobienne d'HE d'Ammi visnaga surles 50 souches de groupe K.E.S.....82
Figure 54: Effet de l'HE d'Ammi visnaga sur le groupe K.E.S.....87
Figure 55: les resultats de CMI d'huile essentielles d'Ammi visnaga 90

Liste des abréviations :

K.E.S : Klebsiella, Enterobacter, Serratia

BLSE : Béta- lactamases à spectre étendu

KpSC : Klebsiella pneumoniae speciescomplex.

ONPG : Ortho NitroPhenyl Galactoside

VP : Voges Proskauer

TDA : Tryptophane desaminase H2S : Hydrogène sulfureux

Glu : Glucose

Lac : Lactose

LPS : Lipopolysaccharide

ESKPE : Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aerugenosa, Enterobacter spp

QS : Quorum sensing

KPC : Klebsiella pneumoniae carbapenemase

OXA-48 : Oxacillinase-48

NDM : New Delhi metallo-β-lactamase

VIM : Veronaintegron-encodedmetallo-β-lactamase

TEM : Temoniera β-lactamase

SHV : Sulfhydryl Variable β-lactamase

CTX-M : Cefotaximase-Munich

OXA : Oxacillinase

AmpC : Ampicillin chromosomal

OmpK35 : Outer membrane porin K35

OmpK36 : Outer membrane porin K36

PhoQ : Sensor histidine kinase PhoQ

PhoP : ResponseregulatorPhoP

PmrB : Sensor histidine kinase PmrB

PmrA : ResponseregulatorPmrA

PmrC : PhosphoethanolaminetransferasePmrC

PmrHFIJKLM : PmrH, PmrF, PmrI, PmrJ, PmrK, PmrL, PmrM

L-Ara4N :4-amino-4-désoxy-L-arabinose

MgrB : Membrane protein GTPase regulator B

EtpB : Escherichia toxin production B ...

IS : Insertion Sequence

IS5-like : Insertion Sequence 5-like

IS1F : Insertion Sequence 1 Family F

ISKpn13 : Insertion Sequence Klebsiella pneumoniae 13

ISKpn14 : Insertion Sequence Klebsiella pneumoniae 14

IS10R : Insertion Sequence 10 R

Mcr : Mobilizedcolistinresistance

ECC : Enterobacter cloacae complex

C2G : Céphalosporine de deuxième génération

C3G : Céphalosporine de troisième génération

CREC : Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae complex

MBLs : les métallo-béta-lactamases

AAC(6')-I : l’enzyme aminoglycoside 6’-N-acétyltransférase de type I

blaSME-I : bêta-lactamase SME-I (Serratia marcescens enzyme type I)

blaCTX-M : bêta-lactamase à spectre élargi CTX-M

pEtN: la phosphoéthanolamine

wabM : Protéine de biosynthèse du noyau du lipopolysaccharide WabM

WaaF : Heptosyltransférase II

WaaC : Heptosyltransférase I

waaL : Ligase de l'antigène O

WabK : Glycosyltransférase putative WabK

CoaD : Phosphopantéthéineadénylyltransférase

wabG : Glycosyltransférase WabG

WaaA : Kdo transférase

Orf10 : Cadre de lecture ouvert 10

wabH : Glycosyltransférase WabH

hldD : ADP-L-glycéro-D-manno-heptose 6-épiérase

WaaE : GlucosyltransféraseWaaE

WaaQ : Heptosyltransférase III

CG : chromatographie en phase gazeuse

CG-SM : chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse

Lam : Jean-Baptiste de Lamarck (abrégé Lam.)

EPH : Établissement Public Hospitalier

MH : Mueller Hinton

BN : Bouillon Nutritif

GN : Gélose nutritive

CIT : Citrate

GEL : Gélatinase

ADH : Arginine dihydrolase

LDC : Lysine décarboxylase

ODC : Ornithine décarboxylase

H2S : Production de sulfure d'hydrogène

URE : Uréase

IND : Indole

NO2 : Réduction des nitrates en nitrites

N2 : Gaz

NIT : Nitrate

EUCAST : EuropeanCommittee on AntimicrobialSusceptibilityTesting

S : sensible

I : intermédiaire

R : résistante

DMSO : Diméthylsulfoxyde

HE : huile essentielle

CMI : concentration minimale inhibitrice

IU : infection urinaire

ATB : antibiotique

NDM : New Delhi metallo-β-lactamase

DZI : diamètre des zones d'inhibition

K:Klebsiella

E : Enterobacter

S : Serratia

AM : AMPICILLIN

CAZ : CEFTAZIDIME

KZ : CEPHAZOLIN

PRL : PIPERACILLIN

CTX : CEFOTAXIME

AMC: AMOXYCILLIN/CLAVULANIC ACID 2:1

P : PENICILLIN

FOX : CEFOXITIN

AML : AMOXYCILLIN

DA : CLINDAMYCIN

NOR : NORFLOXACIN

TOB : TOBRAMYCIN

CFM: CEFIXIME

CN:GENTAMICIN

ETP: ERTAPENEM

IMP : IMIPENEM

E : ERYTHROMYCIN

AK : AMIKACIN

CIP : CIPROFLOXACIN

CXM : CEFUROXIME SODIUM

SXT : SULPHAMETHOXAZOLE/TRIMETHOPRIM

TE : TETRACYCLINE

LEV : LEVOFLOXACIN

FF : FOSFOMYCIN

C : CHLORAMPHENICOL

CT : COLISTIN SUPHATE

NA : NALIDIXIC ACID

Table des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé

الملخص

Abstract

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Table des matières

Introduction :.....2

1 Définition de groupe bactérien K.E.S :.....7

2 Klebsiella :.....7

2.1 Définition et classification :.....7

2.2 Habitat : 7

2.3 Transmission :.....8

2.4 Caractères morphologiques :.....8

2.5 Caractères biochimiques :.....8

2.6 Caractères culturaux et antigéniques :.....9

2.7 Pouvoir pathogène :.....9

2.8 Facteurs de virulence :.....9

2.8.1 Capsule : 9

2.8.2 Lipopolysaccharide : 10

2.8.3 Le polysaccharide central : 10

3 Enterobacter : 10

3.1 Définition et classification :.....10

3.2 Habitat : 11
3.3 Transmission : 11
3.4 Caractères morphologiques : 11
3.5 Caractères biochimiques : 11
3.6 Caractères culturaux : 12
3.7 Pouvoir pathogène : 12
3.8 Facteurs de virulence : 12
4 Serratia : 13
4.1 Définition et classification : 13
4.2 Habitat : 13
4.3 Transmission : 13
4.4 Caractères morphologiques : 13
4.5 Caractères biochimiques : 14
4.6 Caractères culturaux : 14
4.7 Pouvoir pathogène : 14
4.8 Facteurs de virulence : 15
1 Mécanismes de résistance de Klebsiella : 17
1.1 Mécanisme de résistance de Klebsiella aux β-lactamines : 17
1.1.1 Enzymatique : 17
1.1.2 Non enzymatiques : 17
1.2 Mécanisme de résistance de Klebsiellaaux colistines : 18
2 Mécanismes de résistance d'*Enterobacter* : 19
2.1 Mécanisme de résistance d'*Enterobacter* auxβ-lactamines : 19
2.1.1 Résistance intrinsèque : 19
2.1.2 Résistance aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam : 19
2.1.3 La résistance aux β-lactamines à large spectre (BLSE): 19
2.1.4 Résistance aux carbapénèmes : 19

2.1.5 Résistance aux autres classes d'antibiotiques: 20
2.2 Mécanisme de résistance d'*Enterobacter* aux colistines : 20
3 Mécanismes de résistance de *Serratia*: 20
3.1 Mécanisme de résistance de *Serratia*auxβ-lactamines : 20
3.1.1 Résistance aux carbapénèmes : 21
3.1.2 Résistance médiée par la β-lactamase AmpC : 21
3.1.3 Résistance acquise aux β-lactamines à spectre étendu (BLSE) : 21
3.1.4 Autres mécanismes de résistance : 21
3.2 Mécanismes de résistance de*Serratia*aux colistines : 22
1 La plante *Ammi visnaga* : 24
1.1 Définition : 24
1.2 Historique : 25
1.3 Taxonomie : 25
1.4 Caracterisation et morphologie 26
1.5 Utilisation d*'Ammi visnaga* : 26
1.6 Activité antimicrobienne: 27
2 Huile essentielled*'Ammi visnaga* : 28
1 Descreption de l'etude: 31
2 Objectif générale : 31
3 Matériel et méthodes 32
I- Identification et profile de résistance de la population bactérienne : 32
1- Préparation de milieux de culture : 32
2- Isolement des souches bacteriennes : 35
3- Identification des souches bacteriennes isolées : 37
3.1 Coloration de gram : 37
3.2 Identification biochimique par galerie miniaturisé API 20E : 39
3.3 Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des souches bacteriennes isolées : 43

3.3.1 Antibiogramme : 43
3.3.2 Recherche des souches productrices de BLSE:.....44
3.3.3 Analyse de la production de carbapénémase :.....44
II- Activité antibacterienne d'huile essentielle : 48
1- Extraction des huiles essentielles: 48
2- Rendement d'extraction de l'huile d*'Ammi visnaga* : 50
3- Aromatogramme: 51
4- Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle par la méthode de microdilution en milieu liquide 52
a. Principe : 52
b. Technique 52
III- La conservation des souches bacteriennes : 55
1- Conservation courte durée : 55
a. Définition et principe : 55
b. Technique : 55
2- Conservation longue durée : 56
1 Répartition de la population bacteriénne: 59
1. Résultats d'identification de la population bacterienne : 62
2.1 Aspect macroscopique de groupe K.E.S : 62
2.1.1 Klebsiella :.....62
2.1.2 *Enterobacter* : 63
2.1.3 Serratia : 64
2.2 Aspect microscopique de groupe K.E.S : 65
2.2.1 Klebsiella : 65
2.2.2 Enterobacter : 65
2.2.3 Serratia : 66
3 Identification biochimique des souches : 67

4 Antibiogramme :.....71
4.2 BLSE : 79
4.3 Carbapénamase : 80
4.4 Colistine :.....80
5 Activité antimicrobienne d'huile essentielle (HE) : 81
6 La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :.....89
7 Perspectives d'application pharmaceutique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* : 94
Conclusion : 96
Liste des références : 98
Annexes 113

Introduction

Introduction :

Les entérobactéries forment un vaste groupe de bactéries en forme de bacilles à Gram négatif, largement répandues dans la nature ainsi qu'au niveau du tube digestif humain, ce qui explique leur appellation « entérobactéries ». Ce groupe hétérogène comprend des bactéries pouvant être pathogènes, commensales ou encore saprophytes **(Oduro-Mensah et *al.*, 2016).**

Parmi elles, les genres *Klebsiella, Enterobacter et Serratia*, regroupés sous le nom de complexe KES, sont identifiés comme d'importants pathogènes opportunistes. Ces bactéries sont fréquemment isolées dans diverses infections, notamment les infections urinaires, les pneumonies nosocomiales, les infections de plaies chirurgicales et les septicémies, en particulier chez les patients hospitalisés en soins intensifs. La majorité des souches en cause présentent une résistance accrue à un nombre croissant d'antibiotiques, comme en témoigne la multiplication des β-lactamases à spectre étendu dans les isolats hospitaliers de *Klebsiella spp***(Livrelli et *al.*, 1996a).**

Cette situation est d'autant plus préoccupante que la résistance aux antibiotiques représente aujourd'hui une menace majeure pour la santé publique mondiale et la sécurité alimentaire. Le traitement des infections devient de plus en plus complexe, voire parfois impossible, du fait de la perte d'efficacité des antibiotiques. La diffusion de ces résistances augmente considérablement les risques d'échec thérapeutique, prolonge les hospitalisations, alourdit les coûts des soins et accroît la morbidité ainsi que la mortalité, mettant en péril les efforts de lutte contre les maladies infectieuses **(Fortune Djimabi et *al.*, 2021).**

Dans ce contexte, l'exploration de solutions thérapeutiques alternatives apparaît comme une nécessité. Depuis l'Antiquité, l'humanité a recours à la nature pour soulager ses maux. À ses débuts, l'usage des plantes médicinales reposait sur l'instinct et l'observation, sans connaissance précise des principes actifs qu'elles renferment. Aujourd'hui, leur emploi est répandu à l'échelle mondiale, fondé sur les savoirs de la médecine traditionnelle, et pratiqué soit par automédication, soit sur conseil médical ou pharmaceutique **(Petrovska, 2012 ; Ríos, Recio, 2005).**

Selon l'Organisation Mondiale de la Santé, 80 % de la population mondiale recourt aux plantes médicinales pour traiter les problèmes de santé primaires, faisant de la phytothérapie l'art de soigner par les plantes une pratique universelle **(Shay et *al.*, 2015)**.

C'est dans ce cadre qu*'Ammi visnaga* (également appelée bisnaga, cure-dent ou khella), une plante herbacée de la famille des Apiaceae, suscite un intérêt particulier. Espèce annuelle ou bisannuelle, elle est originaire du bassin méditerranéen couvrant l'Afrique du Nord, l'Asie et l'Europe et s'est aujourd'hui largement implantée dans d'autres régions **(Latreche-Douar *et al.*, 2022)**.

Les fruits d*'Ammi visnaga* (Lam.) Lamarck renfermeprincipalement trois composés actifs : la khelline, la visnagine et la visnadine. Ces substances sont à la base de médicaments d'origine végétale utilisés notamment pour traiter les affections coronariennes et l'asthme bronchique. De ce fait, cette plante constitue une ressource précieuse pour l'industrie pharmaceutique **(Latreche-Douar *et al.*, 2022)**.

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité antibactérienne d'une huile essentielle vis-à-vis de souches pathogènes appartenant au groupe KES (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) et d'analyser leur profil de résistance aux antibiotiques.

Plus précisément, il s'agit de :

- Déterminer les profils d'antibiorésistance des souches isolées à partir de divers échantillons cliniques.
- Tester l'activité in vitro de l'huile essentielle sur les souches du groupe KES.
- Étudier la relation entre la résistance aux antibiotiques et l'efficacité de l'huile essentielle, en apportant des éléments sur ses mécanismes d'action possibles.

Afin de répondre à ces objectifs, ce travail a été structuré en trois chapitres :

- Chapitre 1 : Présentation du groupe K.E.S

Ce chapitre est consacré à la description des bactéries appartenant au groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter et Serratia*). Il aborde leur classification, leurs principales caractéristiques morphologiques et biochimiques, leurs habitats, ainsi que leur pouvoir pathogène. Leur rôle en tant que pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales graves, notamment en milieu hospitalier, y est également détaillé.

- Chapitre 2 : Résistance aux antibiotiques des bactéries du groupe K.E.S

Ce chapitre traite des mécanismes de résistance développés par ces bactéries face aux antibiotiques, avec un accent particulier sur les β-lactamines (notamment les BLSE), les carbapénèmes et la colistine.

- Chapitre 3 : Présentation de la plante *Ammi visnaga*

Ce chapitre présente la plante médicinale *Ammi visnaga*, en détaillant ses caractéristiques botaniques, sa composition chimique notamment ses principes actifs ainsi que ses diverses utilisations traditionnelles et pharmaceutiques. Une attention particulière est portée à son potentiel antimicrobien et à son intérêt en tant qu'alternative thérapeutique face à la résistance bactérienne.

À la fin de ce travail, une attention particulière est portée à l'analyse et à l'interprétation des résultats obtenus, en soulignant leur importance dans le contexte actuel de la lutte contre la résistance bactérienne. Cette étude ouvre également la voie à de nouvelles perspectives de recherche, en suggérant des pistes prometteuses pour approfondir l'évaluation des huiles essentielles comme alternatives thérapeutiques, notamment face aux souches multirésistantes du groupe K.E.S.

Partie 1 :

Revue Bibliographique

Chapitre I :

Profil biologique de groupe K.E.S

1 Définition de groupe bactérien K.E.S :

Les bactéries appartenant au groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) sont largement répandues dans l'environnement. Ces micro-organismes partagent des caractéristiques très similaires et sont généralement différenciés en fonction de diverses réactions biochimiques et de leur motilité **(Iabadene et *al.*, 2009)**.

Les bactéries du groupe K.E.S partagent les caractéristiques suivantes :

Il s'agit de bactéries pathogènes opportunistes. Peu virulentes intrinsèquement. Ces infections nosocomiales sont principalement associées à des patients vulnérables tels que les cirrhotiques, les diabétiques, les brûlés, les patients cancéreux, les personnes âgées, les patients en réanimation et les nourrissons. En règle générale, le test de Voges-Proskauer (VP) affiche une réaction positive. Ces souches présentent fréquemment une multirésistance aux antibiotiques **(Avril et *al.*, 2000)**.

2 Klebsiella :

2.1 Définition et classification :

Trevisan a dénommé ce genre en 1887, en l'honneur du microbiologiste allemand Klebs Edwin **(Belbel, 2014).***Klebsiella* fait partie des Enterobacteriaceae, une famille qui comprend une variété de genres biochimiquement distincts **(Wyres*et al.*, 2020).** Actuellement, le genre *Klebsiella* regroupe un large éventail d'espèces, incluant des espèces du complexe *K. pneumoniae* (KpSC) et d'autres espèces de *Klebsiella* comme *Klebsiella Indica, Klebsiella Terrigena, Klebsiella Spallanzanii, KlebsiHuaxiensis, KlebsiOxytoca, KlebsiGrimontii, KlebsiPasteurii*et*KlebsiMichiganensis*. En moyenne, seulement 90 % de ces espèces ont la même identité nucléotidique que KpSC **(Wyres*et al.*, 2020).**

2.2 Habitat :

Les espèces de *Klebsiella* sont des pathogènes opportunistes **(Holt *et al.*, 2015),** omniprésents dans la nature. On les trouve principalement dans deux habitats principaux. Le premier concerne les ressources environnementales, notamment les sols, les eaux de surface, les plantes et les eaux usées. Le deuxième habitat est constitué de la surface muqueuse des vertébrés à sang chaud, comme les chevaux, les porcs ou les humains **(Broberg *et al.*, 2014).** On les trouve couramment dans la flore des individus en bonne santé, notamment dans le nez, la gorge, la peau etle tractus intestinal **(Holt *et al.*, 2015).**

2.3 Transmission :

Les bactéries du genre *Klebsiella* peuvent se propager de diverses manières. Un mode de transmission fréquent est le contact cutané avec des surfaces ou des objets contaminés, tels que des éponges en luffa, du matériel médical ou des produits sanguins. Dans certains cas de bactériémie, la transmission peut également se faire par voie fécale. Concernant *Klebsiella rhinoscleromatis*, la transmission s'effectue par les sécrétions respiratoires, mais nécessite un contact prolongé avec une personne infectée. En revanche, *Klebsiella granulomatis* se transmet principalement par voie sexuelle, bien qu'elle puisse également se transmettre verticalement (de la mère à l'enfant) ou par inoculation accidentelle. Malgré cela, le risque de transmission entre partenaires sexuels reste inférieur à 50 % **(Janda*et* Abbott, 2006).**

2.4 Caractères morphologiques :

Klebsiella spp est une bactérie immobile, présentant une forme en bâtonnet droit et un diamètre variant de 0,3 à 1 µm et une longueur variante entre 0,6 et 6 µm. Elles se manifestent en rose (bactéries Gram-négatives) et présentent une capsule polysaccharidique clairement perceptible lorsqu'elles subissent une coloration par Gram. Cette capsule enveloppe toute la surface cellulaire, lui conférant une résistance face à plusieurs mécanismes de défense de son hôte **(Mandell, 2009).**

2.5 Caractères biochimiques :

Tableau 1: caractères biochimiques de *Klebsiella* **(Habibou, 2019).**

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mobilité	Urease	H_2S
Résultat	+	+	+	- (+)	+/-	+/-	-	+/-	-

ONPG :Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP :Voges Proskauer ; TDA : Tryptophane desaminase ; H2S : Hydrogène sulfureux; Glu : Glucose ; Lac :Lactose

(+) :positif ; (+/-) :variable ; (-) :négatif ; - (+) : en général négatif - exceptionnellement positif tard

2.6 Caractères culturaux et antigéniques :

Klebsiella se manifeste sous 4 variétés lisses et 4 variétés rugueuses, en fonction de la présence ou non des antigènes capsulaires (K), somatiques (O) et la substance mucilagineuse (M).

- Formes lisses : MKO, MKR (encapsulées muqueuses), KO, KR (non muqueuses).
- Formes rugueuses : MO, MR (mucoïde sans capuchon), OR (non mucoïde et sans capuchon).

Ces bactéries facultatives à l'anaérobie peuvent survivre à température ambiante pour des périodes prolongées de temps. La température optimale pour la croissance est de 37°C, tandis que les limites de croissance se situent entre 12°C et 43°C**.** Elle**s** sont éliminées en 30 minutes par la chaleur humide de 55°C et survivent au séchage pendant plusieurs mois.

Ce genre n'a aucun effet hémolytique sur les globulesrouges du cheval ou du mouton. Colonies grandes, humides et brillantes dues à la capsule de polysaccharide (antigène K) lorsqu'elles sont cultivées sur gélose MacConkey**.**L'Aspect des colonies lorsque la production de matière capsulaire est élevée, les colonies sur la gélose apparaissent luxuriantes, grises, mucoïdes et presque liquides, en raison de la teneur élevée en eau (92%) de la matière capsulaire **(HendAbdalla El-Sayed Moustafa *et al*., 2023).**

2.7 Pouvoir pathogène :

Les bactéries du genre *Klebsiella* sont des pathogènes importants, responsables d'infections graves telles que les pneumonies nosocomiales (7 à 14 % des cas), les septicémies (4 à 15 %), les infections urinaires (6 à 17 %), les infections de plaies (2 à 4 %), les septicémies néonatales (3 à 20 %) et de nombreuses infections rares comme l'endocardite, les abcès médiastinaux gazeux, la péritonite, la myonécrose ou encore la fasciite nécrosante. Ces bactéries, opportunistes, affectent particulièrement les personnes immunodéprimées ou présentant des affections sous-jacentes telles que l'alcoolisme, le diabète, la cirrhose, l'insuffisance rénale, le cancer, les greffes ou les brûlures**(Janda *et* Abbott, 2006).**

2.8 Facteurs de virulence :

2.8.1 Capsule :

La capsule est considérée comme un élément crucial de la virulence de *Klebsiella*, puisqu'elle offre une défense à la bactérie contre la phagocytose et les facteurs bactéricides présents dans le sérum. Des infections invasives chez l'homme ont été liées à divers sérotypes

ou types capsulaires de *Klebsiella pneumoniae*, en particulier les types K1, K2, K5, K54 et K57. Plus spécifiquement, l'isolat de type K1 a été identifié comme participant à la pneumonie de Friedländer et a récemment été associé à la création d'abcès hépatiques pyogènes **(SaadeAbdalkareemJasim, 2022).**

2.8.2 Lipopolysaccharide :

Le polysaccharide joue un rôle crucial et primordial dans la pathogénicité des bactéries, notamment pour *K. pneumoniae*. Il est inclus dans les compositions superficielles de ces dernières, ce qui lui permet de résister à la phagocytose. Sa particularité réside dans sa faculté à déclencher le facteur de supplémentation. Il contribue à la défense des bactéries contre le mécanisme de supplémentation de l'hôte. Le lipopolysaccharide (LPS) est constitué de trois composants : le lipide A, le polysaccharide central et l'antigène O, qui se présente sous la forme d'une chaîne latérale de polysaccharides. La résistance des bactéries à la destruction est due à l'antigène O. Huit sérotypes de *K. pneumoniae* existent, les sérotypes O1 et O2 étant les plus répandus **(SaadeAbdalkareemJasim, 2022).**

2.8.3 Le polysaccharide central :

Deux types de polysaccharides basiques (Type I et Type II) ont été identifiés comme produits par ces bactéries, qui sont synthétisés par deux groupes différents de groupes de gènes wa**.**Le deuxième type est constitué d'un ensemble de gènes, à savoir wabM, waaF, waaC, waaL, wabK, coaD, wabG, waaA, orf 10, wabH, hldD, waaE et waaQ. L'hypermucoviscosité de K. pneumoniae est synthétisée par le type 1 du noyau polysaccharidique, et le processus de remplacement du type 1 par le type 2 entraîne une virulence plus faible par rapport au type 1 dans un modèle de souris infecté **(SaadeAbdalkareemJasim, 2022).**

3 Enterobacter :

3.1 Définition et classification :

L'identification du genre *Enterobacter* remonte à 1960 et fait partie de la famille des Enterobacteriaceae. *Enterobacter* est un des principaux pathogènes bactériens résistants appartenant au groupe ESKAPE (*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumannii, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter* spp). L'évolution exponentielle des méthodes phénotypiques et génotypiques a conduit à une complexité accrue de ce membre du groupe. Le genre *Enterobacter* compte aujourd'hui 22 espèces : *E. aerogenes, E. amnigenus, E. asburiae, E. cloacae, E. cowanii, E. dissolvens, E.*

*gergoviae, E. hormaechei, E. intermedius, E. kobei, E. nimipressuralis, E. pyrinus, E. taylorae, E. carcinogenus, E. arachidis, E. helveticus, E. ludwigii, E. mori, E. oryzae, E. pulveris, E. radicincitans et E. soli***(Davin-Regli, Lavigne et Pagès, 2019)**.

3.2 Habitat :

On peut trouver les membres du genre *Enterobacter* dans divers milieux tels que le sol, l'eau, les égouts, les légumes, les fruits et les plantes, où ils peuvent être endophytes ou perçus comme phytopathogènes pour plusieurs espèces de végétaux **(Davin-Regli, Lavigne et Pagès, 2019)**. Ils sont également présents dans divers milieux aquatiques et terrestres. De plus, ces bactéries peuvent être détectées dans les intestins des humains et d'autres animaux en tant que commensaux, mais elles peuvent aussi constituer un important agent pathogène pour l'homme **(Jorge Hendrichs*et al*., 2021)**.

3.3 Transmission :

La transmission des espèces d'*Enterobacter* peut provenir de la flore intestinale du patient elle-même ou d'éléments externes (comme la mère et son enfant, la nourriture, les équipements hospitaliers). Le principal moyen de transmission est le portage passif sur les mains effectué par les professionnels de santé **(Kus, 2014).**

3.4 Caractères morphologiques :

Enterobacter est un genre de bactéries fréquentes, à Gram négatif, anaérobies facultatives, de forme bâtonnet, non sporulées, Leur diamètre varie entre 0,6 et 1 µm et leur longeur varie entre 1,2 et 3 µm. Grâce à un flagelle péritriche et possédant des pilus de classe 1, 80 % de ces bacilles sont encapsulés **(Paterson *et al*, 2005; Hart, 2006; Pickering *et al*., 2009)**. La polyphylie du genre repose sur la séquence de l'ADNr 16S, comprenant 14 lignées réparties dans le cycle de l'ADNr 16S **(Jorge Hendrichs*et al*., 2021).**

3.5 Caractères biochimiques :

Tableau 2: caractères biochimiques d'*Enterobacter* **(Habibou, 2019).**

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mobilité	Urease	H_2S
Résultat	+	+	+	-	+	+	+	-	-

ONPG :Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP :Voges Proskauer ; TDA : Tryptophane desaminase ; H2S : Hydrogène sulfureux; Glu : Glucose ; Lac :Lactose

(+) :positif ; (+/-) :variable ; (-) :négatif ; - (+) : en général négatif - exceptionnellement positif tard

3.6 Caractères culturaux :

Les bactéries du genre *Enterobacter* se multiplient aisément sur des milieux standardisés non enrichis (non exigeant), tels que la gélose normale versée en boite de pétri, en 24 heures à pH neutre et à une température idéale de 37°C. Ce sont des germes mésophiles, aéro-anaérobies facultatifs, qui ne présentent aucune pigmentation et affichent un aspect typique des colonies d'entérobactéries ; elles forment des colonies lisses, brillantes, bombées et humides avec une structure homogène mesurant de 2 à 3 mm de diamètre **(Grimont et Grimont, 2006)**.Ce micro-organisme peut se développer sur des milieux choisis pour les entérobactéries tels que Drigalski, éosine bleu de méthylène, MacConkey et Hecktoen **(Lehner *et al*., 2011).**

3.7 Pouvoir pathogène :

Les *Enterobacter spp* sont des pathogènes opportunistes qui provoquent diverses maladies nosocomiales comme la pneumonie, les troubles urinaires et les infections sanguines. Ces derniers constituent le type d'infection invasive le plus répandu causé par cette bactérie. Ils peuvent aussi engendrer des infections transmises en communauté comme les maladies de la peau et des tissus mous. Les voies respiratoires, urinaires, gastro-intestinales et la peau des patients hospitalisés sont principalement habités par ces bectéries. Ces endroits servent d'entrée pour les maladies localisées ou invasives. Les différentes espèces d'*Enterobacter* provoquent également des maladies chez les bébés et les enfants comme la méningite, l'endocardite, l'abcès cérébral, l'arthrite pyogénique et la péritonite **(Cunningham et Leber, 2018).**

3.8 Facteurs de virulence :

Les éléments déterminant la pathogénicité et la virulence d'*Enterobacterspp*ne sont pas clairement définis. À l'instar d'autres entérobactéries, ils disposent de flagelles qui, outre leur contribution à la motilité, interviennent également dans le processus de formation du biofilm, l'exportation des protéines et l'adhésion. Les bactéries du genre *Enterobacter*, à l'instar de toutes les bactéries à Gram négatif, possèdent une endotoxine (LPS) et sont capables de sécréter, in vitro, des entérotoxines, des alpha-hémolysines et des cytotoxines qui ressemblent aux toxines Shiga II. Ils ont également un SST3 qui facilite l'injection des facteurs de

virulence directement dans les cellules hôtes, ainsi que des sidérophores qui leur confèrent la capacité de chélater le fer nécessaire à leur métabolisme bactérien et à l'établissement de l'infection **(Davin-Regli*et al*., 2019).**

4 Serratia :

4.1 Définition et classification :

En Italie, au début du XIXe siècle, le genre *Serratia* a été décrit pour la première fois en tant que membre des *Enterobacteriaceae***(Williams *et al*., 2022).** Jusqu'à présent, ce genre compte 23 espèces identifiées, parmi lesquelles six ont été associées à des cas d'infection humaine : *S. marcescens, S. plymuthica, S. liquefaciens, S. rubidaea, S. odorifera et S. fonticola***(Tavares-Carreon *et al*., 2023).** Elles sont délimitées par une hybridation ADN-ADN et caractérisées par des tests physiologiques et biochimiques détaillés. Bien que ce genre soit varié, la plupart des études actuelles se sont concentrées sur l'espèce dominante, *Serratia marcescens***(Williams *et al*., 2022).**

4.2 Habitat :

Le genre *Serratia* rassemble des bactéries opportunistes qui se trouvent largement dans l'environnement naturel **(Goncharov*et al*., 2021).** Ce genre, très diversifié, se manifeste dans divers habitats tels que l'eau, le sol, les plantes et l'homme **(Kulkova, Wróbel et Dobrzyński, 2024).**

4.3 Transmission :

Des sources contaminées dans les milieux hospitaliers comme les ventilateurs mécaniques, des désinfectants tels que la chlorhexidine, des savons, des stéthoscopes, des incubateurs, des solutions parentérales et des shampoings pour bébés constituent la principale source de transmission de *Serratia marcescens***(Guel-Gomez *et al*., 2023)**. Cependant, on considère que les mains contaminées des professionnels de la santé constituent une voie importante de propagation de cette bactérie. Elle joue également un rôle déterminant dans les épidémies nosocomiales, surtout chez les patients admis en hôpital **(Tahiri*et al*., 2023).**

4.4 Caractères morphologiques :

Serratia englobe des bactéries Gram-négatives en forme de bâtonnets, mobiles, et

appartenant à la classe des protéobactéries **(Tavares-Carreon *et al*., 2023).** Ces bactéries ont une longueur variant de 0,9 à 2 µm et un diamètre de 0,5 à 0,8 µm **(Van Houdt*et al*., 2007).** Leur étude a été amorcée à la suite de l'observation d'une décoloration rouge sang apparaissant sur de la polenta, due à une croissance organique **(Williams, 2022).** Les espèces de *Serratia*, en particulier celles possédant des flagelles péritriches, présentent une motilité qui constitue un facteur clé pour leur survie et leur propagation **(Berger *et al*., 2022).**

4.5 Caractères biochimiques :

Tableau 3: caractères biochimiques de *Serratia***(Habibou, 2019).**

Test	GLU	LAC	ONPG	Indole	VP	Cit	Mobilité	Urease	H_2S
Résultat	-	-	+	-	+	+	+	-	-

ONPG :Ortho NitroPhenyl Galactoside ; VP :Voges Proskauer ; TDA : Tryptophane desaminase ; H2S : Hydrogène sulfureux ; Glu : Glucose ; Lac :Lactose

(+) :positif ; (+/-) :variable ; (-) :négatif ; - (+) : en général négatif - exceptionnellement positif tard

4.6 Caractères culturaux :

Serratia marcescens est isolé à partir de sang, elle est cultivée sur une gélose au sang ou sur des milieux sélectives (la gélose MacConkey ou des milieux chromogènes**) (ZivkovicZaric*et al*., 2023).** Cette bactérie se multiplier à une température idéale d'environ 31 °C **(Bruneaux *et al*., 2021).***Serratiamarcescens* est un agent pathogène opportuniste chez l'homme qui génère un pigment de couleur rouge vif, la prodigiosine, en présence d'oxygène, et de l'asparagine en absence d'oxygène **(Esteves &Scharf, 2024;Ennabili, 2023/2024).**

4.7 Pouvoir pathogène :

Différentes formes d'infections provoquées par *Serratia marcescens* ont été recensées, comme la pneumonie, la septicémie, les infections de plaies, la méningite, les infections urinaires, l'endocardite, les affections cutanées et des tissus mous, la bactériémie, les infections des sites chirurgicaux, les affections oculaires, etc **(ZivkovicZaric et al., 2023 ; Berger, Pogosian et Zainah, 2022).** Par ailleurs, *S. marcescens* est capable de contaminer

plusieurs espèces d'hôtes, notamment les coraux, les insectes, les nématodes, les plantes et les mammifères **(Tavares-Carreon*et al.*, 2023).** Cette bactérie, grâce à sa capacité d'adaptation aux divers milieux, est susceptible de se diffuser sans difficulté dans les unités de santé. Elle contamine différents dispositifs médicaux, comme les dispositifs d'endoscopie et les matériels et solutions pour la perfusion. Cette souplesse lui donne la capacité de déclencher une diversité considérable de symptômes, ce qui en fait un enjeu majeur tant dans le domaine de la microbiologie environnementale qu'en milieu hospitalier **(Elliott et Vaillant, 2020).**

4.8 Facteurs de virulence :

Différents facteurs de virulence contribuent à la pathogénie de *Serratia marcescens*, notamment la création de biofilm, la mobilité bactérienne et la synthèse de diverses exo-enzymes comme la nucléase, la protéase, les hémolysines, la lipase 1, des chitinases et le biosurfactant serrawettine. *S. marcescens* génère aussi de la prodigiosine (2-méthyl-3-pentyl-6-méthoxyprodigiosine), un pigment rouge qui possède des effets antibactériens, antifongiques, antiparasitaires et immunosuppresseurs. Divers signaux environnementaux régulent la production de prodigiosine, comme la température, le taux de phosphate dans le milieu **(Morohoshi*et al.*, 2007).**Un système de signalisation appelé quorum sensing (QS) est utilisé pour réguler ces facteurs de virulence. On considère le QS comme un langage chimique codé, employé pour orchestrer la manifestation des gènes de virulence. En effet, il contrôle l'expression de divers gènes qui codent pour des facteurs de virulence. Chez *S. marcescens*, le QS régule plusieurs fonctions physiologiques comme la mobilité en essaim, la création de biofilm, les processus hémolytiques, la fermentation du butanediol et la synthèse d'enzymes extracellulaires, de prodigiosine, de biosurfactants et d'antibiotiques **(Khayyat*et al.*, 2021).**

Chapitre 2:

L'antibiorésistance focus sur groupe K.E.S

1 Mécanismes de résistance de Klebsiella :

1.1 Mécanisme de résistance de Klebsiella aux β-lactamines :

1.1.1 Enzymatique :

1.1.1.1 Carbapenemase :

La résistance de *Klebsiella pneumoniae* aux carbapénèmes est principalement due à la présence de carbapénémases, parmi lesquelles les types les plus courants sont KPC, OXA-48, NDM et VIM, présentant des variations selon les régions géographiques. La carbapénémase KPC, une enzyme β-lactamase appartenant à la classe A, a été découverte pour la première fois en 1996 aux États-Unis et est actuellement largement répandue **(Hobson *et al.*, 2022).**

Cette enzyme est capable d'hydrolyser un large éventail de β-lactamines, notamment les pénicillines, les céphalosporines, l'aztréonam et les carbapénèmes, tout en présentant une faible sensibilité aux inhibiteurs classiques tels que l'acide clavulanique **(Lan *et al.*, 2021).**

1.1.1.2 La résistance aux β-lactamines à large spectre (BLSE) :

Les β-lactamases à spectre étendu (BLSE) sont une catégorie d'enzymes qui procurent une résistance à la majorité des antibiotiques de la classe des β-lactamines, incluant les céphalosporines à large spectre. Un grand nombre de bactéries à Gram négatif ont la capacité de produire des bêtalactamases à spectre étendu (BLSE), cependant, elles sont plus fréquemment identifiées chez *Klebsiella pneumoniae* et *Klebsiella oxytoca*. Diverses souches de bactéries à Gram négatif produisent des β-lactamases à spectre élargi (BLSE) telles que TEM, SHV, CTX-M et OXA, qui présentent une diversité d'activités contre des substrats spécifiques des β-lactamines **(Vance *et al.*, 2023).** Outre les carbapénémases, la surexpression des β-lactamases à spectre étendu (BLSE) et des céphalosporinasesAmpC contribue à la résistance aux carbapénèmes, notamment en cas d'association avec des altérations de la perméabilité membranaire. Ces enzymes ont la capacité d'hydrolyser les céphalosporines et d'autres β-lactamines, ce qui, conjugué à une diminution de la pénétration des antibiotiques dans la cellule, entraîne une réduction significative de leur efficacité **(Lan *et al.*, 2021).**

1.1.2 Non enzymatiques :

D'autres mécanismes non enzymatiques sont significativement impliqués dans la résistance aux carbapénèmes. La perte ou la mutation des porines OmpK35 et OmpK36 entraîne une diminution de la perméabilité membranaire, ce qui restreint l'absorption des antibiotiques. En outre, l'activation des pompes à efflux contribue à l'excrétion des antibiotiques hors de la cellule bactérienne, ce qui entraîne une réduction de leur

concentration intracellulaire et de leur efficacité. Ces mécanismes peuvent interagir de manière synergique avec les β-lactamases, ce qui rend certaines souches particulièrement résistantes et complexes à traiter **(Lan *et al.*, 2021).**

1.2 Mécanisme de résistance de Klebsiellaaux colistines :

La colistine, ou polymyxine E, a été découverte en 1947 à partir de l'isolement de la bactérie *Paenibacilluspolymyxasubsp. colistinus*. Cet organisme synthétise également de la colistinase, une enzyme qui a pour fonction d'inactiver la colistine. La colistine, en tant qu'antibiotique polycationique, présente une activité importante contre les bactéries à Gram négatif, notamment les *Enterobacteriaceae* **(Aghapour*et al.*, 2019).**

La résistance à la colistine chez *K. pneumoniae* est engendrée par divers mécanismes. Les variations génétiques des gènes contrôlant les systèmes de régulation à deux composants PhoP/PhoQ et PmrA/PmrB influent sur la régulation des opérons pmrC et pmrHFIJKLM, ce qui conduit à la biosynthèse et au transport des groupes cationiques 4-amino-4-désoxy-L-arabinose (L-Ara4N) vers le lipide A. Cette altération entraîne une augmentation de la charge positive des lipopolysaccharides (LPS) et une diminution de leur affinité pour la colistine, ce qui se traduit par l'émergence d'une résistance à cet antibiotique.

D'autre part, MgrB est une protéine transmembranaire de petite taille qui est synthétisée suite à l'activation du système de signalisation PhoP/PhoQ, et qui joue un rôle de régulateur négatif dans ce système. Il contrôle l'expression de etpB, lequel est associé à la modification du lipopolysaccharides (LPS). Les mutations du gène mgrB ont un effet de régulation positive sur l'expression du système PhoP/PhoQ, ce qui entraîne une augmentation de la résistance à la colistine. En règle générale, les mutations mgrB sont induites par des séquences d'insertion (IS ; IS5-like, IS1F, ISKpn13, ISKpn14 et IS10R) ou des mutations ponctuelles.

En outre, la surproduction de polysaccharide capsulaire diminue les interactions de la colistine avec la surface bactérienne, ce qui entraîne une résistance à la colistine. De plus, il convient de souligner l'importance du transfert horizontal du gène mcr porté par le plasmide dans la propagation de la résistance à la colistine parmi différentes souches bactériennes. Depuis son identification initiale à la fin de l'année 2015**,** les facteurs influençant la résistance transférable à la colistine ont évolué au-delà de mcr-1 pour englober plusieurs nouveaux allèles **(Liu *et al.*, 2021).**

2 Mécanismes de résistance d'*Enterobacter* :

2.1 Mécanisme de résistance d'*Enterobacter* auxβ-lactamines :

Divers mécanismes de résistance antimicrobienne, qu'ils soient intrinsèques ou acquis, ont significativement restreint les options thérapeutiques disponibles pour traiter efficacement les infections provoquées par le complexe *Enterobacter cloacae* (ECC)**(Annavajhala*et al.*, 2019).**

2.1.1 Résistance intrinsèque :

L'Enterobacter cloacae complexe (ECC) présente une résistance naturelle aux pénicillines et aux céphalosporines de première et deuxième génération en raison d'une faible expression basale des gènes chromosomiques ampC, responsables de la production d'une céphalosporinase de type AmpC (classe C, groupe 1 de Bush) inductible**(Annavajhala*et al.*, 2019).**

2.1.2 Résistance aux céphalosporines de troisième génération et à l'aztréonam :

Elle peut résulter de mutations, en particulier dans le gène ampD, provoquant une hyperproduction constitutive (dérépression) d'AmpC**(Annavajhala*et al.*, 2019).**

2.1.3 La résistance aux β-lactamines à large spectre (BLSE):

La résistance aux β-lactamines à large spectre (BLSE) est associée à des gènes qui codent pour des β-lactamases à spectre étendu (BLSE), entraînant une résistance aux β-lactamines, notamment aux céphalosporines de deuxième et troisième génération (C2G et C3G) ainsi qu'aux monobactames (aztréonam). Ces gènes, habituellement transportés par des plasmides, ont été identifiés pour la première fois chez *Enterobacter cloacae complexe* (ECC) en 1989. Par la suite, leur fréquence a augmenté, en particulier dans les milieux hospitaliers et parmi les patients ayant été traités par des antibiotiques précédemment. Actuellement, l'occurrence de la résistance combinée aux β-lactamines à large spectre (BLSE) et aux AmpC est fréquente, ce qui entraîne une quasi-résistance complète aux β-lactamines **(Annavajhala*et al.*, 2019).**

2.1.4 Résistance aux carbapénèmes :

La résistance aux carbapénèmes chez *Enterobacter cloacaecomplexe*(ECC) est due par deux mécanismes principaux :

- Surexpression constitutive d'AmpC avec une perméabilité membranaire réduite.
- Acquisition de gènes codant des carbapénémases plasmidiques (le mécanisme le plus fréquent).

Deux grandes catégories de carbapénémases ont été identifiées chez les *Enterobacter*

*cloacae*résistants aux carbapénèmes (CREC) :

- Les β-lactamases à sérine hydrolysant les carbapénèmes (classes A et D d'Ambler).
- Les métallo-β-lactamases (MBLs) (classe B d'Ambler)**(Annavajhala*et al*., 2019).**

2.1.5 Résistance aux autres classes d'antibiotiques:

En plus de leur résistance aux β-lactamines, les *Enterobacter cloacae*complex (ECC) possèdent divers gènes de résistance à plusieurs classes d'antibiotiques :

Résistance aux aminosides :

La résistance aux aminosides est principalement due à l'acquisition de plasmides ou de cassettes génétiques mobiles codant l'enzyme aminoglycoside 6'-N-acétyltransférase de type I [AAC(6')-I)]

Résistance aux fluoroquinolones:

Des mutations affectant l'ADN gyrase, la topoisomérase ADN, ou les gènes de pompes d'efflux ont été associées à la résistance aux fluoroquinolones.

Co-résistance et propagation plasmidique:

les gènes ESBL et de carbapénémases sont souvent co-localisés avec des gènes de résistance aux aminosides sur des plasmides, entraînant ainsi des phénotypes de résistance multi-classe aux antibiotiques **(Annavajhala et *al*., 2019).**

2.2 Mécanisme de** résistance **d'*Enterobacter* aux colistines :**

Colistine est un antibiotique ancien qui a été recentré ces derniers temps années. En raison de la bonne activité contre les Gram-négatifs bactéries, il est considéré comme l'un des antimicrobiens de dernière intention pour le traitement des bactéries Gram-négatives MDR.Selon des rapports précédents, ECC pourrait acquérir de la colistine résistance par le gène mcr à médiation plasmidique, petite protéine gène ecr, ou systèmes à deux composants phoPQ, pmrAB, qui conduire à une modification du lipide A. L'émergence de *Enterobacter cloacae complexe* (ECC) résistantes aux carbapénèmes et à la colistine posera sans aucun doute un énorme défi au contrôle des infections. Et le mécanisme de résistance au carbapénème et à la colistine induit par des éléments mobiles augmente également le risque de transmission à grande échelle **(S. Liu *et al*., 2021).**

3 Mécanismes de résistance de *Serratia*:

3.1 Mécanisme de résistance de *Serratia*auxβ-lactamines :

La résistance aux antibiotiques chez *S. marcescens* est basée sur des mécanismes à la fois intrinsèques et acquis. Parmi les mécanismes les plus fréquemment observés, on peut

citer la production de β-lactamases, la modification des porines, l'activation des pompes à efflux et la résistance naturelle à certains antibiotiques, comme la colistine.*S. marcescens* produit plusieurs enzymes et toxines qui renforcent sa résistance et son pouvoir pathogène. Parmi elles, la DNase, la lipase et la gélatinase participent à la dégradation des défenses de l'hôte. L'hémolysine ShlA, une toxine formant des pores, provoque des dommages cellulaires et favorise l'inflammation, contribuant ainsi à la virulence de la bactérie **(Cosimato et *al*., 2024).**

3.1.1 Résistance aux carbapénèmes :

Les premiers isolats de *Serratia marcescens*résistants aux carbapénèmes ont été rapportés en 1982. En 1994, le gène de la carbapénémase blaSME-1 a été découvert, ce qui a été suivi par l'identification d'autres carbapénémases. Ces enzymes, conjointement avec une réduction de la perméabilité membranaire, réduisent l'efficacité des carbapénèmes, une catégorie d'antibiotiques fréquemment employée en dernier recours **(Overmeyer et *al*., 2023).**

3.1.2 Résistance médiée par la β-lactamase AmpC :

Serratia marcescens est caractérisée d'un gène AmpC chromosomique qui lui confère une résistance aux pénicillines, aux céphalosporines de première génération, aux céphamycines et aux monobactames. Cette β-lactamase peut être surexprimée en réponse à une exposition aux β-lactamines ou suite à la sélection de mutants déréprimés, ce qui conduit à une résistance généralisée à ces antibiotiques, à l'exception de certaines céphalosporines de quatrième génération et des carbapénèmes**(Cosimato*et al*., 2024).**

3.1.3 Résistance acquise aux β-lactamines à spectre étendu (BLSE) :

S. marcescens peut acquérir des β-lactamases à spectre étendu (BLSE), comme blaCTX-M, via des plasmides, conférant une résistance aux céphalosporines de troisième génération. Ces plasmides peuvent également porter des gènes de résistance à d'autres classes d'antibiotiques, notamment les aminoglycosides, les fluoroquinolones, les macrolides et lecotrimoxazole**(Overmeyer et al., 2023).**

3.1.4 Autres mécanismes de résistance :

En plus de la synthèse de β-lactamases, *S. marcescens* peut restreindre l'entrée des antibiotiques en altérant ses porines et en renforçant l'efficacité de ses pompes d'efflux. Ces mécanismes peuvent entraîner une diminution de l'efficacité des carbapénèmes et d'autrescatégoriesd'antibiotiques**(Overmeyer*et al*., 2023).**

3.2 Mécanismes de résistance de*Serratia*aux colistines :

Au sein de *Serratia marcescens*, la résistance intrinsèque aux polymyxines est attribuée à la modification du lipopolysaccharide (LPS) par l'opéron arnBCADTEF. Cet opéron facilite l'incorporation de groupes cationiques tels que le 4-amino-4-désoxy-L-arabinose (L-Ara4N) et la phosphoéthanolamine (pEtN), ce qui entraîne une modification de la charge du LPS. Cette altération entraîne une diminution de l'affinité de la colistine pour sa cible, ce qui se traduit par une réduction de son efficacité. L'accroissement de la charge en lipopolysaccharides renforce cette résistance intrinsèque, offrant ainsi à S. marcescens une protection naturelle contre les polymyxines**(Aghapour*et al.*, 2019)**

Chapitre 3 :

Huile essentielle et groupe K.E.S

1 La plante *Ammi visnaga* :

1.1 Définition :

Ammi visnaga L., connue sous le nom de *Khella* ou *Noukha* au Maghreb **(Amraoui et *al.*, 2022)**, et également surnommée « herbe à cure-dent », appartient à la famille des *Apiaceae (ombellifères)* **(Mgamat*et al.*, 2024).** Cette plante est largement répandue dans le nord de l'Algérie. Il s'agit d'une petite plante herbacée annuelle ou bisannuelle originaire de la région méditerranéenne d'Afrique du Nord, d'Asie et d'Europe **(Amraoui et *al.*, 2022)**. Elle renferme de nombreux composés bioactifs aux propriétés biologiques significatives, ce qui explique son utilisation en tant que plante médicinale **(El Jabboury*et al.*, 2023).**



Figure 1: Aspect botanique *d'Ammi visnaga* **(Mgamatet al., 2024)**

1.2 Historique :

Son appellation dérive du terme grec "ammos", faisant référence au sable, en lien avec son environnement, et de "bis acutum", décrivant la forme de son fruit, un diakène. Cette plante est l'une des plus anciennement documentées, étant mentionnée dans les célèbres papyrus d'Ebers datant de l'Égypte ancienne, où elle était reconnue comme un remède universel. Elle était communément surnommée le « pain des pharaons » en raison de ses propriétés médicinales.

Cette plante était couramment utilisée comme diurétique et antispasmodique pour soulager les coliques néphrétiques, favoriser l'élimination des calculs rénaux, traiter l'asthme, les abcès dentaires, les dysménorrhées, les crampes gastro-intestinales et le psoriasis. Ultérieurement, Dioscoride fait référence à la plante dans son traité "De materiamedica", cependant, en Europe, son utilisation est restée pendant longtemps limitée à celle d'un cure-dent. C'est seulement à la fin du XIXe siècle que la découverte de la « Khelline», l'un de ses principes actifs majeurs, a été attribuée à Mustapha Ibrahim, un jeune pharmacien de la mission égyptienne à la faculté de médecine de Montpellier. Dans un extrait de son article publié dans le journal "L'Union des écoles", il mentionne avoir identifié une substance cristallisée qui réagit comme un glucoside avec la liqueur cupropotassique, qu'il a nommée "Khelline", en hommage au nom arabe de la plante. Avant de partir, il a transmis son sujet de recherche à Théodore Malosse, un pharmacien de la même institution, qui l'a ensuite utilisé comme thème pour sa thèse de doctorat en 1881 **(Rahal, 2021).**

1.3 Taxonomie :

Tableau 4: Taxonomie d*'Ammi visnaga*

Règne	*Plantae-Plantes*
Sous-règne	*Tracheobionta–Plantesvasculaires*
Sous-division	*Spermatophyta–Plantesàgraines*
Division	*Magnoliophyta– Plantesfleuries*
Classe	*Mangoliopsida–Dicotylédones*
Sous-classe	*Rosidae*
Ordre	*Apiales.*
Famille	*Apiaceae/Umbelliferae–Famillede carottes.*
Genre	*AmmiL.-ammi.*
Espèce	*Ammivisnaga(L) Lam.–plantecure-dent.*

1.4 Caracterisation et morphologie

Ammi visnaga (L.) Lam. Est une plante herbacée annuelle ou bisannuelle qui se développe à partir d'une racine pivotante épaissie, comparable à celle de la carotte, et peut atteindre une taille maximale de 1,5 mètre. La tige se présente comme étant dressée, cylindrique, robuste et fortement ramifiée, ornée d'un feuillage vert grisâtre. Les feuilles, de forme triangulaire à deltoïde, ont une longueur variante entre 5 et 20 cm et présentent une fine division, avec des segments terminaux allant de linéaires à filiformes.

L'inflorescence se présente sous la forme d'une ombelle composée de fleurs blanches mesurant entre 6 et 10 cm de diamètre, caractérisées par une base fortement enflée. En vieillissant, cette partie se lignifie et est communément employée en tant que cure-dents. Les fleurs sont caractérisées par leur tétracyclisme, leur pentamérie et leur symétrie radiale, comprenant un ovaire infère et cinq étamines dérivant de la fusion de deux carpelles. Le fruit se présente sous la forme d'une structure ovoïde aplatie, composée de deux méricarpes lisses, d'une longueur d'environ 2 à 3 mm, et acquérant une couleur brun grisâtre une fois arrivé à maturité. Ces fruits sont réputés pour leurs propriétés médicinales **(El Jabboury et *al*., 2023).**

1.5 Utilisation d'*Ammi visnaga* :

La visnaga (L.) Lam. Occupe une place prépondérante parmi les plantes médicinales en raison de son ancienneté et de son importance. Cette plante est riche en divers composés bioactifs ayant des activités biologiques significatives, ce qui justifie son utilisation en tant que plante médicinale **(El Jabboury et *al*., 2023).**

Tableau*5:*Les utilisations d'*Ammi visnaga*

Activité cardioprotectrice :	Le *khella*, est une plante dont les fruits séchés et mûrs sont exploités pour leurs propriétés pharmacologiques. Ce composé renferme divers éléments actifs tels que la visnadine, la visnagine et la khelline, qui agissent sur le système cardiovasculaire en bloquant les canaux calciques. La visnadine: est la plus active, en inhibant la contraction du muscle lisse vasculaire, en dilatant les vaisseaux périphériques et coronaires, et en favorisant la circulation coronaire. De plus, elle exerce des effets chronotropes et inotropes négatifs, ce qui entraîne une diminution de la résistance vasculaire périphérique.

	La visnagine: a démontré des effets vasodilatateurs périphériques et coronaires, et a été employée pour traiter l'angine de poitrine en raison de son action inhibitrice non spécifique sur la contractilité du muscle lisse vasculaire. En sus de son effet vasodilatateur. La khelline: démontre une activité bronchodilatatrice et spasmolytique, et pourrait potentiellement accroître le taux de cholestérol HDL **(Bhagavathula et *al.*, 2015).**
Autres utilisations :	Le *khella* est administré par voie orale en tant qu'antispasmodique pour traiter les coliques, les crampes abdominales, les calculs rénaux, les douleurs menstruelles et le syndrome prémenstruel. Le *khella* est également employé dans le traitement des troubles respiratoires tels que l'asthme, la bronchite, la toux et la coqueluche. Il est également prescrit dans le traitement des affections hépatiques et vésiculaires, du diabète, ainsi que comme diurétique. Dans un contexte topique, le *khella* est appliqué localement sur la peau afin de traiter le vitiligo, la pelade, la cicatrisation des plaies, les inflammations et les piqûres d'insectes **(Bhagavathula et *al.*, 2015)**.

1.6 Activité antimicrobienne:

Le *khella*, également connu sous le nom scientifique d'*Ammi visnaga*, est renommé pour ses propriétés antimicrobiennes. Ces caractéristiques étaient habituellement attribuées à la khelline et à la visnagine. Ces deux composés étaient réputés pour leurs propriétés antifongiques, antibactériennes et antivirales. En raison de ses propriétés antimicrobiennes, *A.visnaga* pourrait être envisagé comme un traitement potentiel du psoriasis, en raison de la similitude structurelle entre la khelline et le psoralène. La *visnaga* présente une activité photosensibilisante et a été étudiée pour son potentiel en tant qu'agent photosensibilisant chez les patients souffrant de psoriasis **(Alam et *al.*, 2018.).**

Une étude a révélé que l'extrait éthanolique de fruit de *khella* présentait l'activité la plus élevée contre la bactérie à Gram positif *Enterococcus faecalis*. De surcroît, il a été mis en évidence que le même extrait possède une activité antimicrobienne à l'encontre des bactéries Gram négatives *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Diverses recherches ont examiné les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de la plante *A. visnaga L.*,

mettant en évidence leur capacité à inhiber la croissance de différentes souches microbiennes telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klebsiella pneumoniae* **(Khalil et *al*., 2020).**

2 Huile essentielled*'Ammi visnaga* :

Des huiles essentielles ont été trouvées dans différents organes d*'Ammi visnagaL*., principalement dans les ombelles et les fruits. Certaines recherches ont eu recours à la distillation par entraînement à la vapeur ou à l'hydrodistillation pour extraire l'huile, avant de la soumettre à une analyse par chromatographie en phase gazeuse (CG) et chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (CG-SM) en vue d'identifier ses constituants.

Les composants chimiques des huiles essentielles extraites de la plante *Ammi visnaga* sont principalement classés en deux groupes : les non-terpènes et les monoterpènes, auxquels s'ajoutent en quantités très limitées les diterpènes et les sesquiterpènes. Les composants les plus présents dans les huiles essentielles d*'A. visnaga* comprennent le 2-méthylbutyrate d'isoamyle, l'isobutyrate d'isoamyle, le 2-méthylbutyrate d'isobutyle, le 2-méthylbutyrate de 2-méthylbutyle, l'isobutyrate de 2-méthylbutyle et l'isovalérate d'isoamyle.

De nombreux composés volatils identifiés chez *A. visnaga* sont classés parmi les monoterpènes. Il s'agit de composés monoterpéniques, qu'ils soient oxygénés ou hydrocarbonés, parmi lesquels on retrouve principalement le linalol et le thymol. Ils constituent la part la plus importante parmi les autres monoterpènes. D'autres monoterpènes identifiés comprennent l'α-thujène, l'α-pinène, le β-pinène et le β-myrcène, bien qu'ils soient présents en quantités limitées. La composition des principaux composants des huiles essentielles d*'A. visnaga* est étroitement liée à la partie de la plante et à son stade de croissance.

Un grand nombre d'études ont analysé les disparités dans la composition chimique des huiles essentielles d*'A. visnaga* ainsi que leurs quantités respectives. Elles ont avancé l'hypothèse que ces variations pourraient être liées à des disparités de biotypes et de provenances géographiques, ainsi qu'à des fluctuations environnementales telles que la nature du sol, l'exposition au rayonnement solaire et les contraintes environnementales. Ces éléments pourraient induire la stimulation ou la désactivation de certains groupes d'enzymes, ce qui

pourrait entraîner une régulation positive ou négative de certaines voies de biosynthèse **(Khalil et *al*., 2020).**

Partie 2 :

Matériel et méthodes

1 Descreption de l'etude:

Notre travail a été réalisé au sein du laboratoire de microbiologie du département de biologie appliquée de la faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie de l'Université Larbi Tébessi de Tébessa, sur une durée de trois mois au cours de l'année universitaire 2025.

Cette étude prospective porte sur 50 souches du groupe K.E.S (Klebsiella, Enterobacter, Serratia) isolées à partir de différents prélèvements effectués dans plusieurs laboratoires auprès de patients externes réalisant leurs analyses.

Les prélèvements ont été réalisés dans les établissements suivants :

Établissement public hospitalier (EPH) :

- Hôpital Bouguerra Boulaares (Bekkaria).

Laboratoires d'analyses privés :

- Laboratoire El Nour (Chéria).
- Laboratoire Elite (Tébessa).
- Laboratoire El Azhar (Tébessa).
- Laboratoire Mecheri (Tébessa).
- Clinique El Ghazali (Tébessa).

2 Objectif générale :

L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'efficacité antibactérienne d'une huile essentielle contre des souches pathogènes du groupe KES (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) et d'analyser leur profil d'antibiorésistance. Plus spécifiquement, les objectifs incluent:

- **Caractériser les profils d'antibiorésistance** des souches isolées de différents prélèvements pathologiques.
- **Évaluer l'activité antibactérienne de l'huile essentielle** sur les souches du groupe KES à l'aide de méthodes in vitro.
- **Analyser la corrélation entre l'antibiorésistance et l'efficacité antibactérienne** de l'huile essentielle, en fournissant des données sur les mécanismes d'action potentiels.

3 Matériel et méthodes

I- Identification et profile de résistance de la population bactérienne :

1- Préparation de milieux de culture :

Dans notre étude, plusieurs milieux de culture ont été utilisés. Nous avons utilisé des milieux prets à l'emploi, tandis que d'autres ont été préparés manuellement.

❖ **A partir des flacons commercialisés :**

Les flacons de milieux de culture sont mis dans le bain marie à 100°C jusqu'à l'obtention d'une gélose liquide, puis retirés et coulés directement dans des boites de pétri stériles sur une épaisseur de 4mm ± 0,5 mm. Les boites sont laissées pour se solidifier à température ambiante.



Figure 2: Milieux de culture Chromagar, GN, MacConKey et Hektoen



Figure 3: Les étapes de coulage

❖ **A partir de poudre :**

La plupart des milieux se présentent sous forme déshydratée, ce qui assure une composition constante, un stockage facile et une préparation simplifiée. Pendant la reconstitution du milieu, mélanger la poudre avec la quantité d'eau recommandée, homogénéiser, puis la dissoudre complètement en chauffant à l'aide d'un agitateur magnétique à plaque chauffante pendant 45 minutes. L'utilisation d'un erlenmeyer est recommandée pour assurer une bonne homogénéisation et diminue l'évaporation. Après refroidissement partiel, le milieu est réparti dans d'autres récipients (flacons ou tubes à essai) pour être stérilisé, en général dans un autoclave. Le temps et la température peuvent varier en fonction de la composition et du volume du milieu. En général une stérilisation de 20-30 minutes à 120° C est préconisée. Ils peuvent ensuite être conservés tels quels pour des utilisations ultérieures, ou coulés dans des boites de Pétri pour une utilisation immédiate.

Pour obtenir un milieu gélosé à partir d'un bouillon, il est recommandé d'ajouter de l'agar. Il convient d'ajouter 2,5 g d'agar à 150 ml de bouillon.

Tableau 6: Grammage des milieux (pour 1L)

Milieu de culture	**Quantité de milieu en poudre par gramme dans 1 litre d'eau**
Mueller Hinton (MH)	**38 grammes**
Mac conkey	**40 grammes**
Hektoen	**75 grammes**
Bouillon Nutritif (BN)	**8 grammes**
Bouillon Mueller Hinton	**21 grammes**



Figure 4: Les étapes de préparation d'un milieu de culture (MH) à partir d'une poudre

2- Isolement des souches bacteriennes :

Nous avons effectué un réisolement des souches bacteriennes sur 4 milieux de culture : Gélose nutritive (GN), Chromagar, Hektoen et MacConkey, afin d'obtenir des colonies bien isolées. Pour cela, nous avons utilisé la méthode d'isolement en quatre quadrants.

a. Principe :

La méthode de stries (streak-plate) : est conçue pour isoler des cultures pures de bactéries, ou colonies, à partir de populations mixtes par une simple séparation mécanique. Avec la méthode de stries, un mélange de cellules est réparti à la surface d'un milieu nutritif semi-solide à base d'agar dans une boîte de Pétri, de manière à ce que de moins en moins de cellules soient déposées à des points largement espacés. Après incubation, elles se développent en colonies.

b. Technique :

- Étiquetez le bord inférieur (pas le couvercle) de la boîte avec au minimum : la date, le type de milieu de culture...
- Flambez les instruments utilisés (pipette pasteur) au bec Bunsen avant de prélever Et si vous utilisez anse de platine faites rougir le métal jusqu'à ce qu'il devienne rouge. Assurez-vous que l'anse métallique est refroidie avant de toucher la colonie.
- Pour le premier quadrant, prélevez l'échantillon et répartissez-le sur environ un quart de la surface du milieu avec un mouvement de va-et-vient rapide et régulier.
- Tournez la boîte de Pétri de 90° pour strier le second quadrant. Soulevez de nouveau la moitié inférieure de la boîte. Touchez la fin des stries du premier quadrant, puis étalez dans le deuxième quadrant avec un mouvement de va-et-vient
- Répétez l'étape 4 pour le troisième et quatrième quadrant.
- Jetez les pipettes pasteur ou reflambez l'anse à la fin
- Incubez la boîte à l'envers (couvercle en bas) pour éviter que la condensation du couvercle ne tombe sur les colonies **(JoVE, 2006).**

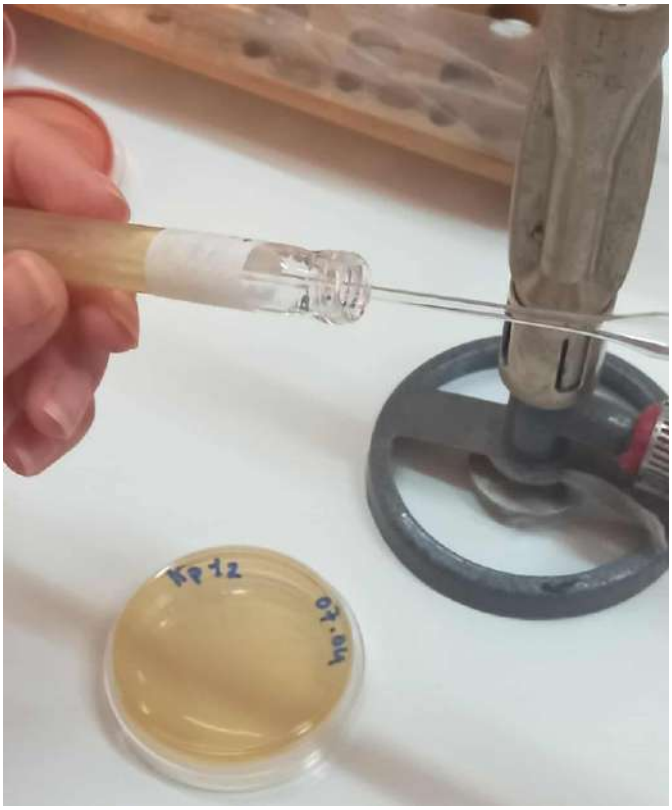




Figure 5: Isolement par la methode de 4 quadrants

3- Identification des souches bacteriennes isolées :

Nous avons procédé à une coloration de Gram afin de confirmer l'appartenance des souches isolées au groupe des bactéries à Gram négatif.

3.1 Coloration de gram :

a. Principe :

La coloration de Gram est l'une des techniques de coloration les plus anciennes et les plus importantes utilisées en microbiologie. Elle a été introduite en 1882 par Hans Christian Gram (un bactériologiste danois). La coloration de Gram est une technique différentielle permettant de classer les bactéries en Gram-positives et Gram-négatives selon la structure de leur paroi cellulaire **(Paray *et al*., 2023).**

b. Technique :

1-Préparation du frottis :

- Marquer une zone (ovale) sur une lame de verre propre à l'aide d'un marqueur.
- Transférer l'échantillon à l'aide d'une anse de platine sur la zone marquée de la lame. Si l'échantillon est une colonie bactérienne issue d'un milieu de culture, ajouter une solution saline normale ou de l'eau distillée à la zone marquée, puis prélever une colonie et l'émulsionner dans la solution saline normale ou l'eau distillée.
- Laisser sécher l'échantillon à l'air libre.
- Fixer la lame à chaud en la passant 3 à 4 fois au-dessus de la flamme, frottis vers le haut. Éviter la surchauffe**(Paray *et al*., 2023).**

2-Coloration du frottis :

- Placer le frottis préparé sur un support de coloration au-dessus de l'évier et y ajouter le colorant primaire, par exemple le violet de cristal, pendant 1 minute.
- Après 1 minute, laver le frottis sous un jet d'eau douce et ajouter de l'iode de Gram pendant 1 minute.
- Après 1 minute, laver à nouveau le frottis sous un jet d'eau douce.
- Ajouter un décolorant, par exemple de l'acétone ou de l'alcool éthylique à 95 %, pendant moins de 10 secondes (l'étape la plus importante de la coloration de Gram, car l'utilisation prolongée d'un agent décolorant peut éliminer toutes les taches des deux types de bactéries).

- Laver à nouveau le frottis sous un jet d'eau douce et ajouter un contre-colorant, par exemple de la safranine ou de la carbonylfuchine diluée (1:10), pendant moins d'une minute.
- Après 1 minute, lavez le frottis à l'eau douce du robinet et laissez-le sécher à l'air libre.
- Nettoyez le dos du frottis avec du papier absorbant, déposez une goutte d'huile de cèdre et faites la mise au point au microscope en observant sous une lentille à immersion dans l'huile (100 X)**(Paray *et al.*, 2023).**

c. Interprétation :

Tableau 7: Interprétation de coloration de gram **(Paray et *al.*, 2023).**

Bactérie gram positive	**Violet foncé**
Bactérie gram négative	**Rose ou rouge**





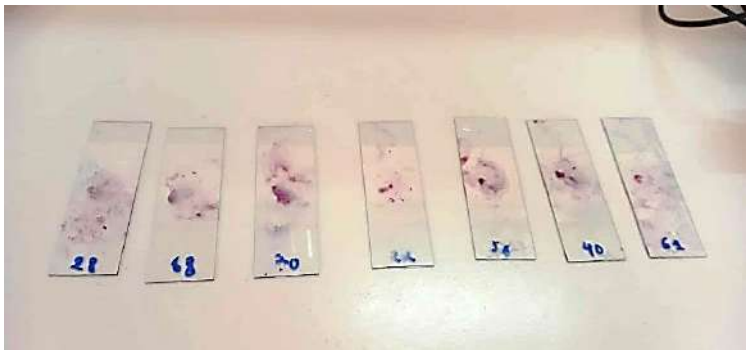


Figure 6: Les étapes de la coloration de Gram

3.2 Identification biochimique par galerie miniaturisé API 20E :

Dans le cadre de notre travail, les 50 souches ont été identifiées à l'aide de la galerie API 20E.

a. Principe :

L'API 20 E est un système standardisé utilisé pour identifier les entérobactéries et d'autres bacilles à Gram négatif non exigeants. Il comprend 21 tests biochimiques miniaturisés et une base de données d'identification. La galerie API 20 E contient 20 microtubes avec des substrats déshydratés. On les remplit avec une suspension bactérienne, ce qui active les tests. Pendant l'incubation, des changements de couleur apparaissent, soit naturellement, soit après ajout de réactifs. Les résultats sont lus à l'aide d'un tableau de lecture, puis l'identification de la bactérie se fait grâce à un catalogue analytique ou un logiciel.

b. Technique :

- **Préparation de la galerie :**
  - Réunir le fond et le couvercle de la boîte d'incubation.
  - Verser environ 5 ml d'eau distillée ou déminéralisée dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
  - Inscrire la référence de la souche sur la languette latérale (ne pas écrire sur le couvercle).
  - Sortir la galerie API 20 E de son emballage.
  - Placer la galerie dans la boîte d'incubation.
- **Préparation de l'inoculum :**

Préparer une suspension bactérienne dans 10 ml d'eau physiologique stérile à partir d'une culture jeune de 18 à 24 h sur milieu de culture.

- **Inoculation de la galerie :**
  - ❖ Introduire la suspension bactérienne dans les tubes de la galerie à l'aide de la même pipette (pour éviter la formation de bulles au fond des tubes, poser la pointe de la pipette sur le côté de la cupule, en inclinant légèrement la boîte d'incubation vers l'avant) :
    - ➢ Pour les tests CIT, VP et GEL, remplir tube et cupule,
    - ➢ Pour les autres tests, remplir uniquement les tubes (et non les cupules),

- Pour les tests : ADH, LDC, ODC, H2S, URE créer une anaérobiose en remplissant leur cupule d'huile de paraffine.

❖ Refermer la boîte d'incubation.

❖ Incuber à 36°C ± 2°C pendant 18-24 heures**.**

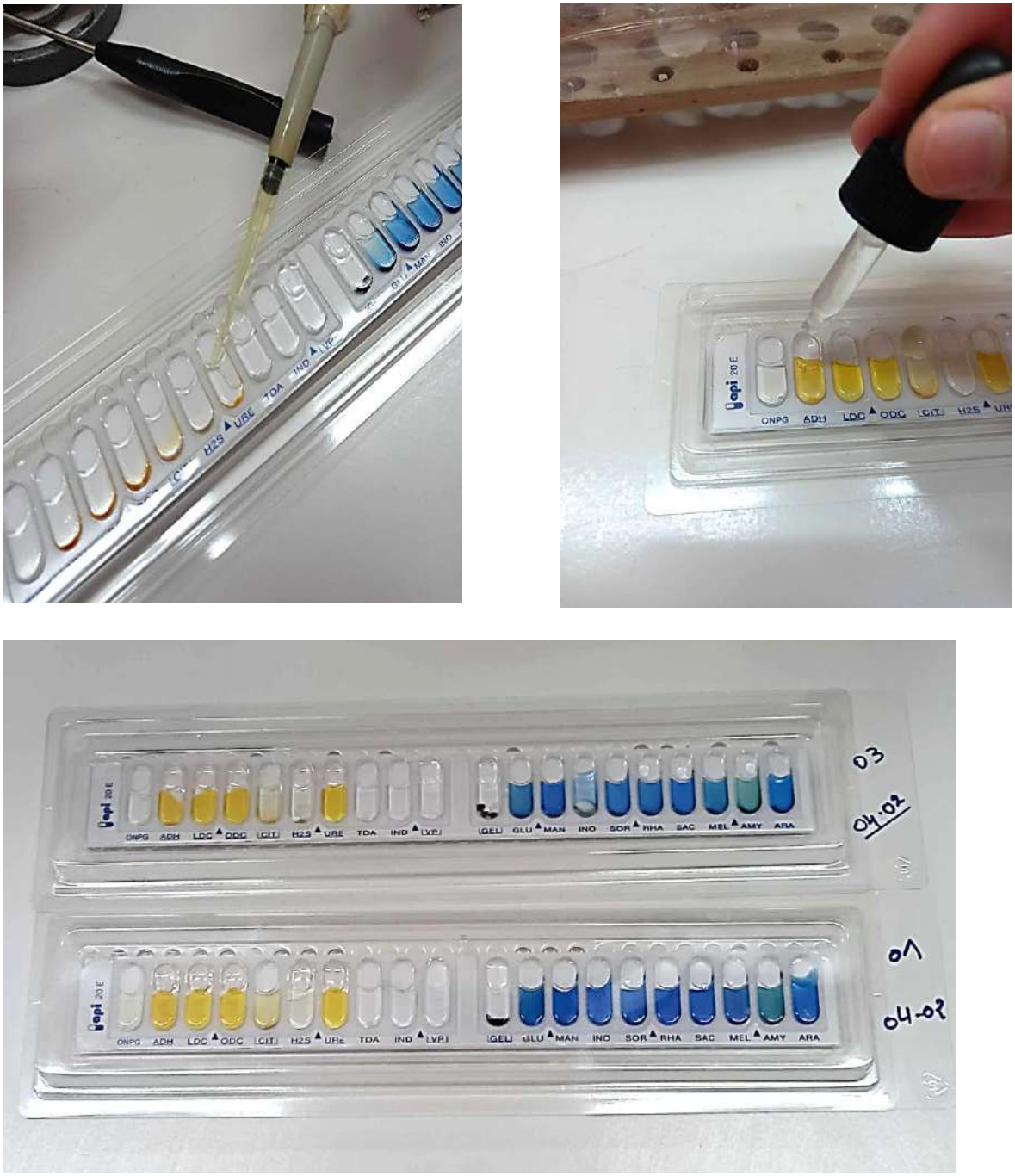


Figure 7 : Api 20E avant incubation

c. Lecture et interprétation :

Lecture de la galerie :

- Après incubation, la lecture de la galerie doit se faire en se référant au Tableau de Lecture.
- Noter sur la fiche de résultats toutes les réactions spontanées puis révéler les tests nécessitant l'addition de réactifs :
  - ✓ **Test TDA :** ajouter 1 goutte de réactif TDA. Une couleur marron-rougeâtre indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
  - ✓ **Test IND :** ajouter 1 goutte de réactif JAMES. Une couleur rose diffusant dans toute la cupule indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats.
  - ✓ **Test VP :** ajouter 1 goutte des réactifs VP 1 et VP 2. Attendre au minimum 10 minutes. Une couleur rose ou rouge indique une réaction positive à noter sur la fiche de résultats. Une faible coloration rose apparaissant après 10 minutes doit être considérée négative.
- Par ailleurs dans certains cas, le profil à 7 chiffres étant insuffisamment discriminant, le test complémentaire réduction des nitrates en nitrites (NO2) et en azote (N2) est nécessaire:

  Ajouter 1 goutte des réactifs NIT 1 et NIT 2 dans le tube GLU. Attendre 2 à 5 minutes. Une coloration rouge indique une réaction positive (NO2). Une réaction négative (coloration jaune) peut être due à la production d'azote (éventuellement signalée par la présence de microbulles) : ajouter 2 à 3 mg de réactif Zn dans la cupule GLU. Après 5 minutes, un tube resté jaune indique une réaction positive (N2) à noter sur la fiche de résultats. Si la cupule est orange-rouge, la réaction est négative, les nitrates encore présents dans le tube ont été réduits en nitrites par le Zinc. Cette réaction est intéressante pour les bacilles à Gram négatif oxydase positive.



Figure 8: Les réactifs de l'Api 20E

Interprétation :

L'identification bactérienne se fait à partir d'un profil numérique.

- ✓ **Comment déterminer le profil numérique :**

Sur la fiche de lecture, les 20 tests biochimiques sont regroupés par séries de trois. Chaque test possède une valeur (1, 2 ou 4). Pour chaque groupe, on additionne les valeurs des tests positifs, ce qui donne un chiffre par groupe. Au total, on obtient 7 chiffres.

Le test de l'oxydase, qui est le 21e test, est noté séparément. S'il est positif, on lui attribue la valeur 4.

- ✓ **Identification finale :**

Le profil obtenu est ensuite comparé à une base de données à l'aide du logiciel apiweb™ de bioMérieux pour déterminer l'espèce bactérienne **(bioMérieux, s.d.).**

3.3 Evaluation de la sensibilité aux antibiotiques des souches bacteriennes isolées :

3.3.1 Antibiogramme :

Dans notre étude, nous avons évalué la sensibilité de souches du groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) vis-à-vis de 27 antibiotiques de différentes familles en utilisant la technique standard d'antibiogramme par diffusion sur gélose Mueller-Hinton, conformément aux recommandations de l'EUCAST.

a. Technique :

- **Préparation de milieu :**
  - Préparer le milieu (gélose Mueller-Hinton) selon les recommandations des fabricants.
  - Couler les boîtes (Les boites les plus utilisées ont un diamètre de 90 mm) sur une surface plane de façon à obtenir une épaisseur homogène de la gélose de 4,0 ± 0,5 mm.
- Séchage et conservation des boites coulées.

Préparation de l'inoculum :

Prélever une à plusieurs colonies (si possible) de même morphologie à l'aide d'un écouvillon en coton ; mettre les colonies prélevées en suspension dans un solution contenant 0.85% de chlorure de sodium (5ml) de façon à obtenir un trouble identique à celui de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland**.**

Inoculation des boites de pétri :

- L'inoculum doit être employé de façon optimale dans un délai de 15 minutes sans jamais dépasser une heure.
- Plonger l'écouvillon en coton dans la suspension bactérienne et jeter l'excès en tournant l'écouvillon à l'intérieur du tube.
- Vérifier que les boîtes de Petri sont à température ambiante.
- Etaler sur toute la surface en ensemençant dans trois directions soit à l'aide d'un système rotatif.
- Inoculer 3 boites pour chaque souche.

- **Dépôt des disques d'antibiotiques :**
  - Le dépôt des disques doit être réalisé dans les 15 minutes qui suivent l'inoculation
  - Les disques doivent être en contact ferme avec la surface de la gélose.

- La disposition des disques devra être telle que les zones d'inhibition des souches sensibles ne se superposent pas et pour éviter toute interférence entre les antibiotiques ; il est important que la mesure des diamètres d'inhibition soit fiable**.**

3.3.2 Recherche de souches productrices de BLSE :

La recherche de la sécrétion de ß-lactamases à spectre étendu (BLSE) a été réalisée par le test de synergie, qui repose sur l'inhibition des BLSE par l'acide clavulanique, un inhibiteur de β-lactamases. Ce test consiste à placer un disque central d'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) sur une gélose, à une distance de 30 mm (bord à bord) des disques de céfotaxime (CTX) et de ceftazidime (CAZ), deux céphalosporines de 3e génération

. L'apparition d'une synergie, visible sous forme d'une augmentation ou d'un pont de la zone d'inhibition entre les disques, traduisant une forme typique en bouchon de champagne, indique la production de BLSE par la souche testée. En l'absence de cette déformation caractéristique, la souche est considérée comme non productrice de BLSE.

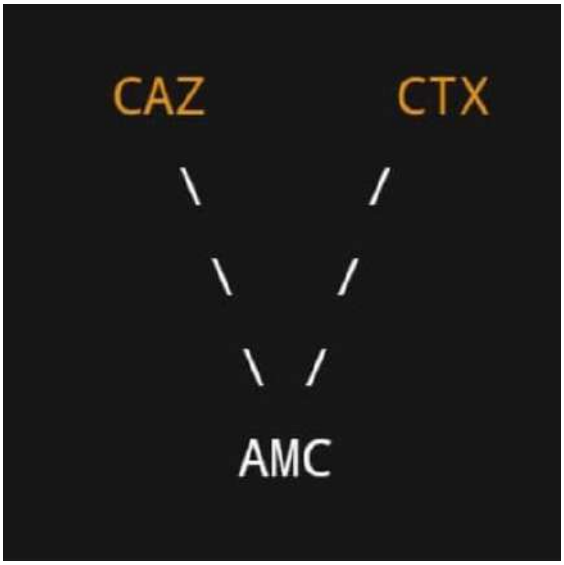


Figure 9: Disposition des disques pour test BLSE

3.3.3 Analyse de la production de carbapénémase :

Pour la détection des carbapénèmases chez les souches du groupe KES, l'imipénem a été utilisé pour l'ensemble des 50 isolats, tandis que l'ertapénem n'a été testé que sur 45 d'entre eux.

- **Incubation des boîtes de Petri :**
  1. Retourner les boîtes, puis incuber les, au maximum dans les 15 minutes qui suivent le dépôt des disques. La limite du temps de pré-diffusion des antibiotiques évite l'obtention de zones d'inhibition trop larges
  2. Les boîtes de MH sont incubées à 35±1 ºC en aérobiose pendant16-20h pour les entérobactéries.
- **Lecture après incubation :**

Lecture des zones d'inhibition :

1. Les limites des zones doivent être lues à l'œil nu en tenant compte de la complète inhibition de la culture, la boîte étant placée à environ 30 cm de l'œil.
2. Lire les zones au dos des géloses MH sur fond noir éclairé avec une lumière réfléchie.
3. Mesurer les diamètres des zones d'inhibition avec une règle, un pied à coulisse ou un système de lecture automatisé **(EUCAST, 2014).**

- **Interprétation des zones d'inhibition :**

La catégorisation clinique (S, I ou R) se fait à partir des diamètres des zones d'inhibition (arrondie au millimètre le plus proche) et en fonction des données publiées sous forme de Tableaux (CLSI M100, 2025). Une fiche-modèle avec les concentrations critiques CLSI peut être employée **(CLSI, 2025).**



Figure 10: Préparation de l'inoculum

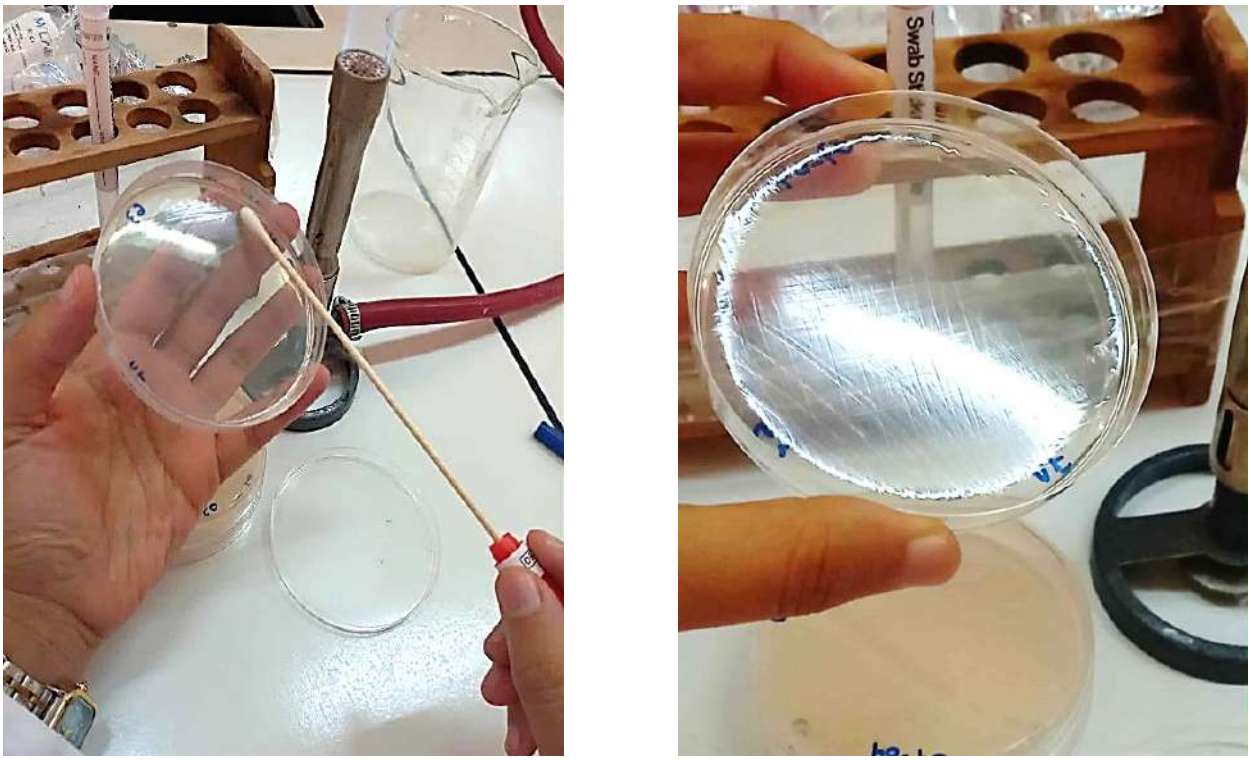


Figure 12: Quelques étapes d'antibiogramme



Figure 11: Applicateur des disques d'antibiotiques

Tableau 8:liste des antibiotiques utilisés

Antibiotique	Sigle	Charge de disque	Diamètres critiques
			R (d)I S (D)
AMPICILLIN	AM	10 µg	<13 ≥17
CEFTAZIDIME	CAZ	30µg	< 14 ≥18
CEPHAZOLIN	KZ	30µg	< 14 ≥15
PIPERACILLIN	PRL	30µg	-
CEFOTAXIME	CTX	30µg	<22 ≥26
AMOXYCILLIN/CLAVULANIC ACID 2:1	AMC	30µg	< 13≥18
PENICILLIN	P	10µg	<20 ≥25
CEFOXITIN	FOX	30µg	< 14 ≥18
AMOXYCILLIN	AML	10µg	<13 ≥17
CLINDAMYCIN	DA	2µg	-
NORFLOXACIN	NOR	5µg	< 12 ≥17
TOBRAMYCIN	TOB	10µg	< 12 ≥17
CEFIXIME	CFM	5µg	< 15 ≥19
GENTAMICIN	CN	120µg	< 14 ≥18
ERTAPENEM	ETP	10µg	< 18 ≥22
IMIPENEM	IMP	10µg	< 19 ≥23
ERYTHROMYCIN	E	15µg	-
AMIKACIN	AK	30µg	< 16 ≥20
CIPROFLOXACIN	CIP	5µg	<21 ≥26
CEFUROXIME SODIUM	CXM	30µg	< 14 ≥18
SULPHAMETHOXAZOLE/TRIMETHOPRIM	SXT	25µg	< 10 ≥16
TETRACYCLINE	TE	30µg	< 11 ≥15
LEVOFLOXACIN	LEV	5µg	< 16 ≥21
FOSFOMYCIN	FF	50µg	< 12 ≥16
CHLORAMPHENICOL	C	30µg	< 12 ≥18
COLISTIN SUPHATE	CT	10µg	S < 11
NALIDIXIC ACID	NA	30µg	< 13 ≥19

II- Activité antibacterienne d'huile essentielle :

1- Extraction des huiles essentielles:

Principe:

L'extraction de l'huile essentielle de la plante *Ammi visnaga* se fait par hydrodistillation. Cette méthode consiste à chauffer un mélange d'eau et de matière végétale jusqu'à ébullition. La chaleur provoque la rupture des cellules de la plante, libérant ainsi des composés aromatiques. Ces derniers sont entraînés par la vapeur d'eau vers un condensateur, où ils se liquéfient. Le distillat obtenu, composé d'eau florale et d'huile essentielle, est ensuite récupéré dans un récipient adapté.

Technique :

Pour extraire l'huile essentielle d'*Ammi visnaga,* voici les étapes suivies :

- 50 g de la plante ont été pesés et placés dans un ballon de 1000ml avec 500 ml d'eau distillée.
- Le ballon a été positionné sur un chauffe-ballon, et le système d'hydrodistillation a été connecté à l'ouverture du ballon.
- Un réfrigérant a été alimenté en eau pour assurer la condensation des vapeurs.
- Le chauffe-ballon a été mis en marche, et le processus a été maintenu pendant deux heures.
- À la fin, l'hydrolat à été évacuée, et l'huile essentielle a été récupérée et conservée dans un tube fermé à 4 °C, enveloppé d'aluminium.



Figure 14: appareil Clevenger d'extraction





Figure 13: l'extraction d'*Ammi visnaga*

2- Rendement d'extraction de l'huile d'*Ammi visnaga* :

Le rendement d'extraction permet d'évaluer l'efficacité du procédé utilisé pour obtenir l'huile essentielle à partir de la plante sèche. Dans le cadre de ce travail, le rendement a été calculé en utilisant la formule suivante :

$$\mathbf{Y = (\Sigma WB / \Sigma WA) \times 100}$$

- Y : rendement (%)
- WB : masse de l'huile essentielle extraite (g)
- WA : masse de la plante sèche (g)



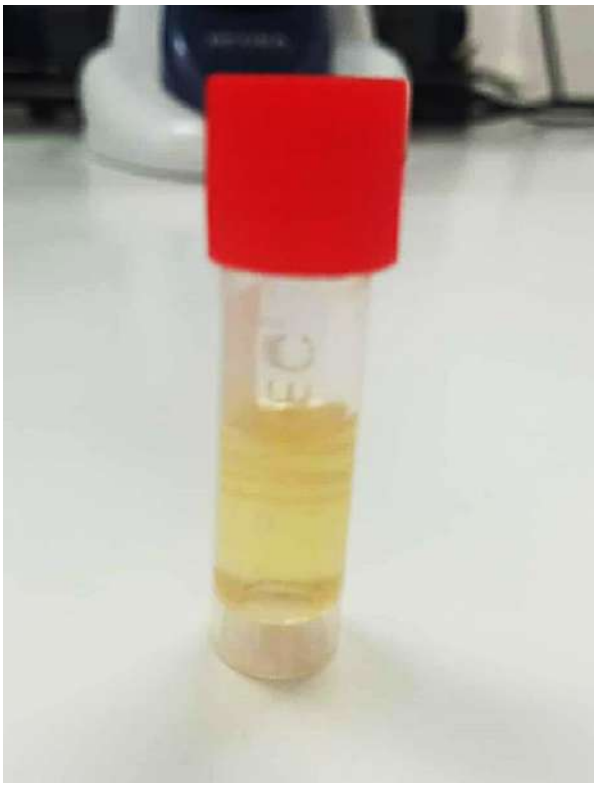


Figure 15: Rendement de l'huile essentielle d'*ammi visnaga*

3- Aromatogramme:

a. Définition :

Méthode de mesure calquée sur celle de l'antibiogramme effectué avec des huiles essentielles (et non des antibiotiques) ; permet de tester et de mesurer précisément le pouvoir antibactérien d'une HE et la sensibilité particulière d'une bactérie vis-à-vis de cette huile essentielle. Cette méthode initiée par les Dr VALNET & GIRAULT dans les années 1970reste aujourd'hui peu utilisée **(Malaquin-Pavan, 2018)**.

b. Technique :

Le principe consiste à ensemencer la surface d'un milieu de culture gélosé (coulé en boite de Pétri) avec une suspension bactérienne de manière à faire croître les bactéries sur toute la surface de la gélose solidifiée. Puis, on dépose sur la gélose des petits disques de papier buvard (d'environ 6 mm de diamètre) imprégnés par les huiles essentielles que l'on souhaite tester (8µL suffisent). L'ensemble est incubé durant 24 heures à 37°C.

Dans notre étude, un disque imprégné de DMSO seul a été utilisé comme témoin.

- L'huile essentielle testée a été préalablement mélangée avec du DMSO afin d'en faciliter la diffusion.

c. Lecture :

Les huiles essentielles diffusent radialement à partir de leur disque vers la périphérie en formant sur leur passage un gradient décroissant de leur concentration. Si l'huile essentielle testée est efficace et que sa concentration est suffisante pour inhiber la croissance bactérienne, il apparaît autour du disque une zone claire, sans croissance bactérienne, que l'on nomme halo d'inhibition. Les diamètres des halos d'inhibition sont mesurés. La zone claire observée autour des disques est proportionnelle à l'activité antibactérienne de l'huile essentielle **(Aromatogramme - Docteur Valnet, 2024)**.

La classification des souches comme sensibles, intermédiaires ou résistantes se base sur le diamètre d'inhibition observé **(Malaquin-Pavan, 2018)**.

Un diamètre >15 mm indique une sensibilité, ≤15 mm une résistance.

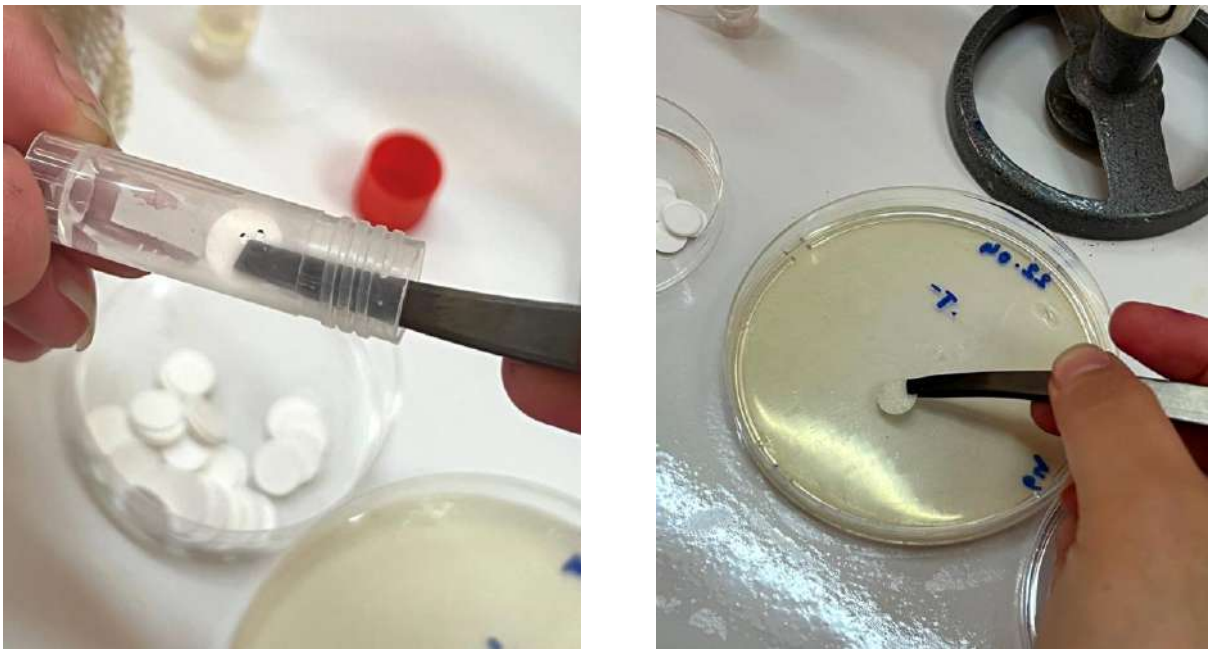


Figure 16: test d'activité d'huile *Ammi visnaga* sur les souches bacteriennes de groupe K.E.S

4- Évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle par la méthode de microdilution en milieu liquide

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée selon la méthode de microdilution en microplaque, permettant de déterminer l'effet inhibiteur de l'huile essentielle testée sur une souche bactérienne.

a. Principe :

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus faible concentration d'une huile essentielle, parmi une série de dilutions successives, qui inhibe toute croissance bactérienne visible. Elle mesure l'effet bactériostatique de l'huile essentielle, c'est-à-dire sa capacité à arrêter la prolifération des bactéries, sans les éliminer. Il est important de noter que la CMI peut varier en fonction du milieu de culture utilisé et ne prédit pas toujours l'effet observé in vivo.

b. Technique :

- Une solution mère de l'huile essentielle a été préparée à 10 % dans du DMSO (1–2 %).
- Une seconde dilution à 5 % a également été utilisée dans certains contrôles.
- La suspension bactérienne a été préparée à partir d'une culture fraîche (18–24 h) en eau distillée stérile.

- Dans chaque puits de la microplaque, 100 µL de bouillon Mueller-Hinton ont été distribués.
- Une série de dilutions décroissantes de l'huile essentielle a été effectuée à partir de la solution à 10 %. Chaque puits a ensuite reçu 10 µL de la suspension bactérienne et 10 µL d'une solution colorante.
- Des puits témoins ont été inclus pour valider l'essai :

    - Contrôles positifs contenant uniquement la bactérie et le colorant, avec ou sans DMSO.
    - Contrôles négatifs incluant soit l'huile essentielle seule, soit le dernier puits de dilution sans bactérie.
- L'incubation a été réalisée à 37 °C, et les résultats ont été interprétés par observation visuelle selon la coloration obtenue.

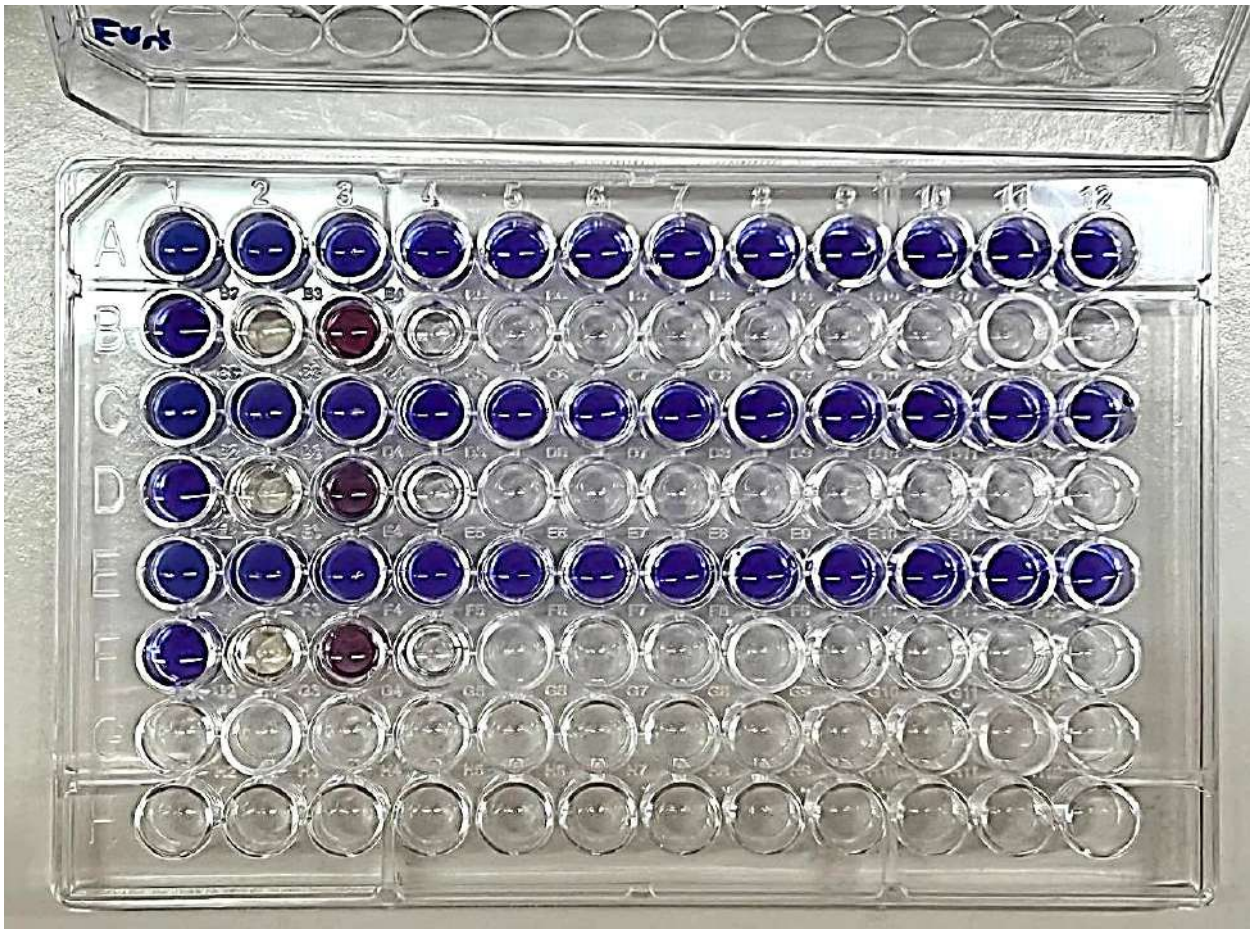


Figure 17: Microplaque de CMI avant incubation

Calcul des CMI - Huile essentielle d'*Ammi visnaga* :

Densité de l'Huile Essentielle d'*Ammi visnaga* :

D'après les données disponibles dans la littérature et les fournisseurs, la densité de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* varie entre 0.850 et 0.890 g/mL.

Par exemple :

- **Florihana (2022)** indique une densité de 0.8712 g/mL à 20 °C.
- **Myrtea Formations (2023)** rapporte des densités comprises entre 0.850 et 0.890 g/mL.

En l'absence de données précises sur le lot utilisé, une densité moyenne de 0.87 g/mL peut être prise comme valeur approximative pour les calculs de concentration.

Cette table présente les concentrations finales de l'huile essentielle d'Ammi visnaga après dilution en série 1/2, avec conversion en mg/mL à partir d'une densité de 0.87 g/mL.

Tableau 9: Tableau des concentrations de l'huile essentielle d'*Ammivisnaga* exprimées en %, µL/mL et mg/mL.

Dilution	Concentration (%)	Concentration (v/v, µL/mL)	Concentration (mg/mL) estimée (d = 0.87)
Stock	10%	100	87.0
1/2	5%	50	43.5
1/4	2.5%	25	21.75
1/8	1.25%	12.5	10.875
1/16	0.625%	6.25	5.4375
1/32	0.3125%	3.125	2.71875
1/64	0.15625%	1.5625	1.359375
1/128	0.078125%	0.78125	0.6796875
1/256	0.03906%	0.390625	0.33984375
1/512	0.01953125%	0.1953125	0.169921875
1/1024	0.009765625%	0.09765625	0.0849609375

III- La conservation des souches bacteriennes :

1- Conservation courte durée :

a. Définition et principe :

On utilise pour la conservation courte durée le milieu gélosé de conservation et de transport, prêt à l'emploi, conditionné dans des tubes fins stérilisés. Sa conception étanche empêche toute pénétration d'oxygène, assurant ainsi des conditions optimales pour la préservation des germes aérobies et anaérobies.

Cette gélose de conservation et de transport des souches est recommandée pour la conservation des micro-organismes peu exigeants comme les *Enterobacteriaceae, Pseudomanaceae, Staphylococci et Vibrionaceae*.

b. Technique :

- Prélever une culture bien isolée avec une pipette pasteur et effectuer une ou plusieurs piqûres centrales. Pour les bactéries aérobies strictes, un ensemencement en surface convient mieux.
- Incuber au maximum 24 heures entre 20 et 37°C selon l'espèce à conserver.
- Les souches se conservent environ 5 ans dans les tubes bien scellés, conservés entre 15 et 25° à l'abri dela lumière.
- Eviter les variations de températures pendant le stockage.

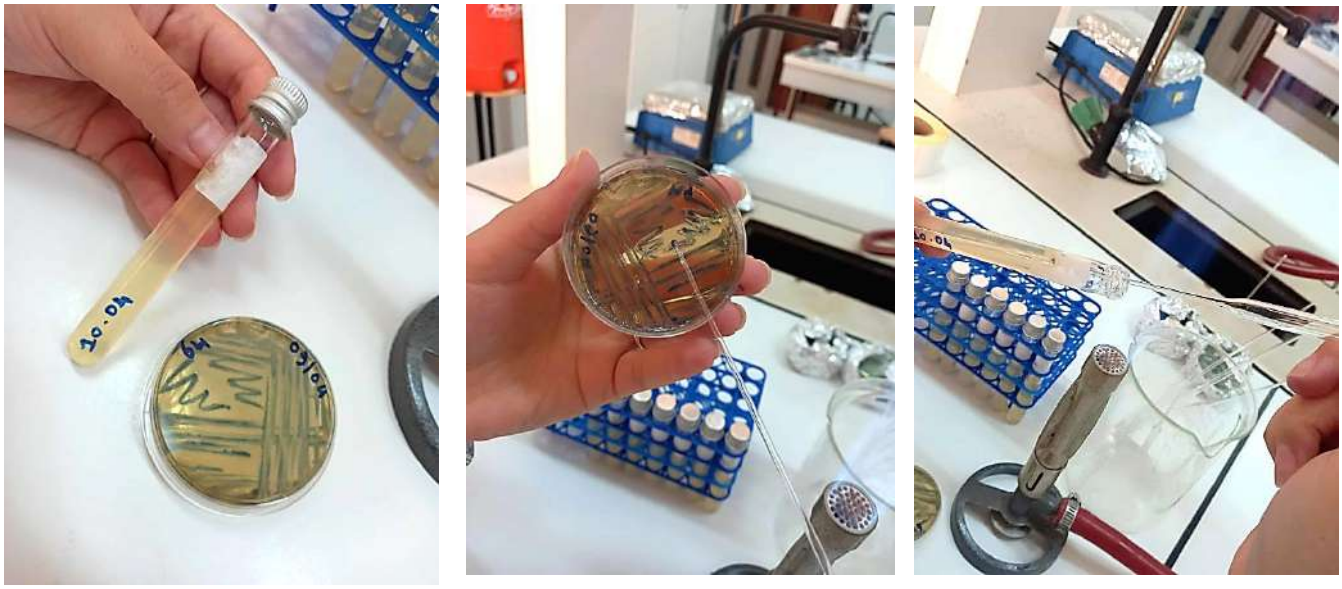


Figure 18: les étapes de la conservation courte durée

2- Conservation longue durée :

a. Principe :

La préservation des bactéries est essentielle dans les laboratoires de bactériologie afin de protéger les isolats bactériens de la contamination, permettant ainsi leur étude, leur diagnostic et leur utilisation ultérieure. De nombreuses méthodes ont été utilisées au fil des années, parmi lesquelles les plus courantes et les plus efficaces sont la cryopréservation et la lyophilisation.

Des cryoprotecteurs tels que la glycérine et le diméthylsulfoxyde (DMSO) sont actuellement utilisés comme additifs pour la préservation des micro-organismes. Ces substances sont adsorbées à la surface des micro-organismes, enveloppant les cellules pour les protéger contre la formation de cristaux de glace lors de la préservation à long terme. La glycérine, en particulier, agit sur la perméabilité de la membrane et facilite la vitrification en échangeant l'eau dans les cellules et en formant des liaisons hydrogène avec les molécules d'eau, ce qui procure un effet protecteur **(Mahmmoud, 2020)**.

b. Technique :

- Choisir une colonie jeune (18-24h) bien isolée à partir d'un milieu solide.
- L'ensemencer dans un tube contenant du bouillon nutritif (BN) ou MacConkey.
- Incuber à 37°C pendant 24h.
- Étiqueter l'Eppendorfsterileavec : "numéro de souche – type bactérie".
- Verser 650 µL de glycérol et ajouter 650µL de la suspension bactérienne (culture incubée) à l'aide d'une micropipette.
- Mélanger délicatement sans bulles (agiter doucement ou pipeter plusieurs fois).
- Bien fermer l'Eppendorf et l'envelopper dans du papier aluminium (protection contre la lumière et l'oxydation).
- Placer les Eppendorf au congélateur à -80°C.

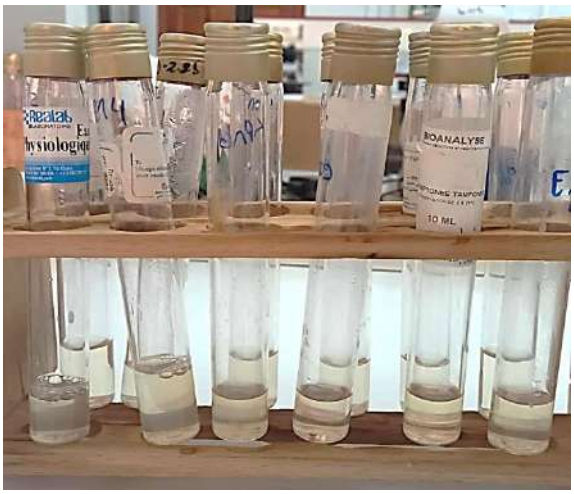










Figure 19: materiels utilisé pour la conservaton longue durée

Partie 3 :

Résultats et discussion

1 Répartition de la population bacteriénne:

Dans le cadre de notre étude menée sur une période de trois mois, allant du début février à la fin avril, nous avons collecté 50 souches bactériennes appartenant au groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*). Ces souches ont été isolées à partir de divers prélèvements physiopathologiques (urines, pus, prélèvement vaginal, selles et sperme) provenant de patients infectés.

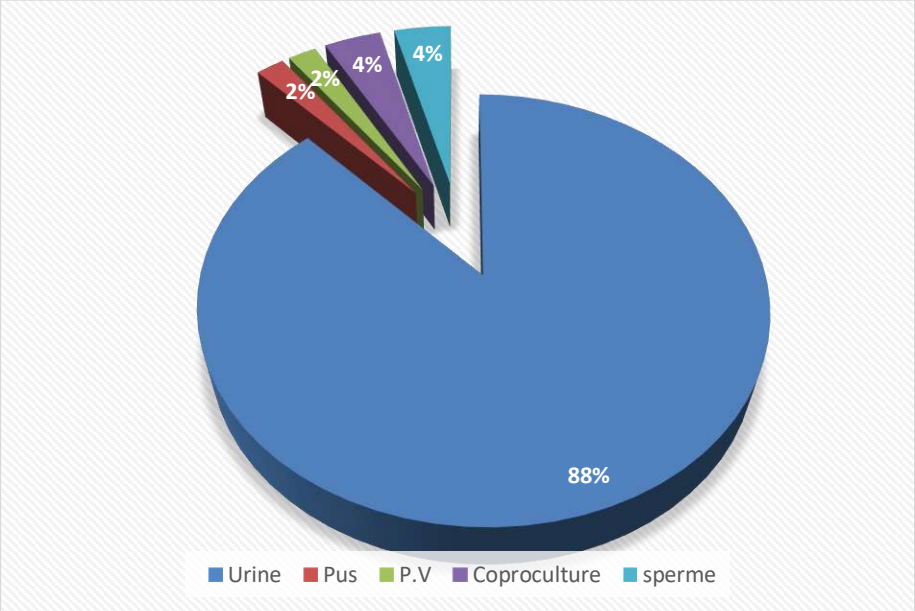


Figure 20: Répartition des souches selon le prélèvement

Le graphique circulaire illustre la répartition des souches bactériennes selon le type de prélèvement effectué chez les patients infectés **(figure 20).** Il en ressort que les urines constituent la source principale d'isolement bactérien avec un taux très élevé de 88 %, ce qui traduit une forte prévalence des infections urinaires dans la population étudiée. Suivies par les coprocultures et le sperme (4 % chacun), tandis que les prélèvements vaginaux (2 %) et le pus (2 %) représentent une proportion plus faible, ce qui reflète une moindre fréquence des infections vaginales et purulentes dans cette étude.

Ces résultats sont en accord avec les résultats rapportés par **Belmoumene et Kedjouti (2022)**, c'est une étude menée à l'hôpital de Bordj Bou Arreridj, où les entérobactéries dominaient largement les agents infectieux urinaires. Parmi elles, *Klebsiella spp*. Représentait 14 % des souches isolées, *Enterobacter spp*. 11 %, et *Serratia spp.* 5 %.Ces taux confirment la place importante occupée par le groupe K.E.S dans les infections urinaires, en accord avec les données obtenues dans notre étude.

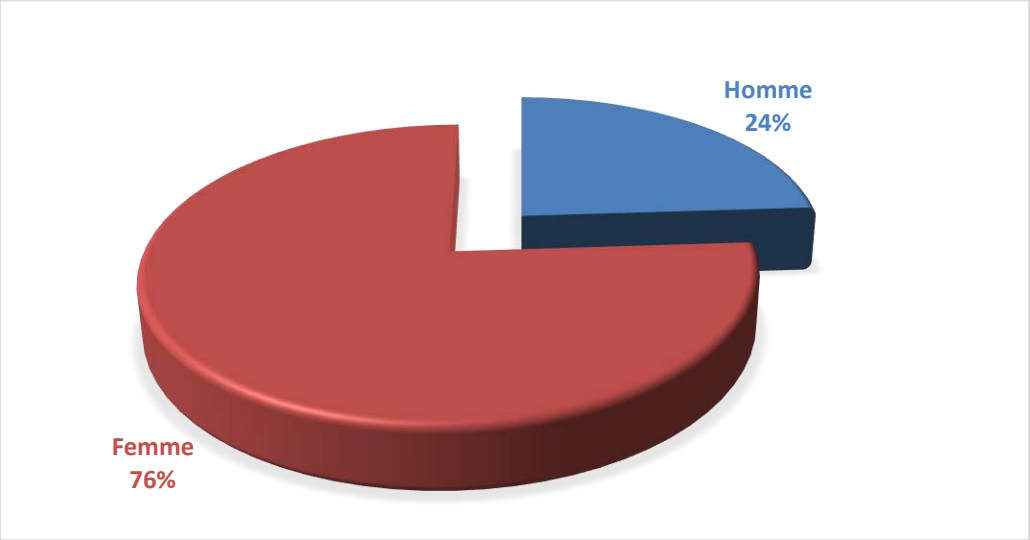


Figure 21: Répartition des souches selon le sexe

Le graphique circulaire **(figure 21)** montre que les infections à bactéries du groupe K.E.S. touchent majoritairement les femmes, avec une proportion de 76 %, contre 24 % chez les hommes.Cette distribution suggère une prévalence significativement plus élevée chez la population féminine en raison de :

- La nature anatomique de l'appareil urinaire la proximité entre l'anus et l'orifice externe de l'urètre facilite l'accès des bactéries à la vessie.
- Les rapports sexuels favorisent la progression des bactéries urétrales dans la vessie.
- La modification de l'acidité vaginale après la diminution normale des hormones (æstrogène) et des sécrétions vaginales après la ménopause.
- L'effet des secrétions prostatiques chez l'Homme, permet d'offrir une protection supplémentaire.
- Chez l'Homme l'urètre mesure elle est longe environ 20 à 25 cm ce qui diminue le risque d'IU **(Ait Miloud 2011;Bruyere*et al.*, 2013).**

En comparant nos résultats avec une étude à l'hôpital BOUZIDI Lakhder à Bordj Bou Arreridj sur 1166 échantillons analysés entre 2020 et 2021, 187 étaient positifs. Les femmes représentaient 72 % des cas. Les entérobactéries étaient responsables de 95 % des infections, avec *Klebsiella spp*. (14 %) et *Enterobacter spp*. (11 %) parmi les agents pathogènes identifiés **(BELMOUMENE Abdelhalim, 2022)**

Une autre étude à l'hôpital de Koléa, Wilaya de Tipaza en 2020 a été menée sur 100 échantillons d'urine, révélant que 34 % étaient positifs pour une infection urinaire. Les

femmes représentaient 66 % des cas positifs. Parmi les entérobactéries identifiées, *Klebsiella pneumoniae* représentait 20 % et *Klebsiella oxytoca* 12 %**(Larbi, F., 2020).**

Étude à l'hôpital Ibn Zohr de Guelma aussi en 2020, sur 5385 dossiers étudiés, 888 patients avaient des ECBU positifs, avec 75,45 % de cas chez les femmes. Les entérobactéries étaient responsables de 98,3 % des infections, avec *Klebsiella spp*.représentant 15,3 % des isolats **(BENSEGHIR Rania, 2020).**

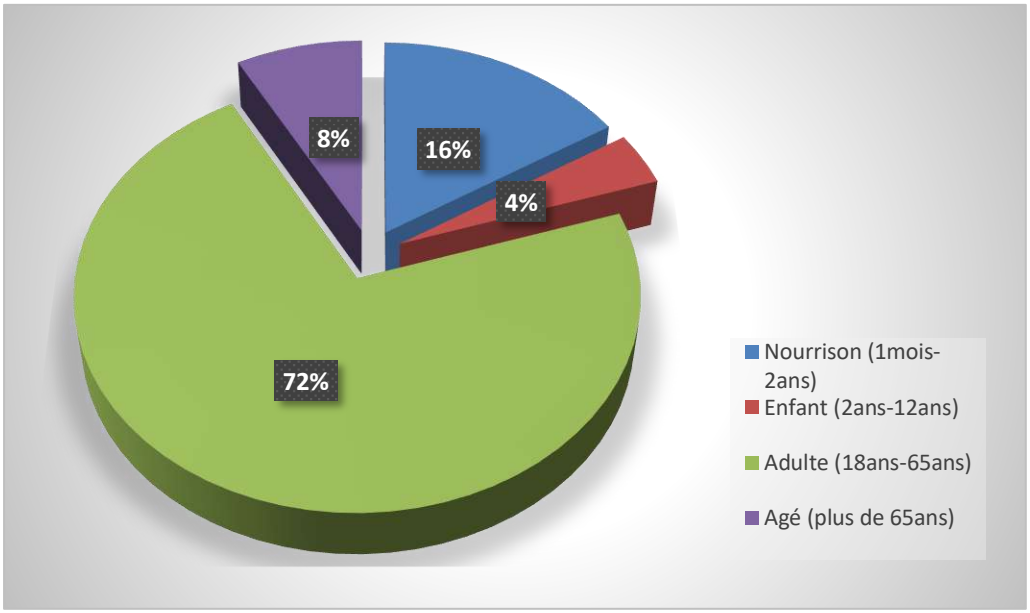


Figure 22: Répartition des souches selon l'âge

Ce graphique circulaire **(Figure 22)** montre la répartition des souches bactériennes selon l'âge des patients infectés, pour les espèces *Klebsiella, Serratia et Enterobacter*. Les adultes (18-65 ans) représentent 72 % des cas, suggérant que cette tranche d'âge est la plus touchée par ces infections. Les nourrissons (1 mois à 2 ans) suivent avec 16%, en raison de leur système immunitaire immature. Les personnes âgées (plus de 65 ans) représentent 8 %, confirmant leur vulnérabilité accrue. Enfin, les enfants (2 à 12 ans) ne représentent que 4%, indiquant une moindre implication dans ces infections.

Ces observations sont soutenues par les résultats de l'étude de **(Benbouza et *al.*, 2024)**, qui ont mené une enquête épidémiologique sur des isolats cliniques dans plusieurs hôpitaux de Batna. Leur étude a mis en évidence une fréquence élevée d'infections à *Klebsiella, Enterobacter et Serratia* chez les patients adultes, ce qui reflète la même tendance observée

dans notre série. Cette concordance renforce l'hypothèse selon laquelle les adultesconstituent une population particulièrement exposée à ces pathogènes, notamment en milieu hospitalier.

1. Résultats d'identification de la population bacterienne :

2.1 Aspect macroscopique de groupe K.E.S :

2.1.1 Klebsiella :

Tableau 10: Aspect macroscopique de*Klebsiella*:

Milieu	Aspect colonie	Couleur
Gélose nutritive (GN)	**Muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Blanc à crème**
Chromagar orientation clair	**Muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Bleu métallique**
Mac conkey	**Muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Rose**
Hektoen	**Muqueuse, bombée ronde, grosse**	**Saumon**



Figure 24: *Klebsiella* sur GN



Figure 25: *Klebsiella* sur Chromagar



Figure 23: *Klebsiella* sur Mac Conkey



Figure 26: *Klebsiella* sur Hektoen

2.1.2 *Enterobacter* :

Tableau 11: Aspect macroscopique d*'Enterobacter :*

Milieu	Aspect colonie	Couleur
Gélose nutritive (GN)	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Blanc à crème**
Chromagar orientation clair	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Bleu métallique**
Mac conkey	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde**	**Rose**
Hektoen	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde**	**Saumon**



Figure 28:*Enterobacter* sur GN

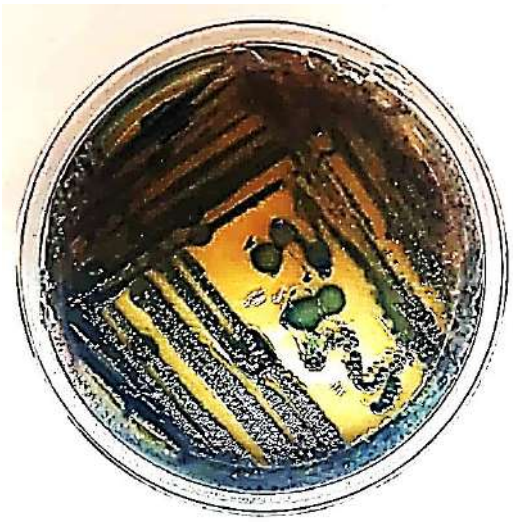


Figure 27:*Enterobacter* sur Chromagar



Figure 30: *Enterobacter* sur mac Conkey



Figure 29: *Enterobacter* sur Hektoen

2.1.3 Serratia :

Tableau 12: Aspect macroscopique de *Serratia*

Milieu	Aspect colonie	Couleur
Gélose nutritive (GN)	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Rouge brique (si pigmenté) ou blanc à crème**
Chromagar orientation clair	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde, grosse**	**Bleu métallique**
Mac conkey	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde**	**Incolore**
Hektoen	**Légèrement muqueuse, bombée, ronde**	**Incolore (ou vert)**



Figure 32: *Serratia* sur GN



Figure 31: *Serratia* sur Chromagar

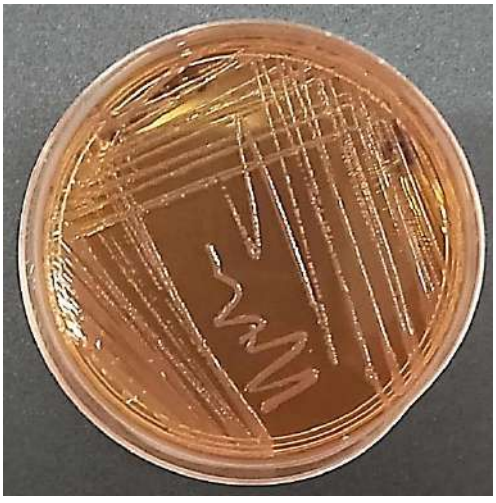


Figure 34:*Serratia* sur Mac Conkey



Figure 33: *Serratia* sur Hektoen

2.2 Aspect microscopique de groupe K.E.S :

L'observation microscopique des souches du groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) après la coloration de Gram a révélé des bacilles à Gram négatif. Ces bactéries apparaissent sous forme de bâtonnets de taille moyenne à grande, disposés isolément, par paires ou parfois en courtes chaînes. Elles ne retiennent pas le cristal violet et prennent la coloration rose du safranine, caractéristique des bactéries Gram négatif. Cette morphologie est typique des entérobactéries, ce qui confirme l'appartenance des isolats au groupe K.E.S.

2.2.1 Klebsiella :

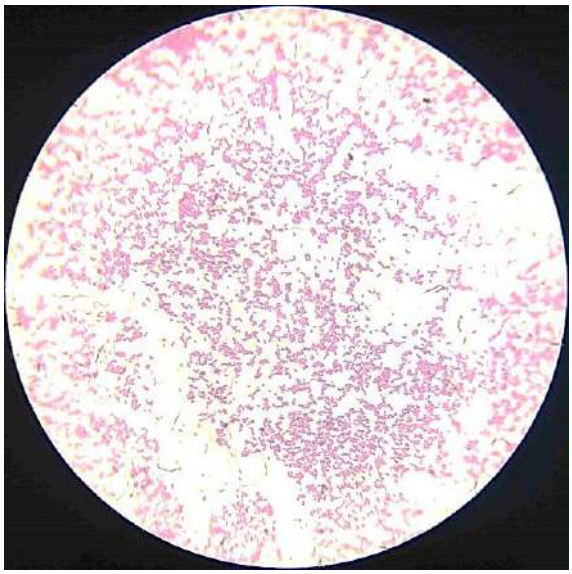


Figure36*: Klebsiella oxytoca*

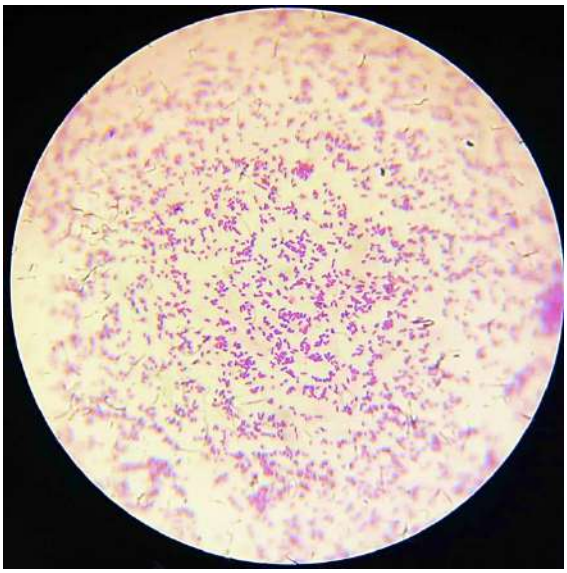


Figure35*: Klebsiella pneumoniae*

2.2.2 Enterobacter :

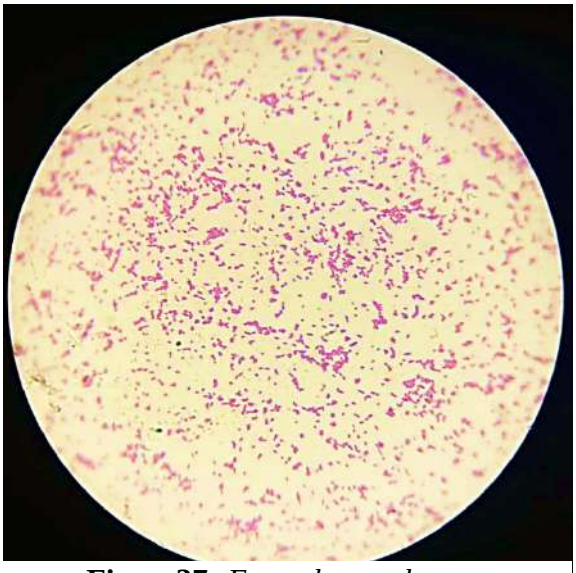


Figure37*: Enterobater cloacoe*



Figure38*: Enterobacter aerogenes*

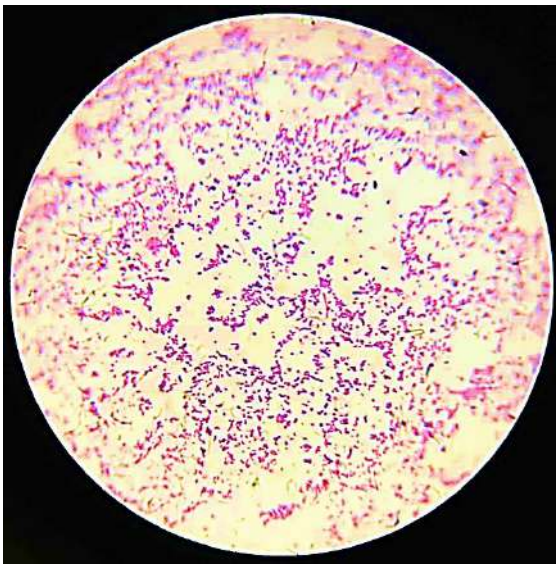


Figure39*: Enterobacter sakazakii*

2.2.3 Serratia :

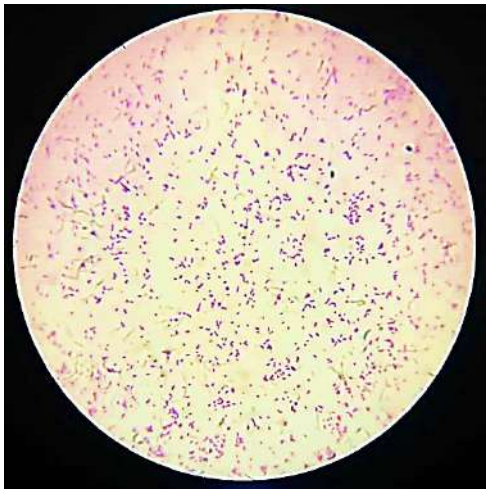


Figure 41*: Serratia marcescens*

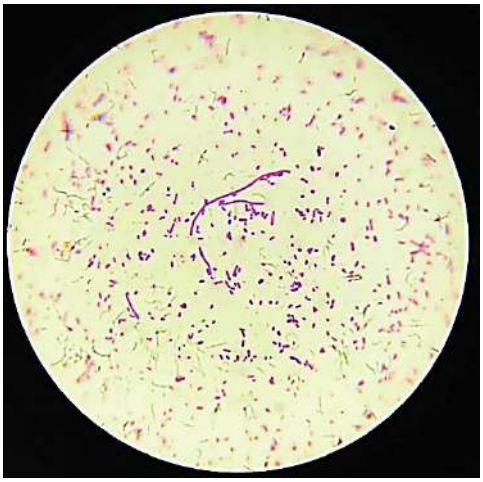


Figure 40*: Serratia liquefaciens*

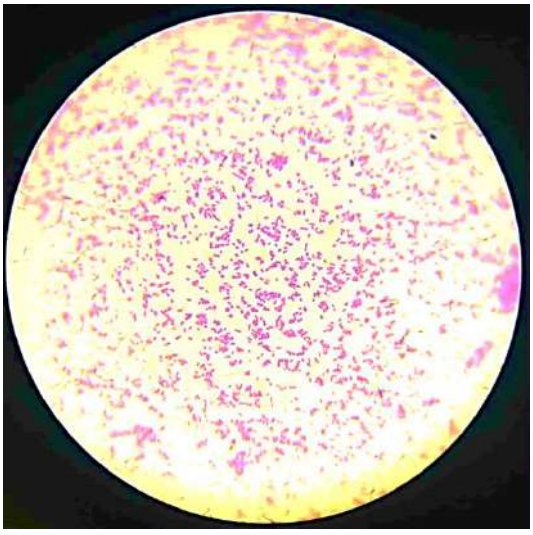


Figure 42*: **Serratia odorifera***

3 Identification biochimique des souches :

Dans le cadre de cette étude, un total de 80 souches appartenant au groupe K.E.S (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*) ont été collectées à partir d'échantillons cliniques issus de différents laboratoires d'analyses médicales. Après identification biochimique à l'aide de la galerie API 20E, 50 souches ont été confirmées comme appartenant effectivement au groupe K.E.S, représentant une proportion de 62.5% des isolats initiaux.
L'analyse des résultats a révélé une prédominance marquée des souches du genre *Klebsiella*, représentant 21 isolats, soit 42 % du total identifié. *Serratia* occupe la deuxième position avec 16 souches (32 %), tandis qu'Enterobacter est représenté par 13 souches, soit la proportion la plus faible avec 26 %. Ces résultats indiquent que *Klebsiella spp* constitue la majorité des souches isolées dans cette étude, tandis qu'Enterobacter *spp* est le genre le moins représenté parmi les souches du groupe K.E.S identifiées.
Le tableau suivant illustre le nombre d'espèces identifiées dans chaque genre.

Tableau 13: Nombre des éspeces identifiées dans chaque genre par la galerie miniaturiséeAPI20E

Genre :	**Nombre total :**	**Espèces :**	**Nombre d'espèces :**
Klebsiella spp	21	*Klebsiella pneumoniae*	19
		Klebsiella oxytoca	2
Enterobacter spp	13	*Enterobacter cloacae*	10
		Enterobacter sakazakii	2
		Enterobacter aerogenes	1
Serratia spp	16	*Serratia marcescens*	14
		Serratia odorifera	1
		Serratia liquefaciens	1

Les espèces de *Klebsiella*



Figure 43: l'identification des éspeces de *Klebsiella* par API20E

Les espèces d'*Enterobacter*

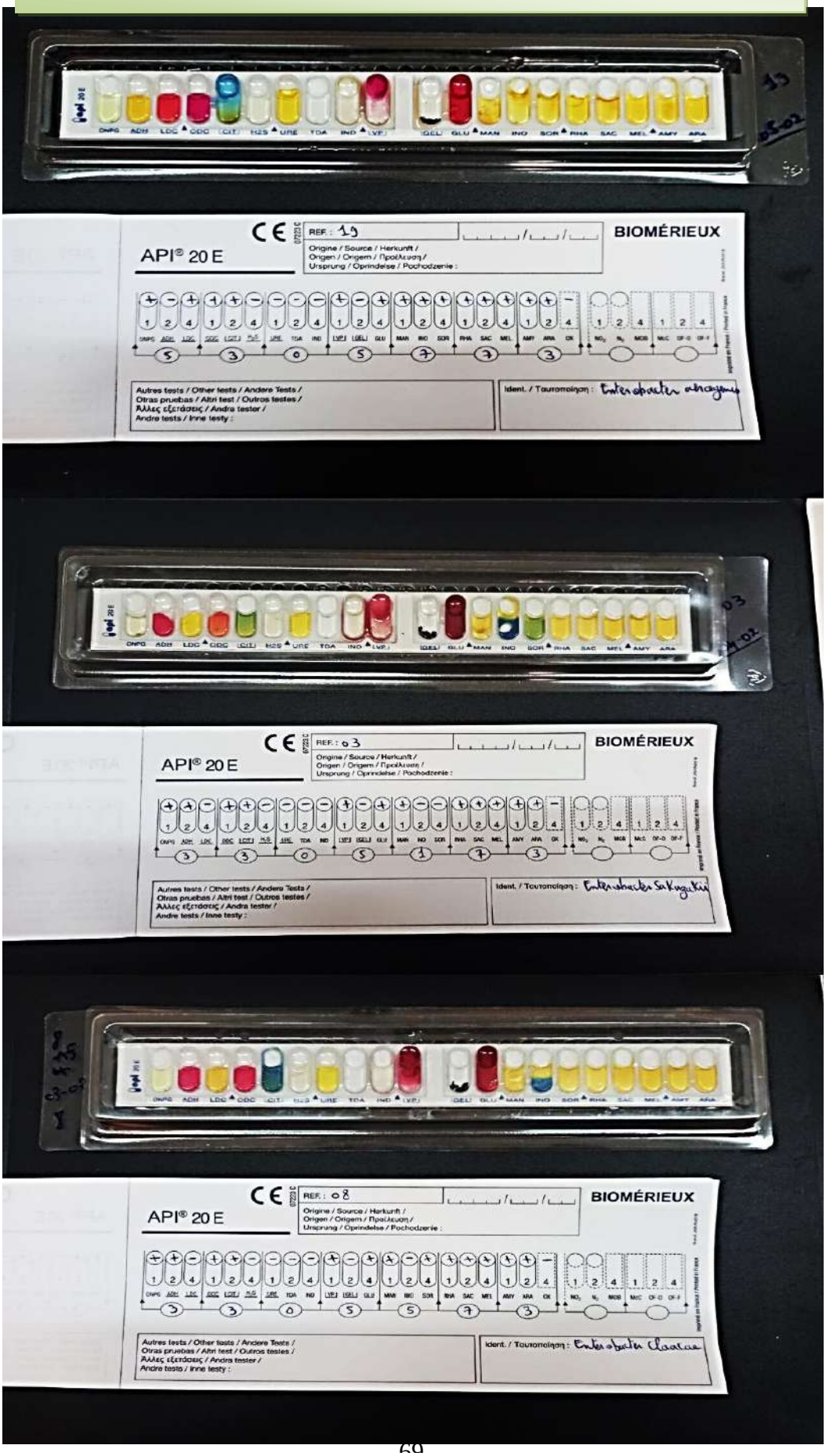


Figure 44: l'identification des espèces d'*Enterobacter* par API20E

Les espèces de*Serratia*

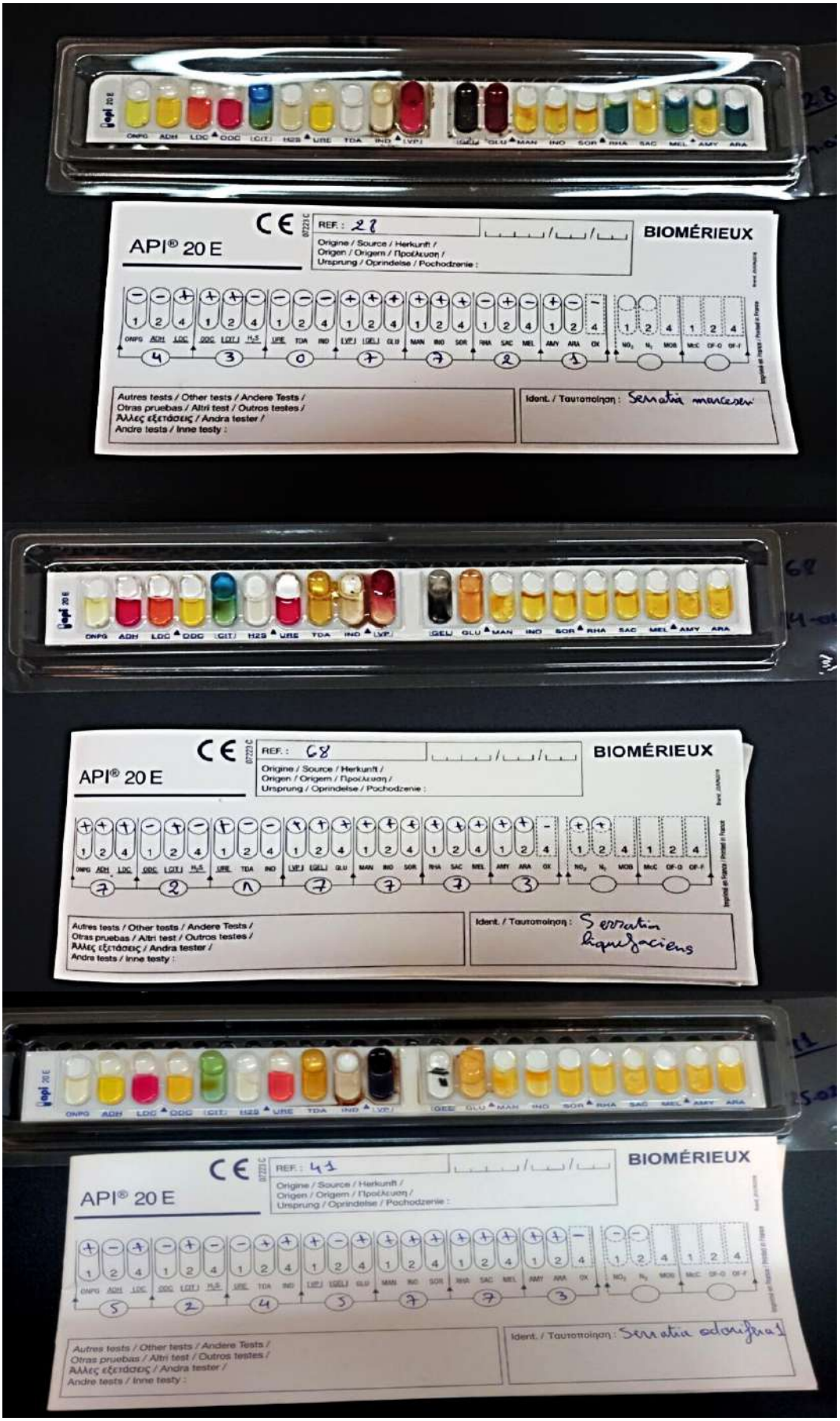


Figure 45: l'identification des éspeces de *Serratia* par API20E

4 Antibiogramme :

Les 50 souches isolées de groupe K.E.S ont été soumises à un antibiogramme contre plusieurs familles d'antibiotiques. Chaque famille comprenait neuf antibiotiques représentatifs. Après incubation à 37C° pendant 24h, nous avons observés et mesurés le diamètre des zones d'inhibition autour des disques d'ATB pour les 50 souches. Les résultats de l'antibiogramme ont révélé une variabilité de la sensibilité selon le type bactérien et la famille d'antibiotiques testée.

Tableau 14: Pourcentage de résistance et sensibilité des souches de groupe K.E.S aux antibiotiques

Antibiotiques	R		I		S	
	Effectif	o	Effectif	o	Effectif	o
AM	49	98	0	0	1	2
CAZ	39	78	2	4	9	18
KZ	49	98	0	0	1	2
CTX	38	76	0	0	12	24
AMC	42	84	1	2	7	14
FOX	38	76	3	6	9	18
CFM	32	64	6	12	12	24
IMP	43	86	1	2	6	12
AK	24	48	9	18	17	37
LEV	17	34	4	8	29	58
CIP	23	46	4	8	23	46
CXM	48	96	0	0	2	4
SXT	20	40	0	0	30	60
C	15	30	0	0	35	70

Tableau 15:Répartition des phénotypes (S, I, R) pour les antibiotiques testés sur un nombre variable de souches du groupe K.E.S"

Antibiotiques	Nombre des souches testés	R	I	S
CT	45	44	0	1
NA	45	14	6	25
FF	28	27	1	0
TE	44	17	4	23
E	41	40	0	1
ETP	45	25	12	8
CN	40	13	13	14
TOB	19	8	10	1
NOR	43	11	3	29
DA	37	37	0	0
AML	38	38	0	0
P	31	30	0	1
PRL	15	14	0	1

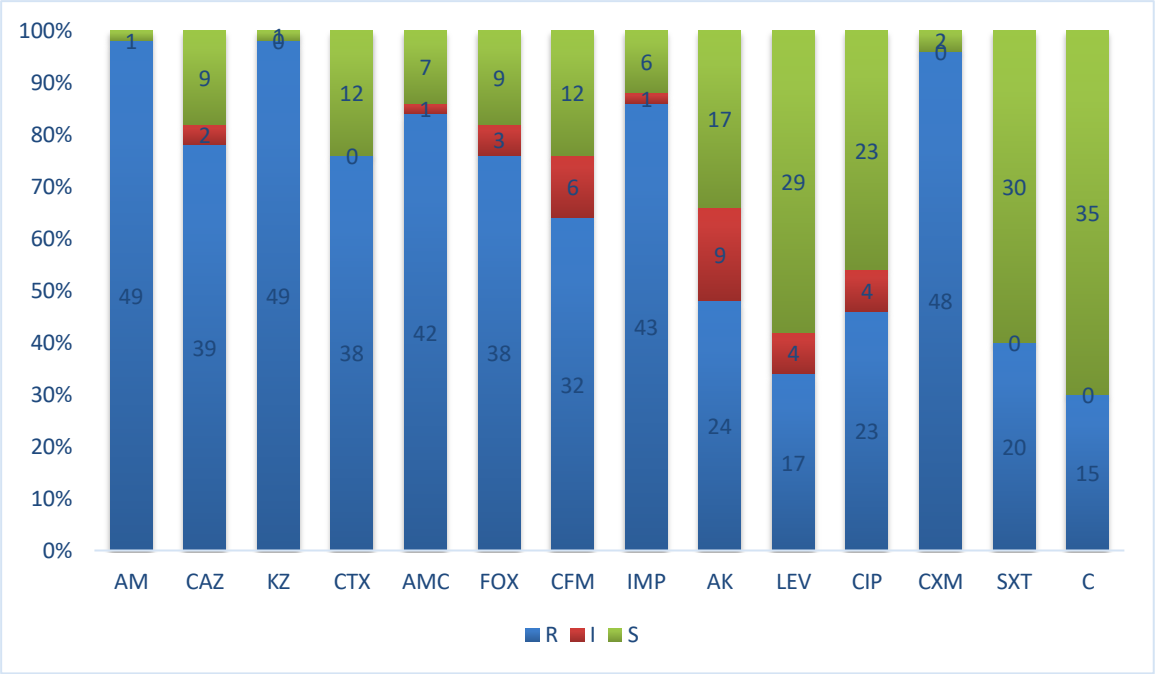
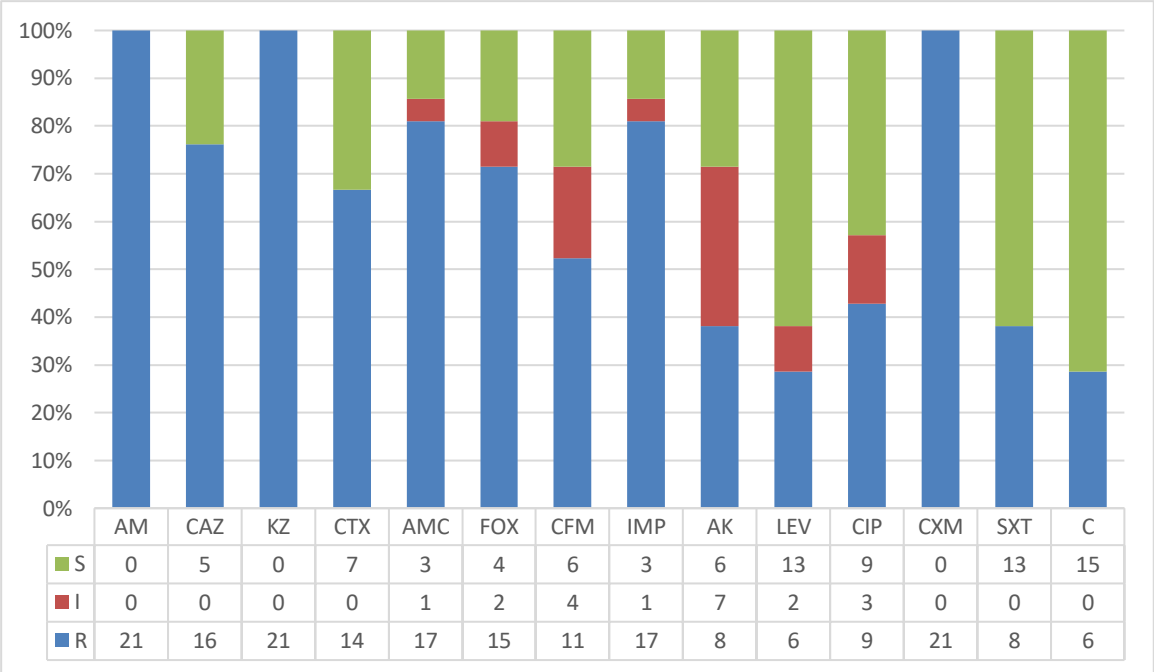


Figure 46: Résistance et sensibilité des souches de groupe K.E.S aux antibiotiques

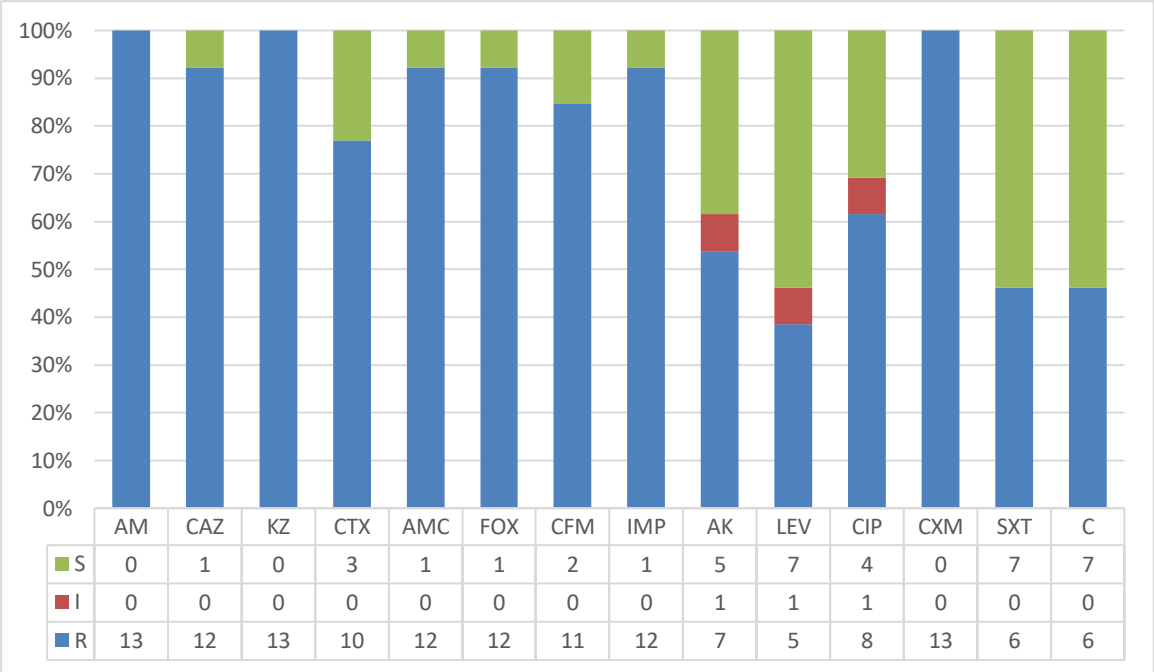
D'après les résultats obtenus **(figure 46),** les souches du groupe K.E.S présentent une grande diversité de profils de résistance. Les β-lactamines, qui regroupent l'ampicilline (AM), la céfazoline (KZ) et la céfotaxime (CTX), affichent les taux de résistance les plus élevés avec respectivement 98 %, 98 % et 96 %, ce qui montre une perte importante d'efficacité de cette famille. En revanche, les taux de résistance les plus faibles ont été observés pour le chloramphénicol (C), un phénicole (30 %), et la lévofloxacine (LEV), une fluoroquinolone (34 %). Le chloramphénicol présente le taux de sensibilité le plus élevé (70 %), suivi du triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), un antibiotique combinant un sulfamide et un inhibiteur de la dihydrofolate réductase, avec 60 % de souches sensibles.À l'opposé, l'ampicilline reste très peu efficace avec seulement 2 % de sensibilité. Ces résultats révèlent une résistance marquée aux antibiotiques couramment utilisés, surtout les β-lactamines, et mettent en avant l'intérêt de recourir à des molécules plus actives dans le traitement des infections dues aux entérobactéries du groupe K.E.S.



	AM	CAZ	KZ	CTX	AMC	FOX	CFM	IMP	AK	LEV	CIP	CXM	SXT	C
S	0	5	0	7	3	4	6	3	6	13	9	0	13	15
I	0	0	0	0	1	2	4	1	7	2	3	0	0	0
R	21	16	21	14	17	15	11	17	8	6	9	21	8	6

Figure 47: Résistance et sensibilité des souches de *Klebsiella* aux antibiotiques

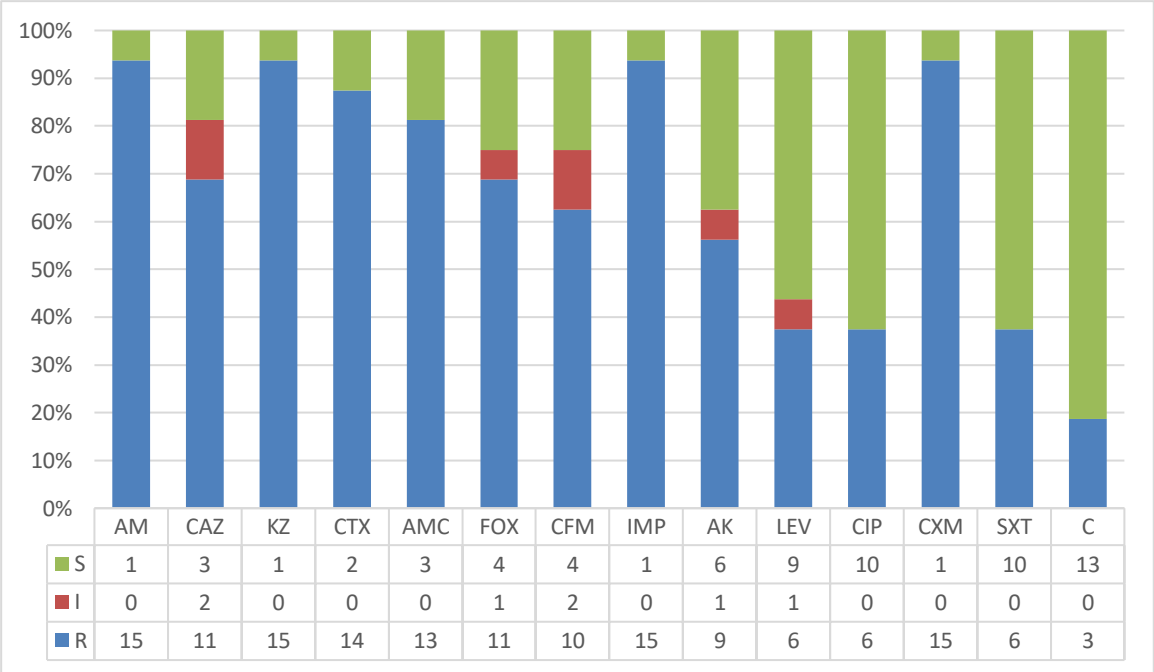
Les résultats obtenus **(figure 47)** révèlent un profil de résistance préoccupant chez les souches de *Klebsiella*, avec une résistance totale à trois antibiotiques de la famille des β-lactamines : l'ampicilline (AM), une pénicilline, ainsi que la céfazoline (KZ) et la céfixime (CXM), toutes deux des céphalosporines (de 1re et 3e génération respectivement), affichant chacune un taux de résistance de 100 %. Cette forte résistance aux β-lactamines suggère la possible production de β-lactamases. À l'inverse, les taux de résistance les plus faibles ont été observés pour le chloramphénicol (C), un phénicole, et la lévofloxacine (LEV), une fluoroquinolone, avec chacun un taux de résistance de 29 %, indiquant une meilleure efficacité de ces molécules. En termes de sensibilité, le chloramphénicol (C) a présenté le taux le plus élevé (71,4 %), suivi du triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), un antibiotique combiné associant un sulfamide (sulfaméthoxazole) et un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (triméthoprime), avec 61,9 %. Ces résultats montrent que, malgré une multi-résistance généralisée, certaines molécules comme la lévofloxacine et surtout le chloramphénicol peuvent encore représenter des alternatives thérapeutiques efficaces contre les infections à *Klebsiella*.



	AM	CAZ	KZ	CTX	AMC	FOX	CFM	IMP	AK	LEV	CIP	CXM	SXT	C
S	0	1	0	3	1	1	2	1	5	7	4	0	7	7
I	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	0	0
R	13	12	13	10	12	12	11	12	7	5	8	13	6	6

Figure 48: Résistance et sensibilité des souches d'*Enterobacter* aux antibiotiques

Les résultats obtenus **(figure 48)** révèlent un profil de résistance alarmant chez les souches d'*Enterobacter*, avec une résistance totale à trois antibiotiques appartenant à la famille des β-lactamines : l'ampicilline (AM), une pénicilline, ainsi que la céfazoline (KZ) et la céfixime (CXM), toutes deux des céphalosporines (de 1re et 3e génération respectivement), avec un taux de résistance de 100 %. Cette forte résistance concerne principalement les β-lactamines. En revanche, les taux de résistance les plus faibles ont été observés pour la lévofloxacine (LEV), une fluoroquinolone, avec 38,4 %, suivie du chloramphénicol (C), un phénicole, et du triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), un antibiotique combiné associant un sulfamide (sulfaméthoxazole) et un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (triméthoprime), chacun avec un taux de résistance de 46,1 %, indiquant une meilleure efficacité de ces molécules. En termes de sensibilité, la lévofloxacine (LEV) a présenté le taux de sensibilité le plus élevé (53,8 %), à égalité avec le SXT et le chloramphénicol. Ces résultats suggèrent qu'en dépit de la multirésistance généralisée, certaines molécules comme la lévofloxacine, le SXT et le chloramphénicol peuvent encore offrir des alternatives thérapeutiques viables contre les infections à *Enterobacter.*



	AM	CAZ	KZ	CTX	AMC	FOX	CFM	IMP	AK	LEV	CIP	CXM	SXT	C
S	1	3	1	2	3	4	4	1	6	9	10	1	10	13
I	0	2	0	0	0	1	2	0	1	1	0	0	0	0
R	15	11	15	14	13	11	10	15	9	6	6	15	6	3

Figure 49: Résistance et sensibilité des souches de *Serratia* aux antibiotiques

Les résultats obtenus **(figure 49)** révèlent un profil de résistance alarmant chez les souches de *Serratia*, avec une résistance très élevée à plusieurs antibiotiques de la famille des β-lactamines : l'ampicilline (AM), une pénicilline, ainsi que la céfazoline (KZ) et la céfixime (CXM), deux céphalosporines (de 1re et 3e génération respectivement), et l'imipénem (IMP), un carbapénème, tous affichant un taux de résistance de 93,7 %. Cette forte résistance concerne principalement les β-lactamines. En revanche, les taux de résistance les plus faibles ont été observés pour le chloramphénicol (C), un phénicole, avec 18,7 %, suivi du triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT), un antibiotique combiné associant un sulfamide (sulfaméthoxazole) et un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (triméthoprime), ainsi que de la ciprofloxacine (CIP) et de la lévofloxacine (LEV), toutes deux des fluoroquinolones, avec 37,5 % de résistance.En termes de sensibilité, le chloramphénicol (C) a présenté le taux de sensibilité le plus élevé (81,2 %). Ces résultats suggèrent qu'en dépit de la multirésistance généralisée, certaines molécules comme la lévofloxacine, la ciprofloxacine, le SXT et surtout le chloramphénicol peuvent encore représenter des alternatives thérapeutiques viables contre les infections à *Serratia.*

Les profils de résistance des trois genres *Klebsiella, Enterobacter et Serratia* révèle une tendance commune à une forte résistance aux β-lactamines, en particulier à l'ampicilline, à la céfazoline et au céfixime, avec des taux atteignant 100 % chez *Klebsiella et Enterobacter*, et 93,7 % chez *Serratia*. Cette situation suggère la probable production de β-lactamases chez ces bactéries. En revanche, les antibiotiques non β-lactamines montrent une efficacité variable selon le genre. Le chloramphénicol, un phénicole, a présenté les taux de résistance les plus faibles chez *Serratia* (18,7 %), contre 29 % pour *Klebsiella* et 46,1 % pour *Enterobacter*. De même, les fluoroquinolones comme la lévofloxacine et la ciprofloxacine ainsi que le triméthoprime-sulfaméthoxazole (SXT) montrent une activité modérée avec des résistances oscillant entre 29 % et 46,1 %. En termes de sensibilité, le *Serratia* se distingue avec un taux élevé de sensibilité au chloramphénicol (81,2 %), alors que *Klebsiella et Enterobacter* présentent une sensibilité partagée entre le chloramphénicol, la lévofloxacine et le SXT (environ 53–70 %).

En résumé, bien que les trois genres présentent une multirésistance marquée, notamment aux β-lactamines, certaines molécules comme le chloramphénicol, les fluoroquinolones et le SXT restent des alternatives thérapeutiques prometteuses, en particulier face à Serratia, qui montre une sensibilité plus marquée à ces antibiotiques.

Étude sur les propriétés adhésives et la résistance aux antibiotiques des isolats cliniques de *Klebsiella, Enterobacter et Serratia* impliqués dans des infections nosocomiales. Cette étude a examiné 103 isolats cliniques de *Klebsiella, Enterobacter et Serratia* impliqués dans des infections nosocomiales. Elle a observé que la moitié des souches étaient résistantes à plusieurs agents antimicrobiens, y compris les aminoglycosides et les β-lactamines. De plus, elle a étudié les propriétés adhésives de ces souches, ce qui est crucial pour leur rôle dans les infections nosocomiales **(Livrelli*et al.*, 1996).**

Une autre étude sur la résistance aux fluoroquinolones des isolats d'*Enterobacteriaceae*. Cette étude a analysé 207 isolats d'*Enterobacteriaceae* provenant d'infections urinaires. Elle a trouvé que 28,0 % des isolats étaient résistants à toutes les fluoroquinolones testées, avec des taux de résistance spécifiques pour chaque espèce : *Enterobacter* (30,8 %), *Klebsiella* (29,7 %) et *Serratia* (25,0 %) **(Lockhart *et al.*, 2007).**

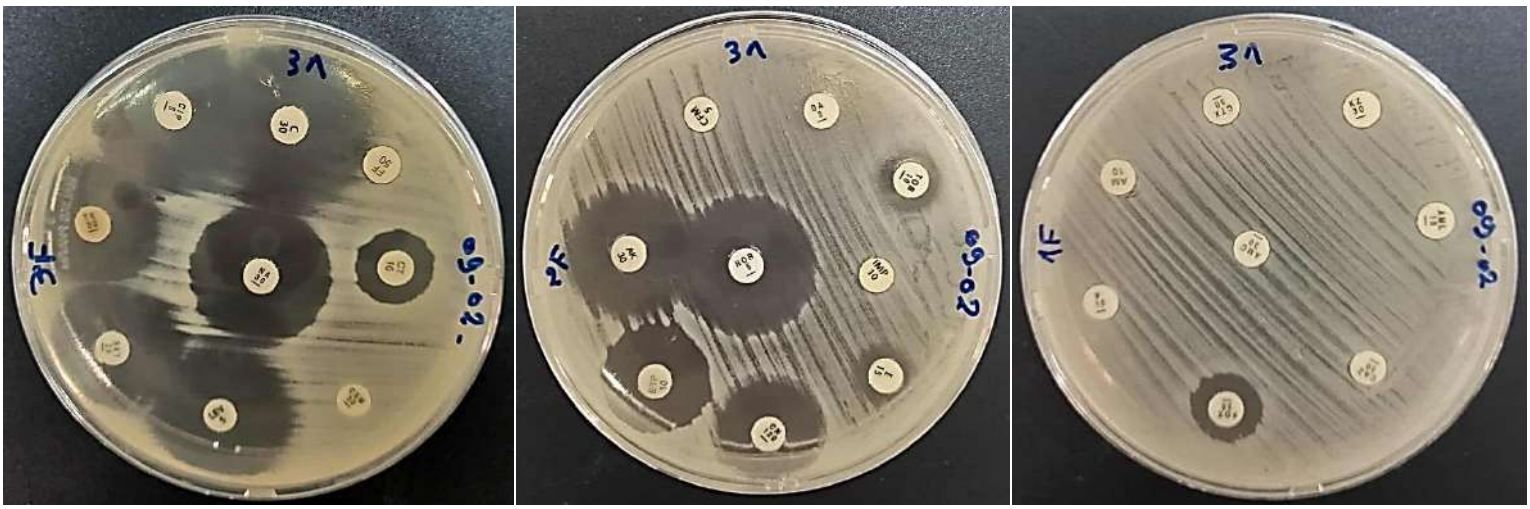


Figure 50: Résultat d'antibiogramme d'une souche de *Klebsiella*

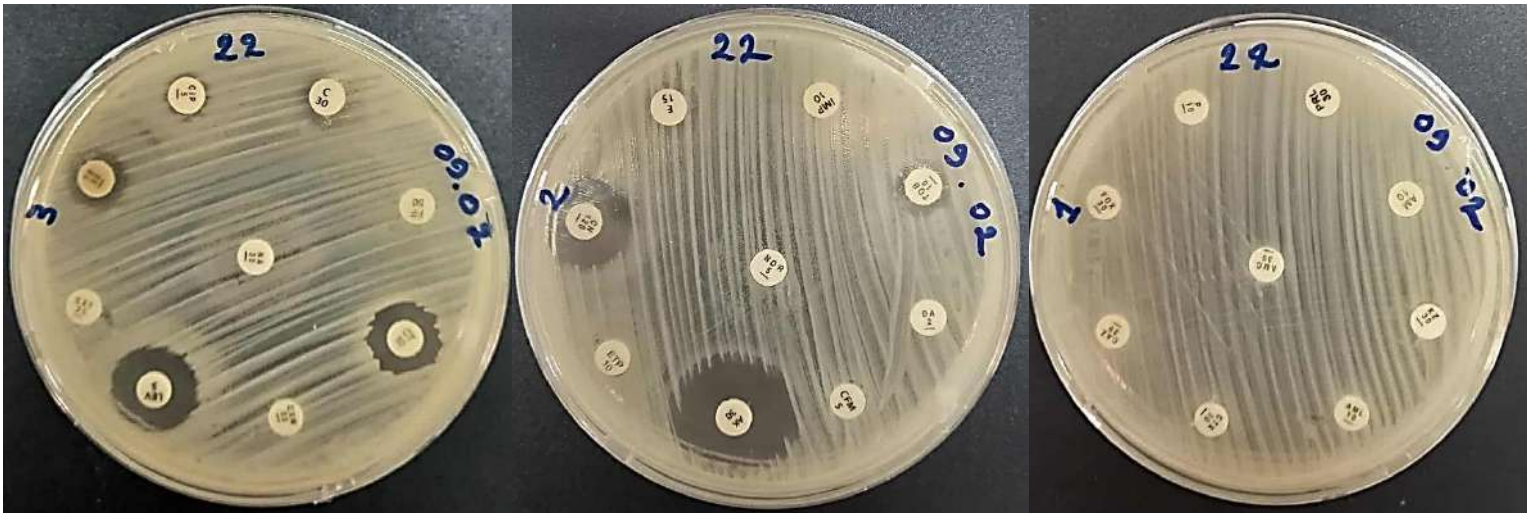


Figure 51: Résultat d'antibiogramme d'une souche *d'Enterobacter*

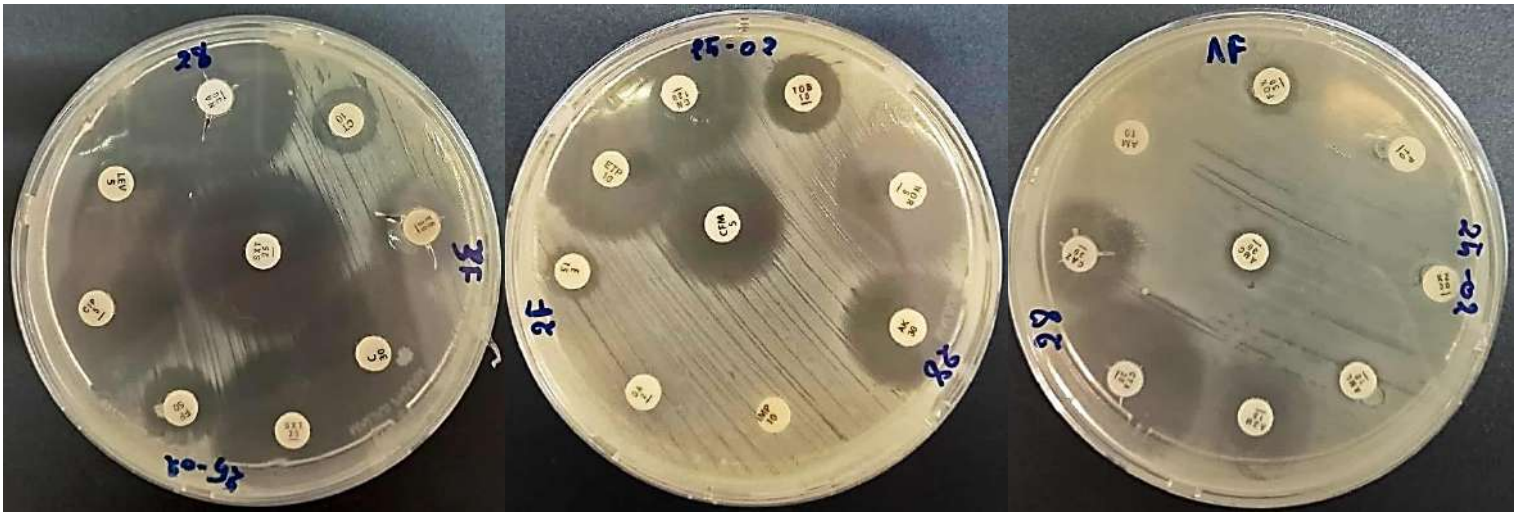


Figure 52: Résultat d'antibiogramme d'une souche de *Serratia*

4.2 BLSE :

Les 50 souches testées du groupe K.E.S ayant des résultats négatifs (-) au test de synergie (absence du forme bouchon de champagne). Donc les 50 souches testées se sont révélées négatives pour la production de BLSE.

Dissémination de souches d'entérobactéries productrices de BLSE est un phénomène complexe qui peut être dû à trois mécanismes intriqués. Le premier mécanisme est la dissémination clonale, dans laquelle une souche productrice de BLSE peut se disséminer par contact horizontal de patient à patient**(Brun-Buisson *et al*., 1987).**Le second mécanisme est la transmission d'un ou plusieurs plasmides vers une autre souche (de la même espèce ou d'une espèce différente). Le troisième mécanisme est le transfert d'éléments de résistance présents dans des transposons ou intégrons entre différents plasmides.La transmission peut produire des épidémies locales au niveau d'une unité de soins intensifs, d'un hôpital ou un centre de soins. Elle peut s'étendre au niveau interhospitalier par le transfert de patients colonisés ou infectés (**Monnet *et al*., 1997).**

Dans une étude à Rabat (Maroc) en 2013 sur les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), le groupe K.E.S comprenant *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter spp et Serratia spp* a été identifié comme un producteur potentiel de BLSE, avec des prévalences respectives de 34 %, 31 % et 43 %**(FOULAL, 2013).**

Une autre étude menée en 2021 à Rabat (Maroc) sur les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) a révélé que *Klebsiella pneumoniae* était l'espèce la plus fréquemment identifiée parmi les producteurs de BLSE, représentant 41.9 % des isolats. *Enterobacter cloacae* a également été détectée, représentant 10,5 % des cas plus de *Serratia spp* avec 1.2 %**(MORJAN, 2021).**

Selon (**Romli et *al*., 2011),**les entérobactéries productrices de ß-lactamases à spectre étendu (BLSE) constituent un problème de santé publique majeur, notamment en milieu hospitalier. L'étude a révélé que *Klebsiella pneumoniae* représentait 59.7% des souches BLSE isolées d'infections urinaires, suivie par *E .coli* (30%) et *Enterobacter* (9%).

Autre étude mais en Algérie sur la prévalence et la caractérisation des β-lactamases à spectre élargi (BLSE) chez les bactéries du groupe *Klebsiella-Enterobacter-Serratia*. Cette étude a isolé 207 souches du groupe KES à l'hôpital Ibn Rochd d'Annaba, en Algérie, en 2009. Elle a révélé que 31,4 % des souches produisaient des BLSE, réparties comme suit : 17,4 % de

Klebsiella spp., 7,2 % d'*Enterobacter* spp. et 6,8 % de *Serratia marcescens* **(Nedjai*et al*., 2012).**

4.3 Carbapénamase :

Les résultats de l'antibiogramme réalisés dans cette étude révèlent un taux alarmant de résistance à l'imipenème chez les souches isolées de *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter et Serratia*. Cette observation, issue de nos données expérimentales, met en évidence une probable circulation de souches multirésistantes au niveau local.

Nos résultats s'accordent partiellement avec ceux rapportés par **(Xu et *al*.,2015),** qui ont mis en évidence une augmentation importante de la prévalence des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes en Asie, en particulier chez *Klebsiella pneumoniae*. Les auteurs soulignent également que, semblable à *Klebsiella spp., Enterobacter spp*montre une résistance croissante à l'imipenème.

Plus qu'à l'imipénem, nous avons confirmé la présence probable de carbapénèmases par l'ertapénem, sur un total de 45 souches cliniques appartenant aux genres *Klebsiella, Enterobacter* et *Serratia*. Les résultats de l'antibiogramme ont montré 25 souches résistantes, 12 intermédiaires et 8 sensibles à l'ertapénem, ce qui reflète une forte présomption d'activité enzymatique. Ces résultats sont comparables à ceux de l'étude de (**Benbouza et *al*.,2024)** menée dans les hôpitaux de Batna, où une résistance de 100 % à l'ertapénem a été observée chez les souches de *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae*, confirmant ainsi la valeur de cet antibiotique comme marqueur fiable pour le dépistage des carbapénèmases.

De manière complémentaire, l'étude génomique menée par **(El Khoury et *al*., 2023)** sur des souches hospitalières a confirmé la présence fréquente de ces gènes de résistance (bla_KPC, bla_NDM, bla_OXA-48), souvent portés par des plasmides transférables entre espèces et que la résistance chez *Klebsiella pneumoniae, Enterobacter et Serratia* est principalement due à la production de ces carbapénémases.

Cela explique possiblement les profils de résistance similaires observés dans notre étude entre *Klebsiella, Enterobacter et Serratia.*

4.4 Colistine :

Dans le cadre de notre recherche, nous avons évalué l'activité de plusieurs antibiotiques sur un ensemble de souches isolées appartenant aux genres *Klebsiella, Enterobacter et Serratia*. En raison de certaines contraintes, tous les antibiotiques n'ont pas été testés sur

l'ensemble des 50 souches, mais seulement sur un nombre limité d'entre elles. Parmi les antibiotiques testés figure la colistine (CT10), qui a montré un taux élevé de résistance chez la majorité des souches concernées

Ce niveau élevé de résistance est particulièrement préoccupant, étant donné que la colistine est souvent utilisée comme traitement de dernier recours contre les bactéries multirésistantes. Bien que notre travail ait porté sur trois genres bactériens (*Klebsiella, Enterobacter et Serratia*), des résultats similaires ont été rapportés dans l'étude de **(Narimisa et *al*., 2022)** portant uniquement sur *Klebsiella pneumoniae*. Eux aussi ont trouvé que la majorité des souches étaient résistantes à la colistine, ce qui montre que cette problématique ne concerne pas seulement un type bactérien, mais pourrait refléter une tendance plus générale.

Cette forte résistance observée pourrait être liée à l'utilisation excessive et parfois non contrôlée de la colistine dans le traitement des infections graves. Après avoir été abandonnée dans les années 1970 en raison de sa toxicité, la colistine a été réintroduite ces dernières années comme alternative face aux bactéries résistantes aux carbapénèmes. Son emploi répété, souvent comme dernier recours, a probablement favorisé la sélection de souches résistantes, réduisant ainsi l'efficacité de cet antibiotique.

5 Activité antimicrobienne d'huile essentielle (HE) :

Le rendement en huile essentielle de la plante *Ammi visnaga* a été déterminé à la suite du processus d'extraction. La quantité obtenue a permis de calculer le pourcentage de rendement, ce qui reflète l'efficacité de l'extraction réalisée. Le résultat obtenu est de 3,52%

L'activité antimicrobienne d'huile essentielle (HE) d*'Ammi visnaga* (Nokha) a été évaluée par la technique d'aromatogramme sur 50 souches bactériennes appartenant au groupe K.E.S (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*). Les résultats ont révélé une variabilité notable des diamètres des zones d'inhibition (DZI), traduisant une sensibilité différenciée des souches testées à l'action de l'HE. Cette diversité de réponses suggère une interaction complexe entre les constituants bioactifs de l'HE et les particularités structurales de chaque souche. Les résultats de ce test antimicrobien sont rapportés dans le tableau suivant :

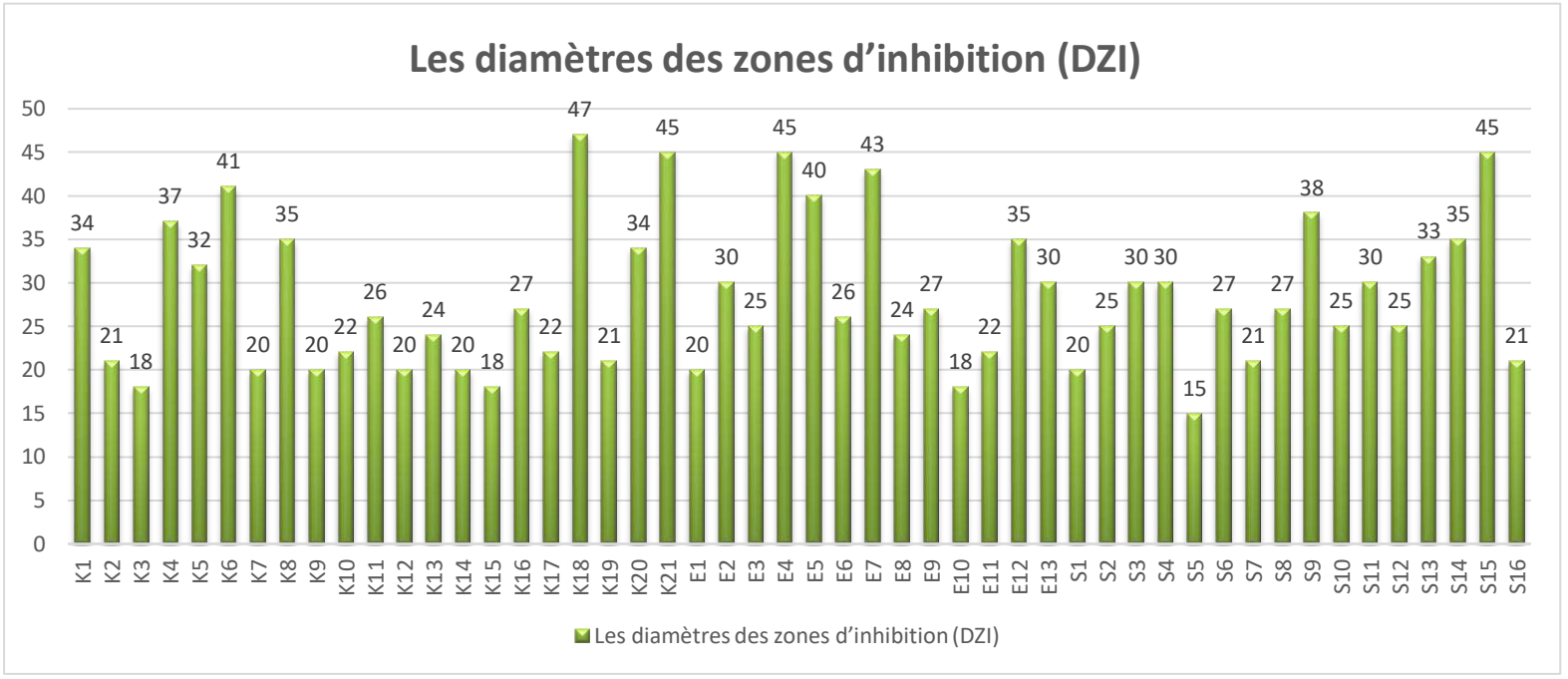
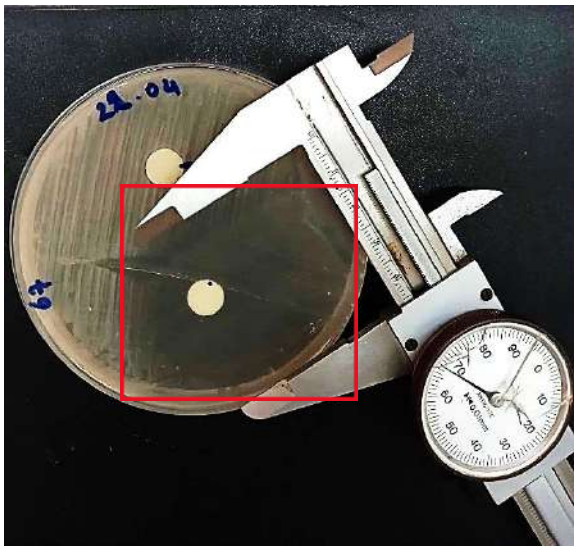


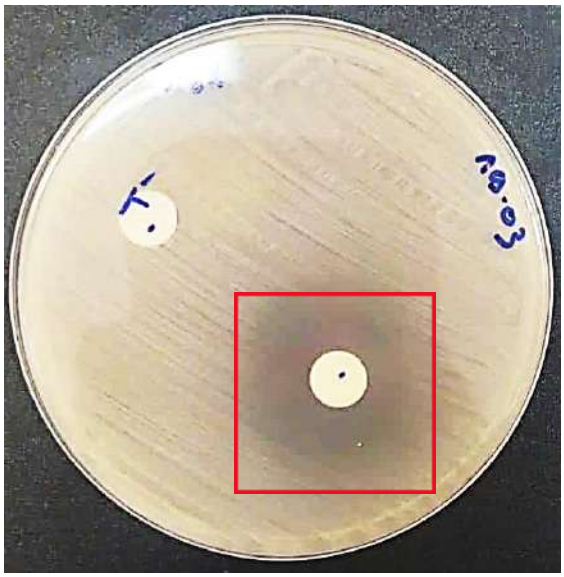
Figure 53:résultats d'activité antimicrobienne d'HE d'*Ammi visnaga* surles 50 souches de groupe K.E.S

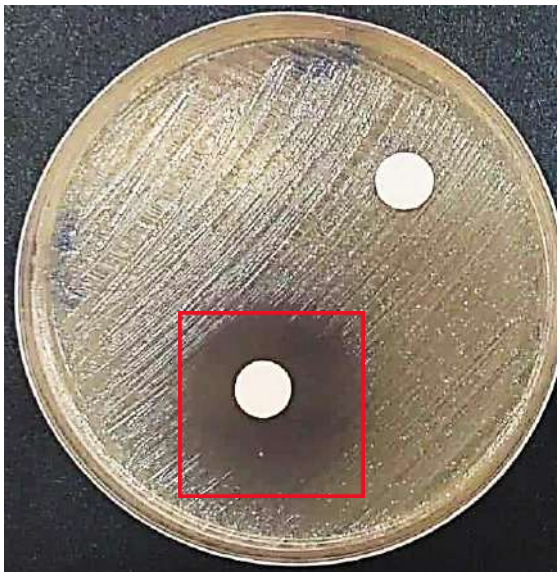
L'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle (HE) d'Ammi visnaga a révélé des diamètres de zones d'inhibition variables selon les souches testées. Les diamètres mesurés étaient compris entre **18 mm** et **47 mm** pour *Klebsiella*, entre **18 mm** et **45 mm** pour *Enterobacter*, et entre **15 mm** et **45 mm** pour *Serratia*. Ces résultats témoignent d'un effet inhibiteur notable de l'HE sur ces bactéries, avec une efficacité variable selon l'espèce.



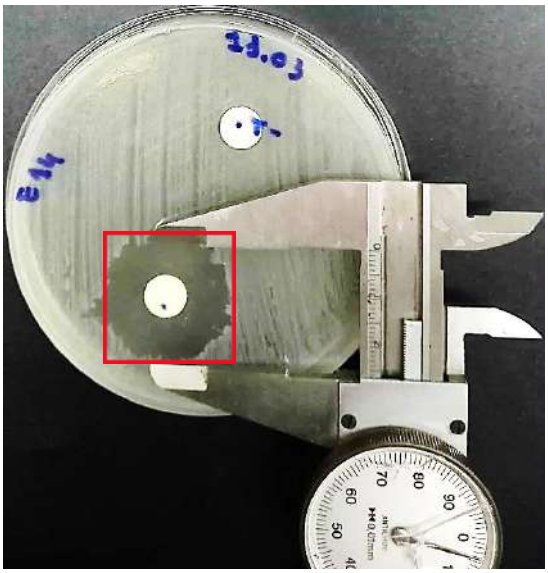


Klebsiella pneumoniae



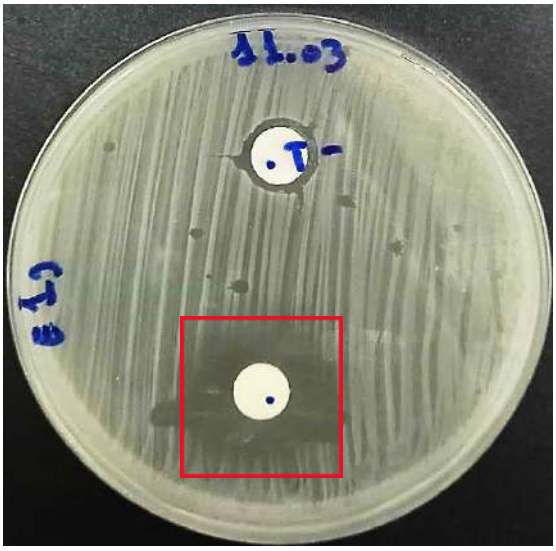


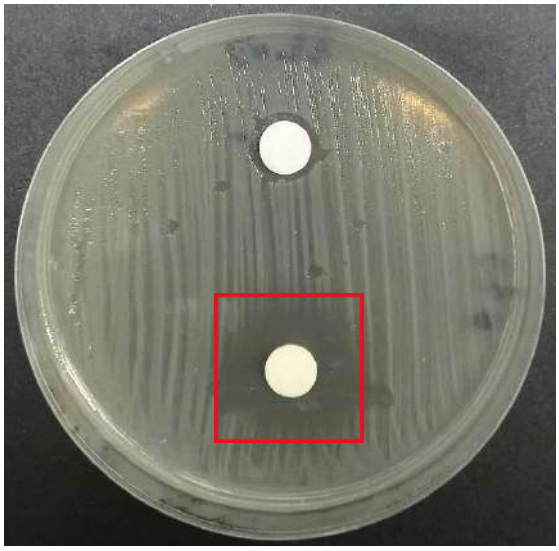
Klebsiella oxytoca



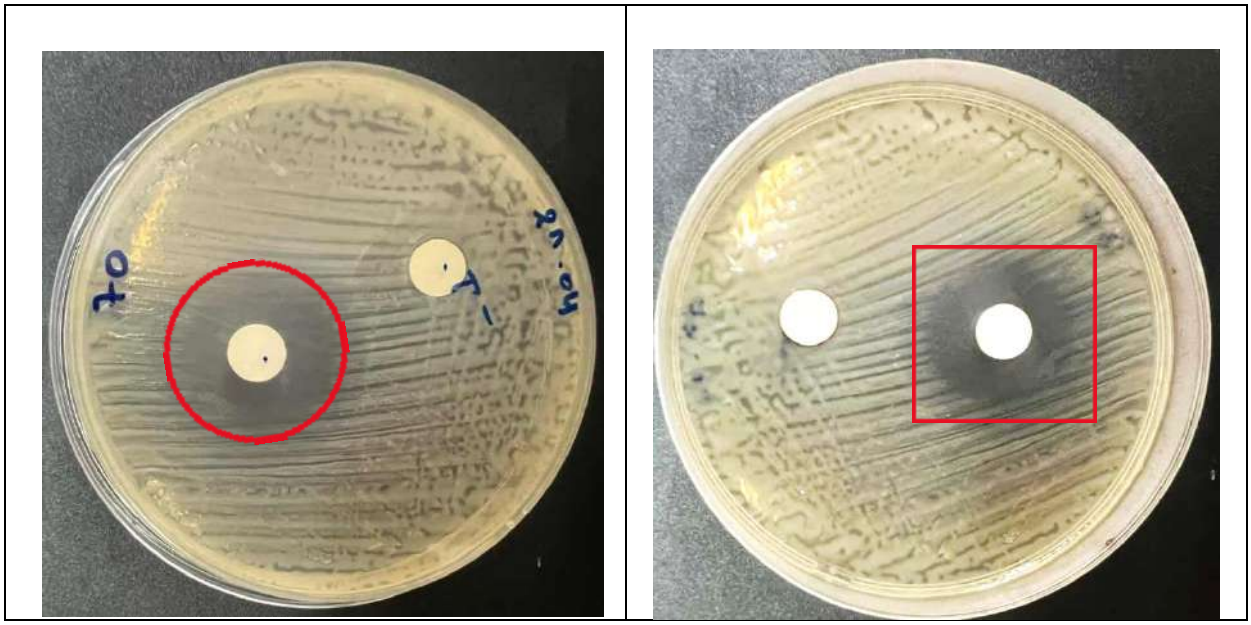


Enterobacter cloacae





Enterobacter aerogenes

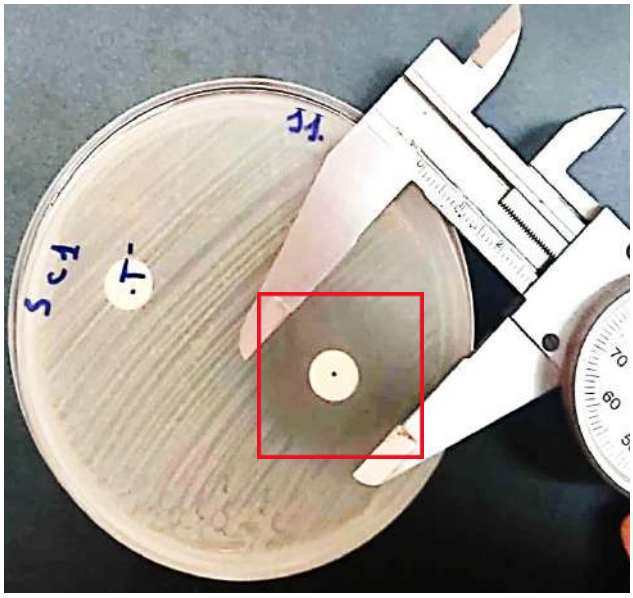


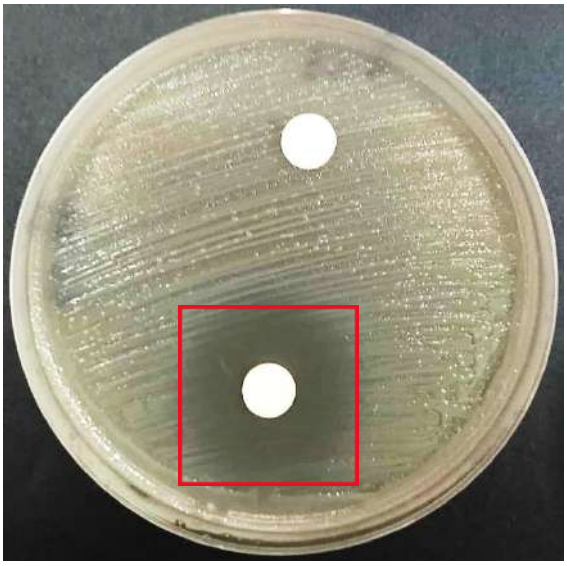
Enterobacter sakazakii



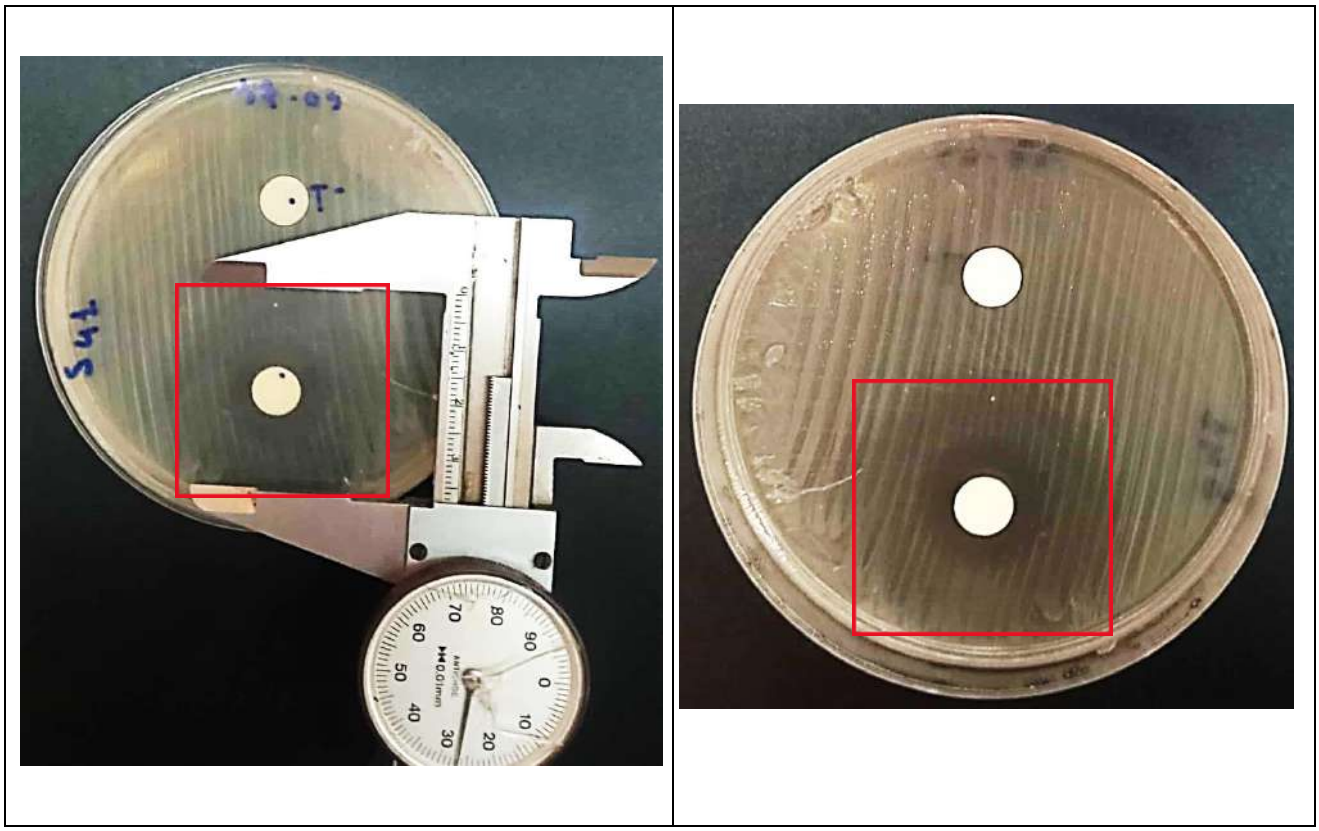


Serratia liquefaciens





Serratia marcescens



Serratia odorifera

Figure 54: Effet de l'HE d'*Ammi visnaga* sur le groupe K.E.S

Dans notre étude, l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* a montré une forte activité antibactérienne contre *Klebsiella*, avec un diamètre de zone d'inhibition de 47 mm, supérieur à ceux observés pour *Serratia* et *Enterobacter*. Ces résultats indiquent que *Klebsiella* est la plus sensible.

Parmi les composés actifs identifiés dans *Ammi visnaga* figurent la khelline et la visnagine, toutes deux reconnues pour leurs propriétés antifongiques, antibactériennes et antivirales **(Alam et *al.*,2018).**
Plusieurs études ont mis en évidence les propriétés antimicrobiennes des huiles essentielles extraites de Ammi visnaga L., démontrant leur capacité à inhiber la croissance de diverses souches microbiennes telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*et *Klebsiella pneumoniae* **(Khalil et *al.*, 2020)**. En comparaison avec notre étude, une recherche menée à Constantine (Algérie) en 2011 a évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Ammi*

visnaga contre différentes souches bactériennes à Gram positif et Gram négatif. Parmi celles-ci, *Enterobacter aerogenes* et *Klebsiella pneumoniae* ont présenté des zones d'inhibition respectives de 20 mm et 23 mm. Ces résultats sont comparables à ceux obtenus dans notre propre expérimentation, confirmant ainsi l'efficacité de cette huile essentielle. Plus que dans notre étude, on tester l'efficacité de cette huile essentielle sur les espèces du *Serratia* qui donner des résultats rassemble *Klebsiella* et *Enterobacter* **(Khalfallah et *al.*, 2011)**. On peut comparer nos résultats d'activité antimicrobienne de l'huile essentielle (HE) d'*Ammi visnaga* contre le groupe K.E.S. (*Klebsiella, Enterobacter, Serratia*) avec ceux d'une étude réalisée à Mostaganem (Algérie), qui a évalué l'effet de la même HE sur *Pseudomonas aeruginosa*. Dans cette étude, l'huile essentielle d'Ammi visnaga a montré une activité antibactérienne notable, avec des diamètres de zones d'inhibition variant entre 8 et 14,5 mm **(Baghdadi Ben Attia et Bachkat, 2019)**.
Nos résultats indiquent que l'HE d'*Ammi visnaga* est plus efficace contre les bactéries du groupe K.E.S. que contre *P. aeruginosa*, bien que toutes soient des bactéries à Gram négatif. Cette différence d'efficacité peut être attribuée à la composition chimique de l'huile essentielle.

6 La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) :

Les tests de détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'huile essentielle d*'Ammi visnaga* ont été réalisés in vitro par la méthode de micro dilution en milieu liquide, en utilisant des plaques à 96 puits.

Trois souches bactériennes appartenant à la famille des Enterobacteriaceae ont été testées : *Enterobacter spp, Klebsiella spp et Serratia spp*.

Le suivi de la croissance bactérienne a été effectué à l'aide d'un indicateur coloré, permettant de distinguer les puits avec croissance (rose) de ceux sans croissance (mauve). Les concentrations testées ont permis de déterminer, pour chaque souche, une valeur spécifique de CMI.

Les résultats obtenus montrent que les CMI varient d'une souche à une autre.

- Pour *Serratia*, les CMI se situent entre 0,078125 µg/mL et 0,3125µg/mL, avec une concentration prédominante de 0,15625 µg/mL.
- Pour *Enterobacter*, les valeurs observées varient entre 0,15625µg/mL et 1,25 µg/mL, avec également une majorité des souches sensibles à 0,15625 µg/mL.
- Les souches de *Klebsiella* ont montré les valeurs de CMI les plus faibles, allant de 0,009765 µg/mL à 0,1953125 µg/mL. Deux souches n'ont montré aucune croissance, ce qui indique une inhibition totale même à la plus faible concentration testée.

Tableau 16: Tableau comparatif des resultats de CMI

Genre bactérien :	**Dilution**	**Concentration (v/v), (µL/mL)**	**Intervalle deCMI (µg/mL)**	**Valeur prédominante (µL/mL)**	**Nombre de souches sans croissance**
Serratia	**1/128 -1/32**	**0,78125 – 3,125**	**0,078125 - 0,3125**	**1,5625**	**0**
Enterobacter	**1/64 - 1/8**	**1,5625 – 12,5**	**0,15625- 1,25**	**1,5625**	**0**
Klebsiella	**1 /1024 – 1/512**	**0,097656 – 0,1953125**	**0,009765 - 0,01953125**	**/**	**2**

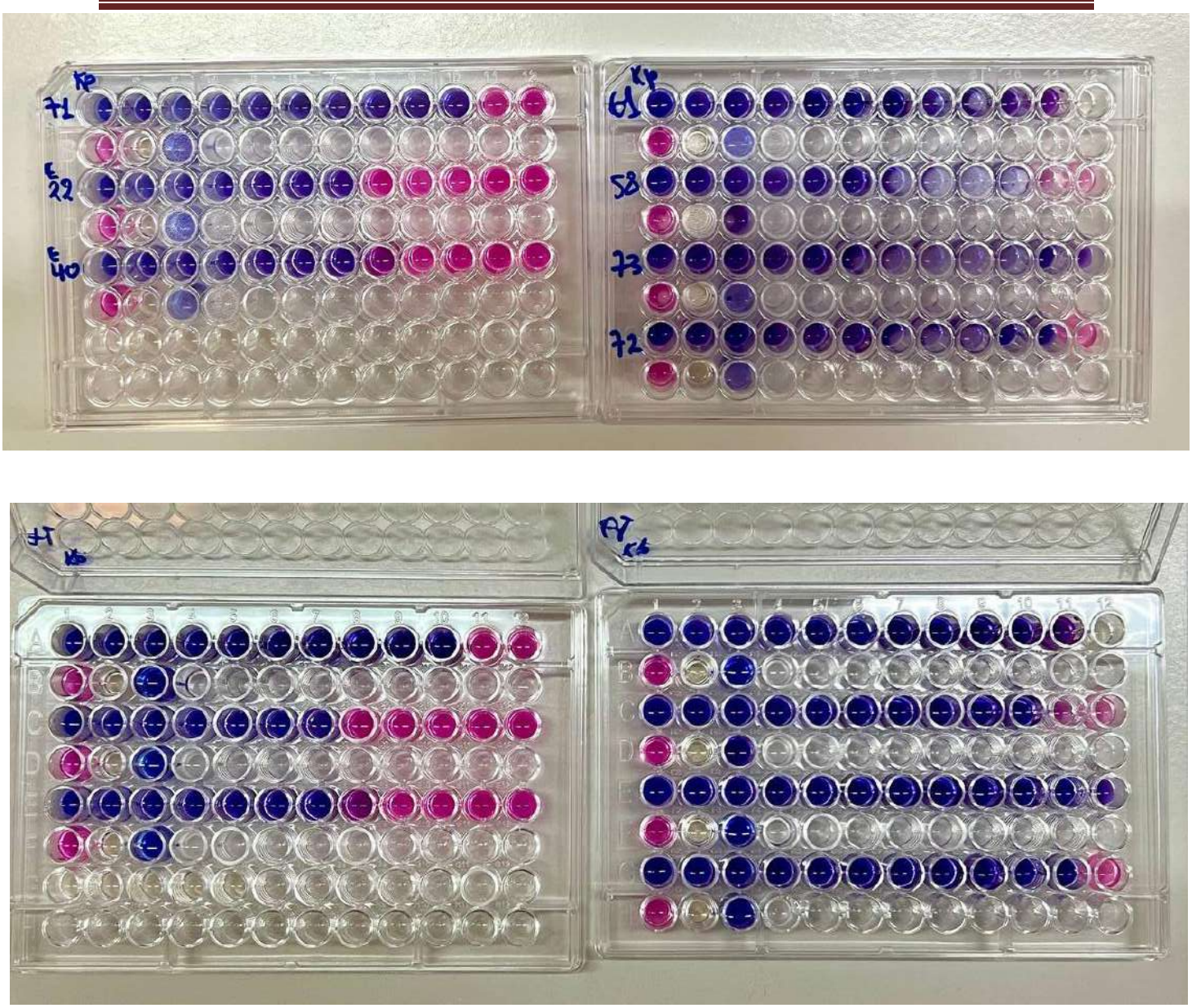
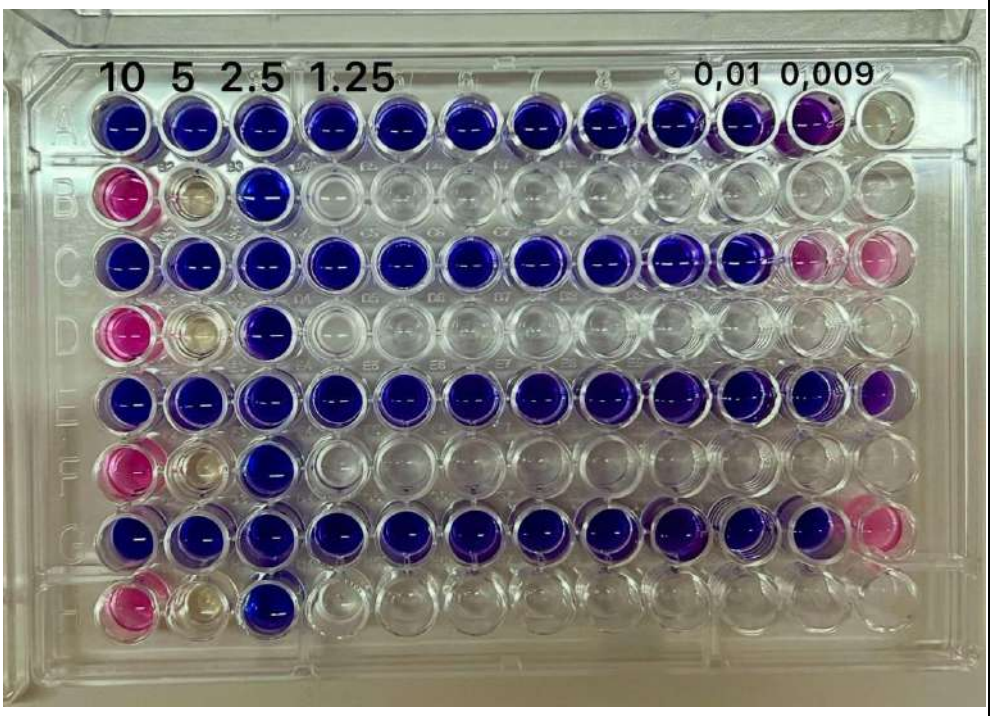
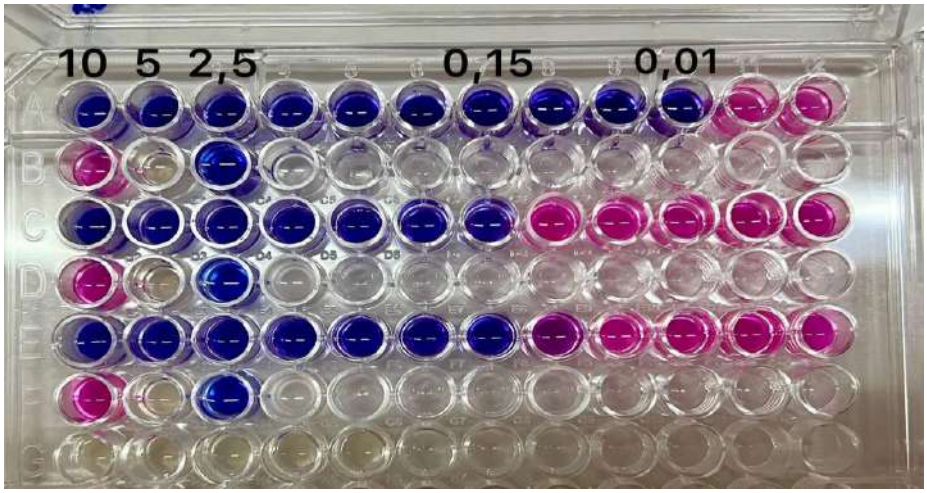
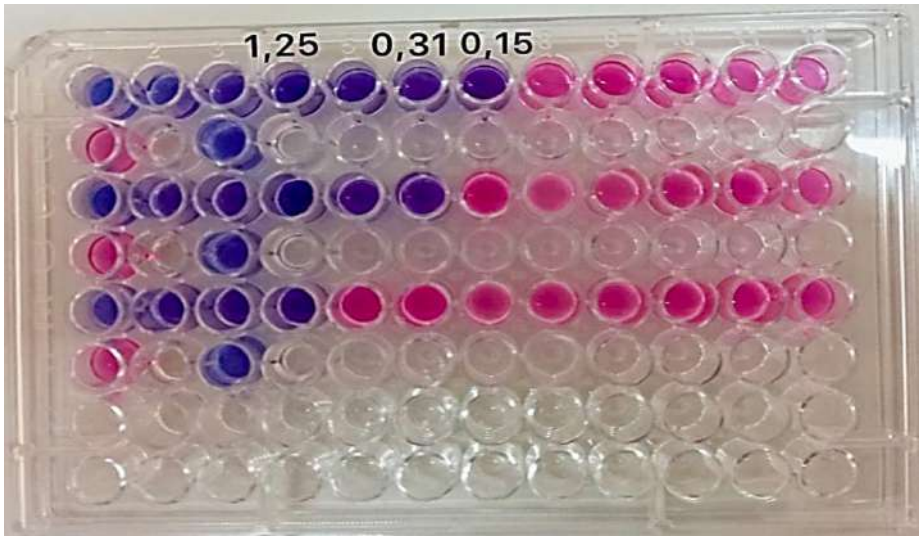
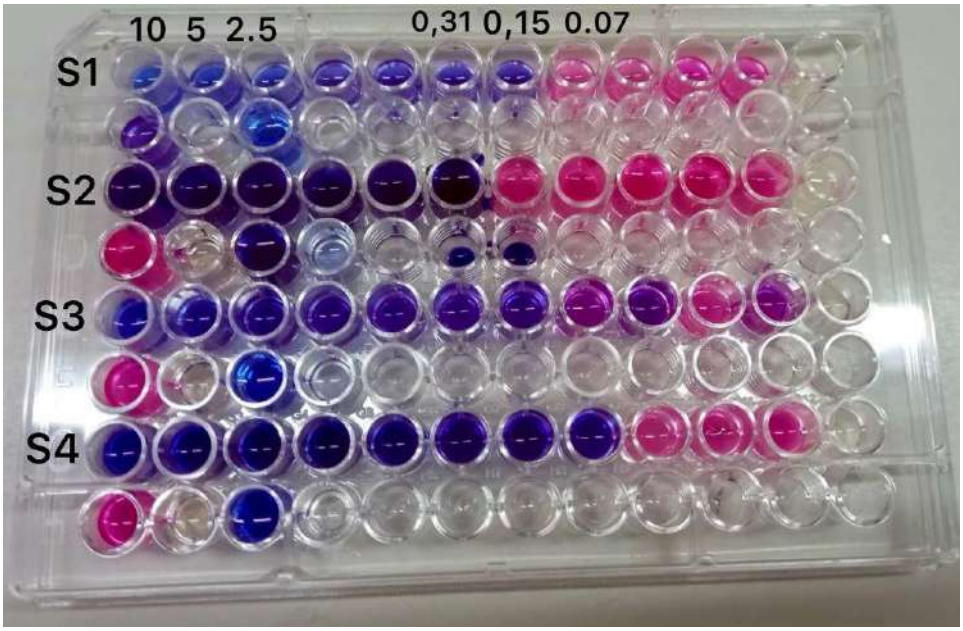


Figure 55: les resultats de CMI d'huile essentielles d*'Ammivisnaga*

Tableau 17: Résultats de CMI de groupe K.E.S

Le genre bactérien :	**Résultats de CMI :**
***Klebsiella* :**	

Enterobacter :	 
Serratia :	

La récurrence de la valeur de CMI à 0,15625 µg/mL chez plusieurs souches d'*Enterobacter* et de *Serratia* peut s'expliquer par une sensibilité biologique similaire à l'huile essentielle d*'Ammi visnaga*. Cela pourrait refléter des caractéristiques phénotypiques ou génétiques communes, notamment au niveau de la perméabilité membranaire ou de l'absence de mécanismes de résistance spécifiques aux composés actifs de l'huile.

En comparant nos résultats à ceux de**(Himed et *al.*, 2016)**, qui ont évalué l'activité antibactérienne de l'huile essentielle de Citrus limon (variété Lisbon) sur les mêmes souches du groupe KES, on constate que les CMI obtenues étaient de 700 µg/mL pour *Klebsiella pneumoniae*, 500 µg/mL pour *Enterobacter aerogenes* et 900 µg/mL pour *Serratia marcescens.*

Ces valeurs indiquent une activité modérée à faible de l'huile de citron contre ces bactéries. En comparaison, les résultats obtenus avec l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* montrent une activité nettement plus marquée, soulignant une meilleure efficacité antimicrobienne. Cette supériorité pourrait s'expliquer par la richesse de l'huile d'Ammi visnaga en composés actifs plus puissants ou agissant de manière plus ciblée sur les structures cellulaires de ces entérobactéries.

7 Perspectives d'application pharmaceutique de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* :

Les extraits d'*Ammi visnaga*, en particulier son huile essentielle, sont riches en composés bioactifs. Ces composés ont démontré des propriétés antimicrobiennes significatives contre diverses souches bactériennes.
L'*Ammi visnaga* offre des perspectives intéressantes pour le développement de produits pharmaceutiques naturels, en particulier dans le contexte actuel de résistance croissante aux antibiotiques. Une recherche approfondie et une collaboration entre chercheurs et industriels pourraient permettre de valoriser cette plante médicinale au bénéfice de la santé publique par exemple:

- L'huile essentielle d'*Ammi visnaga* pourrait être incorporée dans des crèmes ou pommades pour traiter les infections cutanées causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques.
- il est essentiel de considérer son utilisation comme complémentaire aux antibiotiques traditionnels plutôt que comme un remplacement direct.
- Produits de soins bucco-dentaires : Grâce à ses propriétés antimicrobiennes, elle pourrait être utilisée dans des bains de bouche ou dentifrices pour prévenir les infections buccales.
- Agents conservateurs naturels : Ses propriétés antimicrobiennes pourraient également être exploitées pour prolonger la durée de conservation des produits pharmaceutiques sans recourir à des conservateurs synthétiques.

Conclusion

Conclusion :

Le groupe K.E.S (Klebsiella, Enterobacter, Serratia) représente aujourd'hui une menace majeure en milieu hospitalier en raison de sa forte capacité à développer des résistances aux antibiotiques.

Dans ce contexte préoccupant, notre étude s'est intéressée à l'évaluation de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Ammi visnaga* sur des souches cliniques appartenant à ce groupe. L'identification bactérienne par la galerie API 20E, l'analyse des profils d'antibiorésistance par antibiogramme, ainsi que la détermination de la CMI via une méthode innovante basée sur l'utilisation d'un indicateur coloré, ont permis de mettre en évidence une activité notable de cette huile essentielle.

Ces résultats suggèrent qu'*Ammi visnaga* pourrait constituer une piste intéressante dans la recherche d'alternatives thérapeutiques face aux bactéries multirésistantes. Toutefois, des études approfondies, incluant des analyses moléculaires et des essais in vivo, seront nécessaires pour confirmer son efficacité et en comprendre les mécanismes d'action.

Liste des références

Liste des références :

A :

Aghapour, Z., Gholizadeh, P., Ganbarov, K., Bialvaei, A. Z., Mahmood, S. S., Tanomand, A., Yousefi, M., Asgharzadeh, M., Yousefi, B., &Kafil, H. S. (2019a). Molecularmechanismsrelated to colistinresistance in Enterobacteriaceae. *Infect. Drug Resist.*, 12, 965–975. https://doi.org/10.2147/IDR.S199844

Anne Davin-Reglia, Jean-Philippe Lavigneb, Jean-Marie Pagès. Enterobacter spp. Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and EmergingAntimicrobial Resistance. October 2019

Ali, S. A., Abbasi, M., & Ahmed, M. (2009). Frequency of Extended Spectrum Beta-Lactamases (ESBL) Producing Nosocomial Isolates in a Tertiary Care Hospital in Rawalpindi. *Pakistan Armed Forces Medical Journal*, 59(2), 154–158.

Al-Charrakh, S. Y., Yousif, H. S., & Al-Janabi, (2011). Occurrence and detection of extended-spectrum B-lactamases in Klebsiella isolates in Hilla, Iraq. *African Journal of Biotechnology*, 10(4), 657–665.

Alam, S., Anjum, N., Akhtar, J., & Bashir, F. (2018). Pharmacological investigation on Khella (Ammi visnaga L.). *World Journal of Pharmaceutical Research*, 7, 212–224.

Amraoui, A., Bahri, F., & Wanner, J. (2022). Chemical composition, anti-inflammatory and antimicrobialactivity of Algerian *Ammi visnaga* essential oil. *Plant Archives*, 249–254. https://doi.org/10.51470/PLANTARCHIVES.2022.v22.no1.039

Annavajhala, M. K., Gomez-Simmonds, A., &Uhlemann, A.-C. (2019). Multidrug-Resistant*Enterobacter cloacae*ComplexEmerging as a Global, DiversifyingThreat. *Frontiers in Microbiology*, 10, 44. https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.00044

Avril, J. L., Dabemat, H., Denis, F., & Monteil, H. (2000). *Bactériologie clinique* (3rd ed.). Ellipses, Paris.

Aromatogramme - Docteur Valnet [WWW Document], 2024.

URL https://www.docteurvalnet.com/histoire/aromatogramme/ (accessed 4.14.25).

B :

Baghdadi Ben Attia, N., &Bachkat, D. (2019). Activité antibactérienne des extraits d'Ammi visnaga sur *Pseudomonas aeruginosa*. *Mémoire de Master*, Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie.

Belbel, Z. (2014). Evaluation de la résistance aux antibiotiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées dans les hôpitaux de la ville d'Annaba. Thèse de doctorat, Université Badji Mokhtar-Annaba.

Berger, J. I., Pogosian, N., &Zainah, H. (2022). Egads!It'sEnterobacteriaceae:*Serratia rubidae*urinary tract infection &*Enterobacter aerogenes*bacteremicurinary tract infection. *March 2022*.

Bonnet, R. (2004). Growing group of extended-spectrum ß-lactamases: The CTX-M enzymes. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 48(1), 1–14.

Broberg, C. A., Palacios, M., & Miller, V. L. (2014). *Klebsiella*: A long way to go towardsunderstandingthisenigmatic jet-setter. *F1000Prime Reports*, 6, 64.

Bruneaux, M., Kronholm, I., Ashrafi, R., &Ketola, T. (2021). Roles of adeninemethylation and genetic mutations in adaptation to differenttemperatures in Serratia marcescens.

BELMOUMENE Abdelhalim, K.A., 2022. Etude épidémiologique descriptive de profil de sensibilité aux antibiotiques des entérobactéries responsables des infections urinaires à Bordj Bou Arreridj (PhD Thesis).

Benbouza, A., Kassah-Laouar, A., Chelaghma, W., Bouziane, F., Mebarki, Y., Rolain, J.-M., Loucif, L., 2024. Epidemiological and geneticcharacteristics of clinicalcarbapenemase-producingEnterobacteralesisolatesfrom Batna hospitals in Algeria. BMC Infect. Dis. 24, 1439. https://doi.org/10.1186/s12879-024-10300-8

BENSEGHIR Rania, K., 2020. Fréquence et résistance aux antibiotiques des bactéries responsables d'infections urinaires (PhD Thesis).

Bhagavathula, A.S., Mahmoud Al-Khatib, A.J., Elnour, A.A., Al Kalbani, N.M.S., Shehab, A., 2015. Ammi Visnaga in treatment of urolithiasis and hypertriglyceridemia. Pharmacogn. Res. 7, 397–400. https://doi.org/10.4103/0974-8490.167894

Brun-Buisson, C., Philippon, A., Ansquer, M., Legrand, P., Montravers, F., Duval, J., 1987. Transferableenzymaticresistance to third-generationcephalosporinsduring nosocomial outbreak of multiresistant Klebsiella pneumoniae. The lancet 330, 302–306.

C :

Cunningham, D. J., &Leber, A. (2018). Enterobacter, Cronobacter, and *Pantoea*species. In *Principles and Practice of PediatricInfectiousDiseases* (pp. 824–827.e1). Elsevier. https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780323401814001407

Cosimato, I., Santella, B., Rufolo, S., Sabatini, P., Galdiero, M., Capunzo, M., Boccia, G., Folliero, V., Franci, G., 2024. CurrentEpidemiologicalStatus and Antibiotic Resistance Profile of Serratia marcescens. Antibiotics 13, 323. https://doi.org/10.3390/antibiotics13040323

Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2025. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI supplement M100™, 35th ed. Wayne, PA: CLSI. Order #Ord-1294879. Accessed 14 January 2025.

D :

Davin-Regli, A., Lavigne, J. P., & Pagès, J. M. (2019). *Enterobacter* spp.: Update on taxonomy, clinical aspects, and emergingantimicrobialresistance. *ClinicalMicrobiologyReviews*, 32(4).

Deshmukhe, S. M., Karande, G., Sharma, S. B. K., Patil, S., Shinde, R., Pawar, S., Patil, H., & Mane, P. (2022). Prevalence of ESBL in *Klebsiella*sp. anditsantibioticresistance pattern fromvariousclinicalsamples in a tertiary care hospital.

Djimabi, F., Adodo, Y. S., Koffi, A., Bawimodom, B., K., S. A., Afi, M. A., A., A. G., K., A., Amegan, L., Palanga, K. K., Yanogo, P. K., Kouawo, M. L. J., Sawadogo, O., Ouedraogo, F. D., Layibo, Y., Patassi, A., Halatoko, W. A., Simpore, J., &Bayaki 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 IntervalEpidemiology and Public Health*, 4(3), 1-16.

D. Oduro-Mensah et al., « Geneticcharacterization of TEM-type ESBL-associatedantibacterialresistance in Enterobacteriaceae in a tertiaryhospital in Ghana », Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob., vol. 15, no 1, p. 29, déc. 2016, doi: 10.1186/s12941-016-0144-2

E :

Elliott, C., & Vaillant, A. (2020). Antimicrobials and EnterobacterialRepetitiveIntergenic Consensus (ERIC) polymerasechainreaction (PCR) patterns of nosocomial *Serratia marcescens*isolates: A one-year prospective study (June 2013-May 2014) in a rural hospital.

Evrard, B., Balestrino, D., Dosgilbert, J. L., Gachancard, J. B., Charbonnel, N., Forestier, C., &Tridon, A. (2010). Roles of capsule and lipopolysaccharide O antigen in interactions of human monocyte-deriveddendriticcells and *Klebsiella pneumoniae*. *Infection and Immunity*, 78(1), 210–219.

European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. Växjö, Sweden: EUCAST; 2014. Available from: https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/

Esteves, N. C., Scharf, B. E. (2024)**.** Serratia marcescens ATCC 274 increases production of the red pigment prodigiosin in response to Chi phage infection.

Ennabili, A. (2023/2024). Génie biologique.

El Jabboury, Z., Bentaib, R., Stevanovic, Z.D., Ousaaid, D., Benjelloun, M., El Ghadraoui, L., 2023. Ammi visnaga (L.) Lam.: An overview of phytochemistry and biologicalfunctionalities. Trends Phytochem. Res. 7, 141–155.

El Khoury, M., Salloum, T., Al Kodsi, I., Jisr, T., El Chaar, M., Tokajian, S., 2023. Whole-genomesequenceanalysis of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae recoveredfromhospitalized patients. J. Glob. Antimicrob. Resist. 34, 150–160. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2023.07.004

F :

Fortune Djimabi, S., Adodo, Y. S., Koffi, A., Bawimodom, B., K, S. A., Afi, M. A., A, A. G., K, A., Amegan, L., Palanga, K. K., Yanogo, P. K., Kouawo, Marianne, L. J., O, Sawadogo, B., Ouedraogo, F. D., Layibo, Y., Patassi, A., Halatoko, W. A., Simpore, J., &Bayaki 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 IntervalEpidemiology and Public Health*, 4(3), 1-16.

Fresno, S., Jimenez, N., &Canals, R. (2007). A second galacturonicacidtransferaseisrequired for core lipopolysaccharide biosynthesis and complete capsule association with the cell surface in *Klebsiella pneumoniae*. *Journal of Bacteriology*, 189(3), 1128–1137.

FOULAL, L., 2013. Profil Épidémiologique des Entérobactéries sécrétrices de bêta-lactamases à spectre élargi diagnostiquées au sein du laboratoire de Microbiologie du CHU de Rabat.

Florihana. (2022). *Fiche chromatographique de l'huile essentielle d'Ammi visnaga Khella (lot S281022MA)*.
https://www.florihana.com/uk/module/axproductattachments/export?file=FLE136S281022MA.pdf

G :

Grimont, F., &Grimont, P. A. D. (2006). The genus*Enterobacter*. In *Procaryotes* (pp. 197-214). Springer, New York.

Gundestrup, S., Struve, C., &Stahlhut, S. G. (2014). First case of liverabscess in Scandinavia due to the international hypervirulent*Klebsiella pneumoniae* clone ST23. *Open Microbiology*, 8, 22–24.

Guel-Gomez, M., Angulo-Zamudio, U. A., Leon-Sicairos, N., Flores-Villaseñor, H., Mendívil-Zavala, E., Plata-Guzmán, A., Martinez-Garcia, J. J., Angulo-Rocha, J., Ochoa-Espinoza, R.,

Crespo-Palazuelos, P., Bracamontes-Murillo, J., León-Ramírez, Á., Rodriguez-Ceceña, J. C., &Canizalez-Roman, A. (2023). Outbreak of *Serratia marcescens* in the Neonatal Intensive Care Unit of a Tertiary Care Hospital in Mexico. *[Nom du journal s'il est disponible]*, publié le 21 septembre 2023.

Goncharov, A. E., Solomenny, A. P., Panin, A. L., Grigorjev, S. E., Cheprasov, M. Yu., Akhremenko, Ya. A., Kolodzhieva, V. V., Goncharov, N. E., &Kraeva, L. A. (2021).Assessing Serratia spp. pathogenicpotentialfromcryogenic habitats.

H :

Hart, C. A. (2006). *Klebsiella*, *Citrobacter*, *Enterobacter* and *Serratia*spp.. In S. H. Gillespie & P. M. Hawkey (Eds.), *Principles and Practice of ClinicalBacteriology* (2nd ed., pp. 377–386). John Wiley and Sons Ltd.

Hendrichs, J., Pereira, R., &Vreysen, M. J. B. (2021). *Area-Wide Integrated Pest Management Development and Field Application*. 1st edition, p. 922.

Holt, K. E., Wertheim, H., Zadoks, R. N., et al. (2015). Genomicanalysis of diversity, population structure, virulence, and antimicrobialresistance in *Klebsiella pneumoniae*, an urgent threat to public health. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112, E3574-E3581.

Habibou, S. (2019). Prévalence des entérobactéries productrices de bêtalactamase à spectre élargi et/ou résistantes à l'imipenème au laboratoire de bactériologie-virologie du CHNU/FANN de 2015 à 2016.

Hussein, M.A., Omar, A., Moawad, A. (2018). Antibacterial and AntioxidantActivities of *Ammi visnaga* L. Essential Oil. *Indian Journal of Natural Products and Resources*, 9(4), 259-263.

HendAbdalla El-sayed Moustafa1, Amal Maher Ibrahim Hussein1, Lamiaa Gaber Zaki2, Gehan Ahmed El-shennawy1. Klebsiella pneumoniae:Morphologicalcharacteristics, Growth, cultural characters, Antigenic Structures, Virulence Factors and Vaccines Strategies. IJCBS, 24(10) (2023): 884-893 p 885

Hobson, C.A., Pierrat, G., Tenaillon, O., Bonacorsi, S., Bercot, B., Jaouen, E., Jacquier, H., Birgy, A., 2022. Klebsiella pneumoniae Carbapenemase Variants Resistant to Ceftazidime-Avibactam: an EvolutionaryOverview. Antimicrob. Agents Chemother. 66, e00447-22. https://doi.org/10.1128/aac.00447-22

Himed, L., Merniz, S., Barkat, M., 2016. Evaluation des activités antioxydante et antibactérienne de l'huile essentielle de Citrus limon (variété Lisbon) extraite par hydrodistillation

I :

Idris, A. (2016). MolecularEpidemiology and Mechanisms of Antimicrobial Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *World* Journal *of Microbiology and Biotechnology*, 32(4), 1–10.

Iabadene H, MessaiY,Ammari H et al. Prevalence of plasmid-mediatedAmpc β lactamases among Enterobacteriaceae in Algiers hospitals. International journal of Antimicrobial Agents, 2009, vol 34, p.340-342.

J:

Jajoo, M., Sharma, S., Nag, V.L., Kumar, R., Sharma, S. (2020). Extended-Spectrum Beta-Lactamase (ESBL) Production in *Enterobacteriaceae*IsolatedfromUrinary Tract Infections. *J Clin DiagnRes.*, 14(9), 1-6.

JoVE (2006.). *Peer Reviewed Scientific Video Journal - Methods and Protocols*. Disponible à : https://www.jove.com/(Consulté le 19 mai 2025).

Jauréguiberry, S., Duret, S., Gueneau, G., Talbot, S., Dupont, H., Gautier, J., Vayssier-Taussat, M. (2016). *Serratia marcescens*Isolatedfrom Patients withInfectiveEndocarditis in a French University Hospital. *J. Infect. Dis.*, 213(10), 1667–1675.

Janda, J. M., & Abbott, S. L. (2006). The Genera Klebsiella and Raoultella. TheEnterobacteria (2nd ed., pp. 115-129). Washington, USA : ASM Press.

Jorge Hendrichs, Rui Pereira and Marc J.B. Vreysen .Area-Wide IntegratedPestManagement Development and Field Application. First editionpublished 2021. p922

K:

Kus JV. Infections due to Citrobacter and Enterobacter☆. In: Reference Module in Biomedical Sciences [Internet]. Elsevier; 2014 [cité 21 févr 2021]. Disponible sur: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/B9780128012383050893

Karch, H., Reissbrodt, R., Höhne, M., Kist, M. (2000). *Klebsiella pneumoniae* Infections and TheirMolecularDiagnosis: A Review. *Diagnostic Microbiology and InfectiousDisease*, 38(3), 239–250.

Kaur, P., Sharma, M., Bansal, S., and Jain, A. (2020). Phytochemical Screening, Antibacterial Activity, and AntioxidantProperties of *Ammi visnaga* (L.) Lam. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 11(4), 1713-1722.

Kim, S.W., Lee, S.Y., Rhee, J.H., & Yoon, H. (2009). Antimicrobial Resistance Mechanisms of *Klebsiella pneumoniae* and RelatedSpecies. *Biochemical and BiophysicalResearch Communications*, 380(1), 1–4.

Kumar, M., Srivastava, M., Gupta, P., Yadav, R. (2020). *Serratia marcescens*: A Major Cause of Nosocomial Infections and ItsAntimicrobial Resistance Pattern. *Indian J. Med. Microbiol.*, 38(4), 546–550.

Khalfallah, A., Labed, A., Semra, Z., Kaki, B. A., Kabouche, A., Touzani, R., & Kabouche, Z. (2011). Antibacterial activity and chemical composition of the essential oil of ***Ammi visnaga*** L. (Apiaceae) from Constantine, Algeria. *International Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 1(3), 302–305. http://www.openaccessscience.com

Khalil, N., Bishr, M., Desouky, S., Salama, O., 2020. Ammi visnaga L., a potentialmedicinalplant: A review. Molecules 25, 301.

Kulkova, I., Wróbel, B., &Dobrzyński, J. (2024). Serratia spp. as plant growth-promotingbacteriaalleviatingsalinity, drought, and nutrientimbalance stresses.

Khayyat, A. N., Abbas, H. A., Khayat, M. T., Shaldam, M. A., Askoura, M., Asfour, H. Z., Khafagy, E.-S., Abu Lila, A. S., Allam, A. N., & Hegazy, W. A. H. (2021). Secnidazoleis a

promising imidazole mitigator of Serratia marcescens virulence. Published on November 11, 2021.

L:

Lavigne, J.P., L'Her, J., Pérès, M., Leroux, C., Pichard, F., et al. (2021). *Serratia marcescens* in Critically Ill Patients:RetrospectiveStudy. *Annals of Intensive Care*, 11(1), 34.

Liu, J., Shen, Z., Xu, X., & Liu, Y. (2015). First Report of *Serratia marcescens*Isolatedfrom Blood Cultures in a Tertiary Hospital in China. *Journal of ClinicalMicrobiology*, 53(8), 2681–2684.

Lehner A, Roger S, Fanning S, Iversen C. Enterobacter In:Moleculardetection of human bacterial pathogens.1er edition, 2011, p. 853-863

Lan, P., Jiang, Y., Zhou, J., Yu, Y., 2021. A global perspective on the convergence of hypervirulence and carbapenemresistance in Klebsiella pneumoniae. J. Glob. Antimicrob. Resist. 25, 26–34. https://doi.org/10.1016/j.jgar.2021.02.020

Liu, S., Fang, R., Zhang, Y., Chen, L., Huang, N., Yu, K., Zhou, C., Cao, J., Zhou, T., 2021. Characterization of resistancemechanisms of Enterobacter cloacae Complexco-resistant to carbapenem and colistin. BMC Microbiol. 21, 208. https://doi.org/10.1186/s12866-021-02250-x

Liu, Y., Lin, Y., Wang, Z., Hu, N., Liu, Q., Zhou, W., Li, X., Hu, L., Guo, J., Huang, X., 2021. Molecularmechanisms of colistinresistance in Klebsiella pneumoniae in a tertiary care teachinghospital. Front. Cell. Infect. Microbiol. 11, 673503.

Livrelli, V., De Champs, C., Di Martino, P., Darfeuille-Michaud, A., Forestier, C., Joly, B., 1996a. Adhesiveproperties and antibioticresistance of Klebsiella, Enterobacter, and Serratia clinicalisolatesinvolved in nosocomial infections. J. Clin. Microbiol. 34, 1963–1969. https://doi.org/10.1128/jcm.34.8.1963-1969.1996

Lockhart, S.R., Abramson, M.A., Beekmann, S.E., Gallagher, G., Riedel, S., Diekema, D.J., Quinn, J.P., Doern, G.V., 2007. Antimicrobial Resistance among Gram-NegativeBacilliCausing Infections in Intensive Care Unit Patients in the United States

between 1993 and 2004. J. Clin. Microbiol. 45, 3352–3359. https://doi.org/10.1128/JCM.01284-07

Larbi, F. (2020). Étude microbiologique des infections urinaires. Mémoire de Master, Université Saad Dahlab – Blida 1.

Disponible à l'adresse : https://di.univ-blida.dz/jspui/handle/123456789/7416

M:

McPhee, J., Pepi, R., Bobrov, A., Stempka, C., Verma, M., & Wong, T. (2013). The Incidence of *Klebsiella pneumoniae* in Diabetic and Non-Diabetic Patients in a Tertiary Care Hospital. *Journal of InfectiousDiseases and Public Health*, 6(1), 14-21.

Misra, M., Mahapatra, M., Barua, S., Gupta, S., & Roy, S. (2014). Microbiological Surveillance of *Klebsiella pneumoniae* Infections in an Intensive Care Unit. *Journal of Critical Care*, 29(1), 23-29.

Mandell D. (2009). Enterobacteriaceae. In : Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of InfectiousDiseases. 7th ed. Churchill Livingstone, An Imprint of Elsevier.

Morohoshi, T., Shiono, T., Takidouchi, K., Kato, M., Kato, N., Kato, J., & Ikeda, T. (2007). Inhibition of quorum sensing in Serratia marcescens AS-1 by syntheticanalogs of N-acylhomoserine lactone. Published on October 15, 2007.

Mahmmoud, E.N., 2020. Comparison of Preservation Methods of Staphylococcus aureus and Escherichia coli Bacteria. J. Pure Appl. Microbiol. 14, 2173–2180. https://doi.org/10.22207/JPAM.14.3.58

Malaquin-Pavan, E., 2018. Coordination scientifique : Pr Annelise LOBSTEIN.

Mgamat, F., Haida, S., Oubihi, A., El Ibaoui, H., Kribii, A., El Ayadi, R., Hmouni, D., 2024. Phytochemical Screening, Antimicrobial an Antioxidant Activity of Ammi visnaga L. Extracts. Ecol. Eng. Environ. Technol. 25.

Monnet, D.L., Biddle, J.W., Edwards, J.R., Culver, D.H., Tolson, J.S., Martone, W.J., Tenover, F.C., Gaynes, R.P., System, N.N.I.S., 1997. Evidence of interhospital transmission of

extended-spectrum β-lactam-resistant Klebsiella pneumoniae in the United States, 1986 to 1993. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 18, 492–498.

MORJAN, S., 2021. Les entérobactéries BLSE; étude phénotypique sur une période de trois ans à l'HMIMV.

Myrtéa Formations. (n.d.). Fiche aromathèque *: Ammi visnaga*. https://myrtea-formations.com/index.php?act=fiche&ind=111&mod=aromatheque

N:

Nawal, R., Naga, M., Suresh, M., & Prashant, K. (2020). Antimicrobial Resistance Pattern of *Enterobacteriaceae*IsolatesfromUrinary Tract Infections. *Journal of Global InfectiousDiseases*, 12(1), 33-38.

Nemati, M., Fadaei, R., &Shaterian, A. (2015). Identification of *Serratia marcescens* by PCR Method and Determination of ItsAntibiotic Resistance Pattern in ClinicalIsolates. *Journal of Pure and AppliedMicrobiology*, 9(3), 1855–1860.

Nithya, G., Ramesh, M., & Suresh, S. (2020). Prevalence of Antibiotic Resistance in *Klebsiella pneumoniae*IsolatedfromClinicalSamples. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 13(3), 1047-1053.

Narimisa, N., Goodarzi, F., Bavari, S., 2022. Prevalence of colistinresistance of Klebsiella pneumoniae isolates in Iran:asystematicreview and meta-analysis. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 21, 29. https://doi.org/10.1186/s12941-022-00520-8

Nedjai, S., Barguigua, A., Djahmi, N., Jamali, L., Zerouali, K., Dekhil, M., Timinouni, M., 2012. Prevalence and characterization of extendedspectrum β-lactamases in Klebsiella-Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. Médecine Mal. Infect. 42, 20–29.

O :

Overmeyer, A.J., Prentice, E., Brink, A., Lennard, K., Moodley, C., 2023. The genomiccharacterization of carbapenem-resistant*Serratia marcescens* at a tertiaryhospital in South Africa. JAC-Antimicrob. Resist. 5, dlad089. https://doi.org/10.1093/jacamr/dlad089

P:

Paray, A.A., Singh, M., Mir, M.A., Kaur, A., 2023. Gram staining:a brief review. Int. J. Res. Rev. 10, 336–341.

Perveen, N., Sood, S., & Sharma, S. (2019). Phytochemical and PharmacologicalStudies of *Ammi visnaga* L. - A Review. *Asian Journal of Pharmaceutical and ClinicalResearch*, 12(4), 45-50.

Prakash, S., Pandey, S., Verma, V. (2017). Bacterial Resistance of *Enterobacteriaceae* and Associated Mechanisms of Resistance in ClinicalIsolates. *ClinicalMicrobiology and Infection*, 23(2), 92-97.

Petrovska (2012). Historicalreview of medicinal plants′ usage. Pharmacognosy Reviews, 6(11), 1–. doi:10.4103/0973-7847.95849

Podschun, R., & Ullmann, U. (1998). Klebsiella spp. as Nosocomial Pathogens:Epidemiology, Taxonomy, Typing Methods, and PathogenicityFactors. ClinicalMicrobiologyReviews, 11(4), 589–603.

Pickering, C. J. Baker, D. W. Kimberlin& S. S. Long (Eds.), RED BOOK: 2009 REPORT OF THE COMMITTEE ON INFECTIOUS DISEASES (28th ed.,). Elk Grove Village, IL: American Academy of Pediatrics. Summaries of InfectiousDiseases. (2009). In L. Retrievedfrom online.statref.com/document.aspx?FxId=76&DocID=1&grpalias=

Paterson, D. L., Rossi, F., Baquero, F., Hsueh, P. R., Woods, G. L., Satishchandran, V., Snyder, T. A., Harvey, C. M., Teppler, H., &DiNubile, M. J. (2005). In vitro susceptibilities of aerobic and facultative Gram-negativebacilliisolatedfrom patients with intra-abdominal infections worldwide: the 2003 Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART). Journal of AntimicrobialChemotherapy, 55 (6), 965

R :

Rego, S.V., Banu, G., Harish, B., & Shenoy, S. (2021). Antimicrobial Resistance Profile of *Serratia marcescens*Isolatesfrom Patients withRespiratory Tract Infections. *Journal of ClinicalMicrobiology and InfectiousDiseases*, 35(7), 1155-1160.

R. Bonnet. (2004). Growing group of extended-spectrum ß-lactamases : the CTX-M enzymes.Antimicrobial agents and chemotherapy, 48(1): 1–14.

Romli, A., Derfoufi, O., Chbouki, O., Hajjam, Z. &Zouhdi, M. (2011). *Les entérobactéries* BLSE des infections urinaires : épidémiologie et résistance. Maroc Médical, 33(1).

Ríos J L.,&Recio M C.(2005) .Medicinal plants and antimicrobialactivity, Volume 100, Issues 1–2. 80-84.https://doi.org/10.1016/j.jep.2005.04.025.

Regue, M., Izquierdo, L., & Fresno, S. (2005). A second outer-coreregion in Klebsiella pneumoniae lipopolysaccharide. Journal of Bacteriology, 187(12), 4198–4206.

Rahal, M., 2021. Herbe aux cure-dents Ammi visnaga. Phytothérapie 19, 267.

S :

Singh, P., Pandey, P., & Rai, P. (2021). Antimicrobial Resistance in *Klebsiella pneumoniae*: A Review. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 10(8), 1–10.

Shay J., Elbaz, H. A., Lee, I., Zielske, S. P., Malek, M. H., &Hüttemann, M. (2015). MolecularMechanisms and TherapeuticEffects of (−)-Epicatechin and OtherPolyphenols in Cancer, Inflammation, Diabetes, and Neurodegeneration. OxidativeMedicine and Cellular Longevity. 1–13.

S.M. Deshmukhe, G. Karande, S.B.K. Sharma, S. Patil, R. Shinde, S. Pawar, H. Patil, P. Mane. (2022). Prevalence of ESBL in Klebsiella sp. AndItsAntibiotic Resistance Pattern fromVariousClinicalSamples in a Tertiary Care Hospital.

SaadeAbdalkareemJasim. PATHOGENIC BACTERIA Virulence and DiseasesBy Group of Iraqi Academics. Chapitre 4: Klebsiella spp. June 2022, P 78-81

T :

Tavares, M., Goli, L., Barros, S., & Almeida, A. (2020). Antibiotic Resistance in *Serratia marcescens*IsolatedfromClinicalSamples:Prevalence and Mechanisms. *Microorganisms*, 8(5), 722.

Thakur, S., Dadhich, S., & Sharma, N. (2021). Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing*Klebsiella pneumoniae* in ClinicalIsolates. *Indian Journal of Microbiology*, 61(1), 90-96.

Tavares-Carreon, F., De Anda-Mora, K., Rojas-Barrera, I. C., & Andrade, A. (2023). Serratia marcescensantibioticresistancemechanisms of an opportunisticpathogen: A literaturereview. Publié le 5 janvier 2023.

Tahiri, F.-E., Lalaoui, A., Rafi, H., Bennaoui, F., El Idrissi Slitine, N., Soraa, N., &RabouMaoulainine, F. M. (2023). Epidemic to differentstrains of Serratia:Experience of neonatal intensive care unit: About 30 cases. Open Journal of Pediatrics, 13(2), 311.**https://doi.org/10.4236/ojped.2023.132031**

V :

Villegas, M.V., & Hartman, B. (2020). Antimicrobial Resistance of *Klebsiella pneumoniae* in ICU Patients. *International Journal of InfectiousDiseases*, 94, 170–175.

Van Houdt, R., Givskov, M., & Michiels, C. W. (2007). Quorum sensing in Serratia. FEMS MicrobiologyReviews, 31(4), 407–424.https://doi.org/10.1111/j.1574-6976.2007.00071.x

Vance, M.K., Cretella, D.A., Ward, L.M., Vijayvargiya, P., Garrigos, Z.E., Wingler, M.J.B., 2023. Risk Factors for Bloodstream Infections Due to ESBL-Producing Escherichia coli, Klebsiella spp., and Proteus mirabilis. Pharmacy 11, 74. https://doi.org/10.3390/pharmacy11020074

W :

Wyres, KL · Lam, MM · Holt, KE Population genomics of Klebsiella pneumoniae Nature ReviewsMicrobiology. 2020 ;18 :344-359

Williams, D. J., Grimont, P. A. D., Cazares, A., Grimont, F., Ageron, E., Pettigrew, K. A., Cazares, D., Njamkepo, E., Weill, F.-X., Heinz, E., Holden, M. T. G., Thomson, N. R., &Coulthurst, S. J. (2022). The genus Serratia revisited by genomics.

X :

Xu, Y., Gu, B., Huang, M., Liu, H., Xu, T., Xia, W., Wang, T.,2015. Epidemiology of carbapenemresistant Enterobacteriaceae (CRE) during 2000-2012 in Asia.

Z :

Zong, Z., Xu, Y., & Zhou, H. (2014). Epidemiology and Mechanisms of Resistance in *Klebsiella pneumoniae*: A Global Challenge. *Journal of AntimicrobialChemotherapy*, 69(10), 2670–2678.

ZivkovicZaric, R., Zaric, M., Sekulic, M., Zornic, N., Nesic, J., Rosic, V., Vulovic, T., Spasic, M., Vuleta, M., Jovanovic, J., Jovanovic, D., Jakovljevic, S., &Canovic, P. (2023). Antimicrobialtreatment of Serratia marcescens invasive infections:Systematicreview

Annexes

Annexe 01 : Les milieux de cultures

→ **Milieu gélose nutritive (GN) :**

La gélose nutritive est un milieu simple utilisé pour la culture de nombreuses bactéries non exigeantes. Sa composition est la suivante :

Extrait de viande……1.0g
Pepto…….5.0g
Chlorure de sodium…..…….5.0g
Agar……..15.0g

→ **Milieu Chromagar Orientation (CHROMagar™):**

Le Chromagar Orientation est un milieu chromogène différentiel utilisé pour l'identification présomptive des entérobactéries et autres bactéries uropathogènes. Sa composition exacte est propriétaire (commerciale), mais contient typiquement :

Peptones (végétales et animales)….....……env. 10–20gSels minéraux……..…quantité variable
Substrats chromogènes……quantité non divulguée
Inhibiteurs sélectifs……..…quantité non divulguée
Agar……..env. 13–15g

→ **Milieu Hektoen Enteric Agar :**

La gélose Hektoen est un milieu sélectif et différentiel pour l'isolement des entérobactéries, sa composition est la suivante :

Hydrolysat de caséine……9.9g
Peptone…….……..9.0g
Extrait de levure……..……1.5g
Lactose……..……..12.0g
Saccharose……12.0g
Salicine……..……2.0g
Sels biliaires……..9.0g
Citrate de sodium…….…….1.5g
Thiosulfate de sodium……...5.0g
Sulfate ferrique ammoniacal……..…1.5g
Bleu de bromothymol……..……0.065g
Fuchsine acide…….…..…..0.1g
Agar……..……..13.5g

→ **Milieu Mac Conkey Agar :**

La gélose de Mac Conkey est un milieu sélectif utilisé pour l'isolement des Entérobactéries tel que groupe K.E.S, sa composition est la suivante :
Hydrolysat pancréatique de Gélatine……..17g
Lactose monohydrate……..10g
Chlorure de Sodium……5g
Peptone de viande et de caséine….3g
Sels biliaire……..…..1,5g
Rouge neutre…….……..0.03g
Cristal violet……..….0.001g
Agar bactériologique……13.5g

→ **Bouillon Mac Conkey :**

Le bouillon Mac Conkey est un milieu sélectif liquide utilisé pour l'isolement des entérobactéries et la détection de la fermentation du lactose. Sa composition est la suivante :

Peptone……..20.0g
Lactose monohydrate……..10.0g
Sels biliaires…….….5.0g
Rouge neutre……0.01g
Chlorure de sodium……..5.0g
Eau distillée……..……..1000ml

→ **Milieu Mueller-Hinton Agar:**

La gélose Mueller-Hinton est un milieu standardisé utilisé pour les antibiogrammes. Sa composition est la suivante:

Infusion de viande……300.0ml (déshydratée ≈ 2.0g)
Caséine hydrolysée……..17.5g
Amidon…….……..1.5g
Agar……..17.0g

→ **Bouillon Mueller-Hinton (Mueller-Hinton Broth):**

Utilisé également pour les tests de sensibilité, mais en milieu liquide. Sa composition est la suivante :

Infusion de viande……300.0ml (déshydratée ≈ 2.0g)
Caséine hydrolysée……..17.5g
Amidon…….……..1.5g

→ **Bouillon nutritif (BN):**

Le bouillon nutritif est un milieu liquide de base utilisé pour la culture de nombreuses bactéries non exigeantes. Sa composition est la suivante:

Extrait de viande……1.0g
Peptone……..5.0g
Chlorure de sodium……..5.0g
Eau distillée……..1000ml

Annexe 02 : Materiels

Appareillages :

- Un appareil d'hydrodistillation de type Clevenger, utilisé pour l'extraction des huiles essentielles, il se compose de trois compartiments essentiels :
    - Une chauffe ballon.
    - Un ballon en verre à fond rond de 1 litre.
    - Un réfrigérant.
- Autoclave 120°C.
- Balance électrique de précision.
- Etuve à 37°C.
- Plaque chauffante.
- Réfrigérateur (-20°C à 5°C).
- Agitateur.

Verrerie :

- Béchers.
- Erlenmeyer.
- Pipettes Pasteur.
- Tubes à essai.

Outils :

- Boites de Pétri de 6cm et 9cm.
- Microplaque de 96 puits.
- Bec Bunsen.
- Micropipette 1000µl.
- Micropipette 200µl.
- Pince.
- Portoirs.
- Disques en papier (Wattman n°4).
- Ecouvillons.
- Tubes Eppendorf.
- Disques d'antibiotiques.
- Galerie API 20E

- Eau distillée et eau physiologique.
- Seringue.
- Anse de platine.
- Lames et lamelles.
- Marqueur.
- Papier absorbant.

Colorants et réactifs :

- Réactifs pour API 20E (TDA, KOVAX, VP1, VP2, Nitrate 1, Nitrate 2).
- Cristal violet.
- Grammes d'iode (Lugol).
- Acétone ou alcool éthylique à 70 %.
- Safranine 0,25 % p/v ou diluée (1:10) Carbonylfuchsine.
- Huile de cèdre

Milieux de culture :

- Mueller Hinton (MH).
- Bouillon Nutritif (BN).
- Gélose Nutritive(GN).
- Chromagar.
- MacConkey.
- Hektoen.
- DMSO.