



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche
Scientifique

جامعة زيان عاشور الجلفة

Université Ziane Achour _Djelfa

كلية علوم الطبيعة و الحياة

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences Biologiques

قسم البيولوجيا



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de
Master académique en sciences biologiques
Spécialité : Microbiologie appliquée

THEME

Évaluation des pouvoirs antibactériens des extraits végétaux et de composés
de synthèse organique « *in vitro* » et « *in situ* » vis-à-vis de souches de
référence et d'isolement

Présenté par

MEBDOUA Maroua
AMRI Nadia

Soutenu le : 02 /07/ 2024 Devant le jury composé de :

A. KHAMKHAM	Univ. de Djelfa	Présidente
T. LAHRECHE	Univ. de Djelfa	Examineur
M. KACIMI ELHASSANI	Univ. de Djelfa	Encadreur
M. B. LAHRECH	Univ. de Djelfa	Invité
M. BOURAGBA	Univ. de Djelfa	Invité

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail en signe de reconnaissance, de respect et de dévouement avec un cœur plein d'humilité :

A mes très chers parents en reconnaissance à leurs divers sacrifices, à leurs précieux conseils, à leur soutien moral et à leurs encouragements, je les remercie du fond du cœur d'être présents pour moi.

A mes très chères Nour, Kaouthar et Sara ;

A mes très chers frères Youcef et Mahdi ;

A mes très chères Amies : Nadia, Ibtissem, Khaoula, Hanane et Imane ;

A tous les membres de ma famille ;

A mon très cher ami Demba Touré ;

A notre promoteur Mohamed KACIMI ELHASSANI pour sa guidance et ses précieux conseils

A tous ceux qui m'ont aidé et encouragé pour l'élaboration de ce modeste travail.

MEBDOUA Maroua

Je dédie ce travail :

Ma mère, qui a œuvré pour ma réussite, de par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils.

Mon père, qui peut être fier et trouver ici le résultat de longues années de sacrifices et de privations pour m'aider à avancer dans la vie.

À tous mes proches, et plus spécialement, mes sœurs et mes frères.

À tous mes chers amis et mes collègues.

Et à tous ceux qui m'ont enseigné le long de ma vie

Scolaire

AMRI Nadia

Remerciements

Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu « le tout Puissant » de nous avoir accordé la force et le courage afin de réaliser ce modeste travail.

Au terme de ce travail, nous tiens tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre promoteur Mohamed KACIMI ELHASSANI qui a accepté de nous encadrer et de nous suivre tout le long de nos travaux, de nous guider dans nos recherches, de nous consacrer beaucoup de son temps et de corriger ce manuscrit. Nous le remercions infiniment pour ses conseils judicieux et la confiance qui il nous accordées.

Nous voudrions également exprimer toute nos gratitude et nos remerciements à Mr Messaoud BOURAGBA, Mr Moukhtar Bouaalam LAHRECH, Mr Boudjmaa SAHEL et Mr Samir ABDELLAOUI pour leurs précieuses aides.

Nous remercions vivement les membres du jury :

Madame. KHAMKHAM, à l'Université de Djelfa, pour avoir accepté de présider le Jury
Monsieur T.LAHRECHE , Maître de conférences B à l'Université de Djelfa, d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Nos sincères remerciements iront également à Monsieur Messaoud BOURAGBA d'avoir fourni les souches bactériennes de notre étude.

Nous tenons à exprimer également nos reconnaissances à tous nos enseignants des différents niveaux d'étude qui nous ont formées.

Nous voudrions exprimer nos remerciements à toute personne que nous avons peut-être oublier de citer et qui nous aurait aidé ou contribué à la réalisation de cette mémoire.

Enfin, pour leur soutien sans faille et permanent, nous tenons à remercier de tout cœur nos parents.

Merci

RESUME

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits végétaux et des composés synthétiques, tant "*in vitro*" qu' "*in situ*", vise à analyser leur efficacité contre diverses souches bactériennes. Dans un cadre "*in vitro*", ces tests sont menés en laboratoire, sont appliquées sur des souches de référence tel que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (bactéries standards connues pour leur sensibilité ou résistance) et une souche isolée *Staphylococcus aureus* (cliniques, environnementaux, etc.) pour mesurer leur impact sur la croissance bactérienne.

Nous avons observé une possible divergence dans les zones d'inhibition. *E.coli* a montré des résultats similaires entre les antibiotiques et les extraits de plantes, tandis que d'autres souches bactériennes ont montré de meilleures zones d'inhibition avec les extraits de plantes par rapport aux antibiotiques. Les meilleures zones d'inhibition ont été obtenues avec l'extrait E3.

Dans un cadre "*in situ*", les évaluations sont réalisées dans des conditions naturelles ou similaires à celles de l'application réelle.

Les étapes clés de cette évaluation comprennent la préparation des extraits et des composés de synthèse organique, la sélection des souches bactériennes appropriées, la mise en place des tests dans des conditions contrôlées ou réelles, ainsi que l'analyse détaillée des résultats obtenus. Cette démarche est cruciale pour le développement d'agents antimicrobiens nouveaux, la compréhension de leurs mécanismes d'action, ainsi que leur application pratique dans des secteurs tels que la médecine, l'agroalimentaire et la conservation des matériaux.

Mots clés : activité antibactérienne, extraits végétaux, produits naturels, CCM, Multirésistance

.

SUMMARY

The evaluation of the antibacterial activity of plant extracts and synthetic compounds, both "*in vitro*" and "*in situ*", aims to analyse their effectiveness against various bacterial strains. In an "*in vitro*" setting, these tests are conducted in the laboratory, are applied to reference strains such as *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* (standard bacteria known for their susceptibility or resistance) and an isolated strain *Staphylococcus aureus* (clinical, environmental, etc.) to measure their impact on bacterial growth.

We observed a possible divergence in the areas of inhibition. *E.coli* showed similar results between antibiotics and plant extracts, while other bacterial strains showed better areas of inhibition with plant extracts compared to antibiotics. The best areas of inhibition were obtained with the E3 extract.

In an "*in situ*" setting, the evaluations are carried out under natural or similar conditions to those of the actual application.

The key steps in this evaluation include the preparation of extracts and organic synthetic compounds, the selection of appropriate bacterial strains, the implementation of the tests under controlled or real conditions, as well as the detailed analysis of the results obtained. This is crucial for the development of novel antimicrobial agents, the understanding of their mechanisms of action, and their practical application in sectors such as medicine, agri-food and materials preservation.

Keywords: antibacterial activity, plant extracts, natural products, CCM, Multi-resistance.

ملخص

يهدف تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للمستخلصات النباتية والمركبات الاصطناعية ، سواء "في المختبر" أو "في الموقع" ، إلى تحليل فعاليتها ضد السلالات البكتيرية المختلفة. في بيئة "في المختبر" ، يتم إجراء هذه الاختبارات في المختبر ، ويتم تطبيقها على سلالات مرجعية مثل الإشريكية القولونية والمكورات العنقودية الذهبية والزائفة الزنجارية (البكتيريا القياسية المعروفة بقابليتها للتأثر أو مقاومتها) وسلالة معزولة المكورات العنقودية الذهبية (السريية والبيئية وما إلى ذلك) لقياس تأثيرها على نمو البكتيريا.

لاحظنا اختلافا محتملا في مجالات التثبيط. أظهرت الإشريكية القولونية نتائج مماثلة بين المضادات الحيوية والمستخلصات النباتية ، بينما أظهرت السلالات البكتيرية الأخرى مناطق تثبيط أفضل مع المستخلصات النباتية مقارنة بالمضادات الحيوية. تم الحصول على أفضل مناطق التثبيط باستخدام مستخلص E3.

في بيئة "في الموقع" ، يتم إجراء التقييمات في ظل ظروف طبيعية أو مماثلة لظروف التطبيق الفعلي.

تشمل الخطوات الرئيسية في هذا التقييم تحضير المستخلصات والمركبات الاصطناعية العضوية ، واختيار السلالات البكتيرية المناسبة ، وتنفيذ الاختبارات في ظل ظروف خاضعة للرقابة أو حقيقية ، بالإضافة إلى التحليل التفصيلي للنتائج التي تم الحصول عليها. وهذا أمر بالغ الأهمية لتطوير عوامل جديدة مضادة للميكروبات ، وفهم آليات عملها ، وتطبيقها العملي في قطاعات مثل الطب والأغذية الزراعية وحفظ المواد.

الكلمات المفتاحية: النشاط المضاد للبكتيريا ، المستخلصات النباتية ، المنتجات الطبيعية ، متعدد المقاومة ، CCM.

Liste des Figures

Figure 1 Les différentes classes d'antibiotiques et leurs cibles (adapté de « Ch. 1 Introduction - »	03
Figure 2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques (créé avec BioRender.com)	05
Figure 3 Aperçu schématique des tests de sensibilité aux antimicrobiens et des antimicrobiens	06
Figure 4 Exemple des milieux de culture préparés au niveau du laboratoire « MH; GN» (Photo Originale ,2024).	18
Figure 5 Ensemencement les cinq souches bactériennes (Photo Originale ,2024).	19
Figure 6 Préparation de la suspension bactérienne (Photo Originale ,2024).	20
Figure 7 Standardisation des suspension bacterienne par un témoin 0,5 McFarland (Photo Originale, 2024).	20
Figure 8 Mesure de la densité optique (DO) par un spectrophotomètre (Photo Originale, 2024).	21
Figure 9 Ensemencement de suspension à la surface du milieu à l'aide d'une pipette râteau (Photo originale ,2024).	22
Figure 10 Application des disques d'antibiotiques et les disques des extraits (Photo Originale ,2024).	23
Figure 11 Incubation des boîtes de Pétri dans l'étuve à 37°C pendant 24 h (Photo Originale ,2024)	24
Figure 12 Etapes expérimentales.	25
Figure 13 Méthode de CCM pour l'évaluation des extraits végétaux et des composés organiques synthétiques en tant qu'agents antibactériens	26
Figure 14 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche Escherichia coli (Photo Originale ,2024).	28
Figure 15 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche Pseudomonas aeruginosa (Photo Originale ,2024).	29
Figure 16 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche Staphylococcus aureus. (Photo Originale 2024).	29
Figure 17 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche Staphylococcus aureus isolat. (Photo Originale 2024).	30
Figure 18 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche Escherichia coli (Photo Originale, 2024).	31
Figure 19 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche Pseudomonas aeruginosa (Photo Originale, 2024).	32
Figure 20 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche Staphylococcus aureus. (Photo Originale, 2024).	32
Figure 21 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche Staphylococcus aureus isolat. (Photo Originale, 2024).	33

Liste des Tableaux

Tableau 1 Description des souches utilisé (DAOUDI Yacine et DAOUDI Smail, 2018; Fawzia BEDDOU, 2015)	17
Tableau 2 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'antibiogramme	28
Tableau 3 Normes de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens (en mm) (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2023) (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2024)	30
Tableau 4 Interprétations des antibiogrammes selon le Ø des zones d'inhibitions	31
Tableau 5 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par aromatoگرامme	Error! Bookmark not defined.
Tableau 6 Norme de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens des extraits (en mm)	Error! Bookmark not defined.
Tableau 7 Interprétations des aromatoگرامmes selon le Ø des zones d'inhibitions	Error! Bookmark not defined.
Tableau 8 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'activité antimicrobienne des extraits de Berberis vulgaris.(Mezouar et al., 2014)	Error! Bookmark not defined.
Tableau 9 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'activité antimicrobienne des extraits pour Pseudomonas aeruginosa	Error! Bookmark not defined.

Liste des abréviations

FDA: Food and Drug Administration

NP : Produits Naturels

AST : Antimicrobial Susceptibility Testing

AmpC : adénosine monophosphate-Cyclique

CMI : la Concentration Minimale Inhibitrice

RAM : La Résistance aux AntiMicrobiens

EUCAST : Comité Européen de Tests de Sensibilité aux Antimicrobiens

CLSI : Institut des Standards Cliniques et de Laboratoire

MF : McFarland

MH : gélose de Mueller-Hinton

GN : gélose nutritive

AMP : Ampicilline

AMC : Amoxicilline + acide calvulanique

IMP : Impenem

FOX : Céfoxitine

CTX : céfotaxime

GEN : Gentamicine

NA : Nolidixic Acide

P10 : Péniciline

THFO :

THF3 :

THAL :

MA1 :

MA2: E1: P2: ST1 CHCL3

E2: N-BUTANOUL+DMSO: ST2-S2-P2

E3: TH M23

E4: FCO3+DMSO

(1) : Extrait de *Berberis vulgaris* macérés aqueux

(2) : Extrait de *Berberis vulgaris* macérés méthanolique

(3) : Extrait de *Berberis vulgaris* macérés butanolique

(4) : Extrait de *Berberis vulgaris* macérés acétate d'éthyle (5) : Extrait de *Berberis vulgaris* sous reflux aqueux

(6) : Extrait de *Berberis vulgaris* sous reflux méthanolique

(7) : Extrait de *Berberis vulgaris* sous reflux butanolique

(8) : Extrait de *Berberis vulgaris* sous reflux acétate d'éthyle

(9) : Extrait de *Berberis vulgaris* sous reflux alcaloïdes

FPHA : Extrait aqueux des feuilles de *Peganum harmala*

FPHE : Extrait éthanolique des feuilles de *Peganum harmala*

FPHH : Extrait hexanique des feuilles de *Peganum harmala*

TIA : *Thymus inodorus* aqueux

SSD : *Sterculia setigera* Dclile

ASD: *Acacia seyal* Del

ALG : *Anogeissus leiocarpa* (DC.) Guill. & Perr

CMA : l'extrait aqueux de *C.monogyna*

CLA : l'extrait aqueux de *C.laciniata*

AV : *A. verticillata*

OG : *O. glandulosum*

TC : *T. capitata*

CM: *C. munbyi*

TL: *T. lanceolatus*

ZI : Zone d'inhibition

ETA : Extrait Total aqueux des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers (*Annonaceae*)

EE 70% : Extrait éthanolique 70% des feuilles d'*Annona senegalensis* Pers (*Annonaceae*)

DO : la Densité Optique

CASFM : Comite d'Antibiogramme de la Société Françaises de Microbiologie

S : Sensible

R : Résistante

I : Sensibilité Intermédiaire

CCM : Chromatographie sur couche mince

μL : micro litre

ml : milli litre

nm : Nanomètre

ATCC : American Type Culture Collection

Sommaire

Antibiotiques :	19
Mode d'action des antibiotiques	19
Résistance aux antimicrobiens	21
Marché mondial des antibiotiques	23
Probiotiques	25
1. L'antibiogramme Standard	26
2. L'antibiogramme Automatisé	28
Limites des antibiogrammes	29
Mesure de la zone d'inhibition et la relation entre la zone d'inhibition et la CMI	29
<i>Française de Microbiologie, 2024 ; Francis et al., 2019; Tascini et al., 2016</i>) Critères de catégorisation des souches	29
MTT	31
1. Matériel de laboratoire	33
Appareillage	33
Petit matériel	33
Extraits végétaux :	33
Matériel biologique :	33
Produits chimiques	34
Milieux de culture	35
Repiquage des souches bactériennes	35
1 Préparation de la suspension bactérienne	36
2 Détermination de la concentration de suspension bactérienne	37
3 Ensemencement	38
4 Antibiogramme par diffusion en milieu de culture	39
4.1 Préparation des disques des extraits	39
4.2 Choix des antibiotiques	39
4.3 Test de l'activité antibactérienne et incubation :	40
4.4. Lecture et interprétation	41
5 Chromatographie sur couche mince (CCM)	42
CHAPITRE 3	44
3.1 Résultats de l'antibiogramme	45
Interprétation de l'antibiogramme	47
3.2 Résultats de l'aromatogramme	48
Discussion	50

1. Matériel de laboratoire	15
Appareillage	15
Petit matériel	15
Extraits végétaux :	15
Matériel biologique :	15
Produits chimiques	16
Milieux de culture	17
Repiquage des souches bactériennes	18
1 Préparation de la suspension bactérienne	18
2 Détermination de la concentration de suspension bactérienne	19
3 Ensemencement	20
4 Antibiogramme par diffusion en milieu de culture	21
4.1 Préparation des disques des extraits	21
4.2 Choix des antibiotiques	21
4.3 Test de l'activité antibactérienne et incubation :	22
4.4. Lecture et interprétation	23
5 Chromatographie sur couche mince (CCM)	24
3.1 Résultats de l'antibiogramme	27
Interprétation de l'antibiogramme	30
3.2 Résultats de l'aromatogramme	30
32 Interprétations d'aromatogramme	32
Discussion.....	33

Introduction

Intoduction :

Les infections bactériennes sont causées par différents micro-organismes et sont la cause des maladies les plus fatales et des épidémies les plus répandues.

Un antibiotique est une substance antibactérienne produite par des micro-organismes (champignons et bactéries) ou de synthèse chimique capable d'inhiber la multiplication ou détruire les microorganismes.

De nombreux antibiotiques sont développés dans le but de lutter contre les infections bactériennes, cependant leur utilisation abusive est à l'origine de l'apparition de la multirésistance bactérienne. **(Yala 2001)**.

La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui constitue un problème de santé important à l'échelle mondiale.

Le développement de la résistance aux antibiotiques est devenu au cours de la dernière décennie, aux plans international, une préoccupation majeure en termes de santé humaine et animale. En effet, cette évolution remet en question l'efficacité des médicaments et peut aggraver le pronostic de certaines maladies infectieuses, avec des conséquences sociales et économiques importantes **(Guillot, 2014)**

La préservation de leur efficacité pour le traitement des maladies est un défi majeur en santé publique pour les années à venir, tant les espoirs sont faibles de voir apparaître de nouvelles familles d'antibiotiques dans un futur proche **(Genet, 2018)**, d'où l'importance d'orienter les recherches vers de nouvelles voies, notamment les végétaux qui ont toujours constitué une source d'inspiration de nouveaux médicaments **(Keita et al., 2004)**.

Les plantes ont l'aptitude de synthétiser de nombreux composés appelés métabolites secondaires et constituent donc un immense réservoir de composés d'une grande diversité chimique, possédant un large éventail d'activités biologiques **(Haddouchi et al., 2016 ;**

Erenler et al., 2019) et qui jouent un rôle important dans la santé humaine. Leur utilisation comme antimicrobiens naturels suscite de plus en plus d'intérêt pour la prévention et le traitement de plusieurs pathologies (**Tanoh et al., 2019**)

De ce fait, l'exploitation de nouvelles molécules bioactives ayant des effets secondaires limités ou inexistantes depuis des sources naturelles et leur adoption comme une alternative thérapeutique aux molécules synthétiques sont devenues des objectifs prioritaires pour les recherches scientifiques.

Il est dans cette optique que s'inscrit le présent travail qui se propose de répondre aux besoins du laboratoire de Chimie organique et substances naturelles par l'évaluation des pouvoirs antibactériens potentiels des extraits végétaux et de composés de synthèse organique.

Le présent travail s'articule sur trois parties :

- Une synthèse bibliographique des antibiotiques et des techniques d'évaluation du pouvoir antibactérien,
- Une partie expérimentale dans laquelle seront décrites les techniques utilisées pour estimer les pouvoirs antibactériens des extraits étudiés.
- Et une dernière partie qui étalera la discussion des résultats expérimentaux obtenus.

Chapitre 01

Antibiotiques :

Le terme « antibiotique » dérive du mot « antibiose », qui signifie littéralement « contre la vie »(Etebu & Ariekpar, 2016). L'adjectif antibiotique, du grec anti (contre) et biotikos (concernant la vie), a été employé pour la première fois en 1889.(MUYLAERT A, 2012)

Les antibiotiques font partie des « antimicrobiens », un groupe qui inclut également les médicaments antifongiques, antiparasitaires et antiviraux.(Adzitey, 2015). Les médecins utilisent les antibiotiques pour éliminer les bactéries ou traiter les infections bactériennes, mais ces médicaments ne sont pas efficaces contre les maladies causées par des virus. Les antibiotiques se divisent en deux catégories : les bactéricides, qui tuent les bactéries, et les bactériostatiques, qui ralentissent leur croissance.(Adzitey, 2015)

L'utilisation des antibiotiques comme médicaments pour les humains et les animaux est relativement récente dans l'histoire moderne, datant d'environ 70 ans(Sanders et al., 2011). La première utilisation de la pénicilline a eu lieu en 1941(Etebu & Ariekpar, 2016; Trémolières et al., 2006). Ce progrès a été couronné en 1945 par l'attribution du Prix Nobel à Fleming, Chain et Florey.(Kerr, 2005; Trémolières et al., 2006)

Aujourd'hui, les antibiotiques sont répartis en 15 familles selon leur mécanisme d'action contre les bactéries et leur structure moléculaire. Parmi les groupes d'antibiotiques les plus courants, on trouve ceux qui agissent sur la synthèse de la paroi cellulaire, ceux qui inhibent la synthèse des protéines, ainsi que ceux qui perturbent les voies métaboliques (C Reygaert & Department of Biomedical Sciences, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA, 2018).

Mode d'action des antibiotiques

Le mode d'action d'un antibiotique est lié à sa structure chimique. En général, chaque classe d'antibiotiques cible un site spécifique dans la cellule microbienne. Selon la famille d'antibiotiques, le mécanisme d'action peut consister à :

- Inhiber la synthèse du peptidoglycane, composant essentiel de la paroi bactérienne, comme c'est le cas des β -lactamines, des pénicillines, des céphalosporines, de la fosfomycine et de la vancomycine ;

- Inhiber la synthèse des protéines bactériennes, ce que font les aminoglycosides, les macrolides et leurs dérivés, les phénicolés et les tétracyclines ;
- Inhiber directement ou indirectement la synthèse des acides nucléiques, comme les quinolones et les sulfamides, entre autres.
- Rupture de la structure ou de la fonction de la membrane cellulaire
- Blocage des voies métaboliques

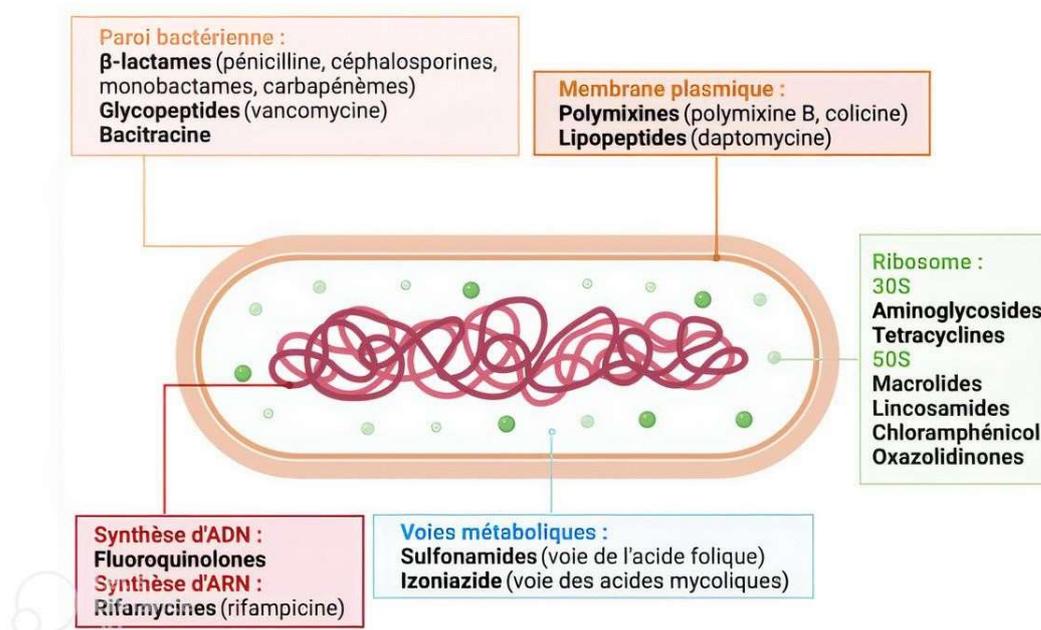


Figure 1 Les différentes classes d'antibiotiques et leurs cibles (adapté de « Ch. 1 Introduction -.

Représentation schématisée d'une bactérie. La paroi bactérienne est représentée par un trait orange épais, la membrane bactérienne par un trait fin orange. Les traits rouges symbolisent l'ADN génomique. Les billes vertes représentent les ribosomes.

Étant essentiel à la vie microbienne et différent de ses homologues eucaryotes, le ribosome bactérien constitue une cible majeure pour les antibiotiques. (Etebu & Ariekpar, 2016; Leroy, 2022; Sabrina, 2018)

Résistance aux antimicrobiens

La résistance aux antimicrobiens (RAM) est la capacité d'un micro-organisme à résister à l'action d'un ou de plusieurs agents antimicrobiens. Les conséquences de la RAM peuvent être graves, et un traitement rapide avec des antimicrobiens efficaces est crucial pour réduire le risque de complications graves liées aux infections. La RAM représente aujourd'hui l'une des plus grandes menaces pour la santé publique. Elle peut se manifester chez différents types de micro-organismes, y compris les champignons, les parasites, les virus et les bactéries. Chez les bactéries, la résistance acquise est causée par des mutations dans les gènes chromosomiques ou par l'acquisition de gènes de résistance exogènes, véhiculés par des éléments génétiques mobiles qui peuvent se propager horizontalement entre les bactéries. Les bactéries peuvent développer plusieurs mécanismes de résistance, devenant ainsi résistantes à divers agents antimicrobiens. **(European Centre for Disease Prevention and Control. & World Health Organization., 2023)**

Mécanismes de résistance aux antibiotiques Les antibiotiques ciblent la lyse de la paroi cellulaire ou de la membrane bactérienne ou entravent les processus essentiels liés au métabolisme (synthèse des protéines) et à la réplication (synthèse des acides nucléiques). Par conséquent, les antibiotiques doivent atteindre le cytoplasme de la bactérie, sans être détruits ou modifiés, se fixer sur une cible et perturber la physiologie bactérienne. Le phénomène RAM, dû à la pression sélective, stoppe ces fonctions antibiotiques. Il peut être intrinsèque (trait inné) ou acquis **(C Reygaert & Department of Biomedical Sciences, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA, 2018; Pch03272.Pdf, n.d.; Renard, 2023; Tascini et al., 2016; Zinner, 2007)**

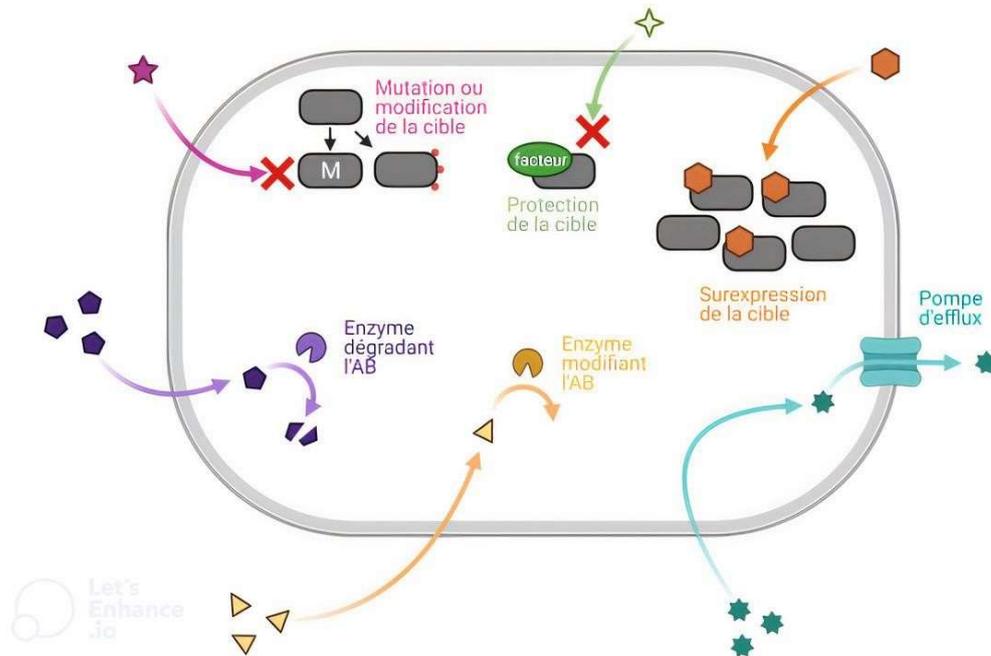


Figure 2 Mécanismes de résistance aux antibiotiques (créé avec BioRender.com)

- 1) Diminution des concentrations intracellulaires d'antibiotiques soit par des changements de perméabilité membranaire (macrolides ou antibiotiques β -lactamines), soit par une pompe d'efflux active qui élimine l'antibiotique du cytoplasme des cellules bactériennes (antibiotiques (fluoro) quinolones). Certaines pompes d'efflux ont une spécificité de substrat étroite (par exemple, les pompes Tet), mais beaucoup transportent une large gamme de substrats antibiotiques structurellement dissemblables et sont connues sous le nom de pompes d'efflux MDR.(Mainardi, 2015; Renard, 2023)
- 2) Inactivation enzymatique soit par destruction (β -lactamases), soit par modification de l'antibiotique empêchant sa fixation au site cible (aminosides et chloramphénicol). (Hage, 2019; MUYLAERT A, 2012)
- 3) Altération du site cible de l'antibiotique (par exemple, la protéine de liaison à la pénicilline) afin qu'il ne se lie pas à la cellule bactérienne. Un large éventail d'antibiotiques a été impliqué dans ce mécanisme, notamment les bêta-lactamines, les macrolides, les tétracyclines, les fluoroquinolones, les aminoglycosides, les sulfamides et la vancomycine.(Hage, 2019)
- 4) La protection de la cible de l'antibiotique est un mode de résistance observé chez les tétracyclines, ainsi que plus récemment chez les quinolones et les fluoroquinolones. Ce

mécanisme implique huit protéines de protection ribosomiale qui confèrent une résistance aux tétracyclines en empêchant leur fixation sur le ribosome grâce à la création d'un encombrement stérique. (MUYLAERT A, 2012; Renard, 2023)

5) Destruction du médicament : Les médicaments β -lactamines, tels que la pénicilline, les céphalosporines, les céphamycines, les monobactames et les carbapénèmes, sont parmi les agents antimicrobiens les plus utilisés. Ces médicaments partagent une structure commune en cycle bêta-lactame à quatre chaînons. Les bêta-lactames sont des enzymes qui confèrent une résistance aux antibiotiques bêta-lactamines en hydrolysant le cycle bêta-lactamines, empêchant les antibiotiques de se lier aux protéines de liaison à la pénicilline (PBP) et annulant ainsi leur activité antibactérienne. (Bush & Bradford, 2016; Uddin et al., 2021; Van Belkum et al., 2020)

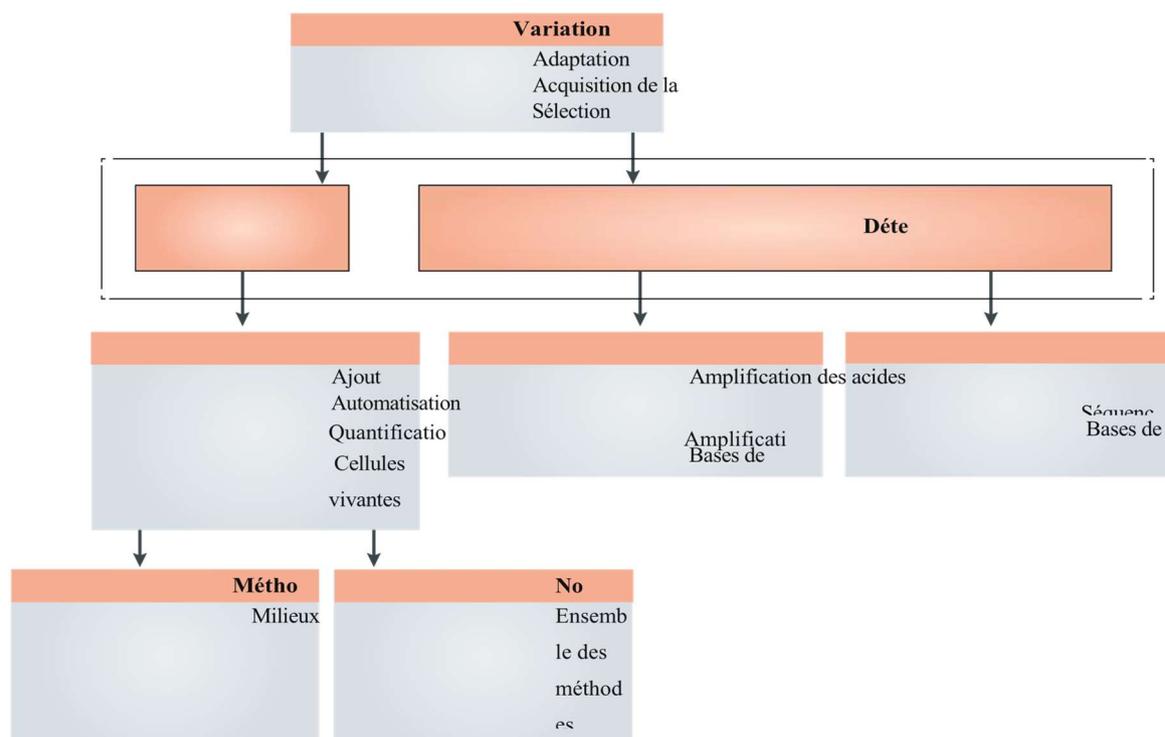


Figure 3 Aperçu schématique des tests de sensibilité aux antimicrobiens et des antimicrobiens

Marché mondial des antibiotiques :

Dans les pays en développement, les maladies infectieuses restent les principales causes de morbidité et de mortalité. Cette situation pourrait expliquer la forte utilisation des antibiotiques

dans ces régions. Une des raisons de la propagation excessive des antibiotiques est leur accessibilité sans prescription médicale, malgré l'illégalité de cette pratique.

Dans cette étude, nous avons analysé les tendances et les moteurs de la consommation d'antibiotiques de 2000 à 2015 dans 76 pays et projeté la consommation mondiale d'antibiotiques jusqu'en 2030. Entre 2000 et 2015, la consommation d'antibiotiques, mesurée en doses journalières définies (DDD), a augmenté de 65 % (passant de 21,1 à 34,8 milliards de DDD), et le taux de consommation d'antibiotiques a augmenté de 39 % (passant de 11,3 à 15,7 DDD pour 1 000 habitants par jour). Cette augmentation a été principalement observée dans les pays à revenu faible et intermédiaire. Dans les pays à revenu élevé, bien que la consommation globale ait légèrement augmenté, le taux de consommation quotidien par 1 000 habitants a diminué de 4 %. **(Le Figaro et AFP agence, 2018)**

Dans notre condition de référence, où nous supposons l'absence de changements politiques et des taux de consommation d'antibiotiques constants, l'utilisation mondiale des antibiotiques devrait augmenter de 15 % entre 2015 et 2030. Si tous les pays continuent à augmenter leurs taux de consommation d'antibiotiques. **(Data Bridge Market Research, 2022)**

L'Amérique du Nord domine le marché de la production d'antibiotiques, en raison du nombre croissant de personnes âgées et de l'adoption de technologies médicales innovantes.

Parmi les principaux acteurs du marché de la production d'antibiotiques, on trouve :

- Abbott (États-Unis)
- F. Hoffmann-La Roche SA (Suisse)
- Allergan (Irlande)
- Amgen Inc. (États-Unis)
- GSK SA (Royaume-Uni)
- Merck Sharp & Dohme Corp. (États-Unis)
- Novartis SA (Suisse)
- Pfizer Inc. (États-Unis)
- Johnson & Johnson Private Limited (États-Unis)
- Mylan SA (États-Unis)
- Teva Pharmaceutical Industries Ltd (États-Unis)
- Sanofi (France)

(Data Bridge Market Research, 2022)

Probiotiques

La notion de probiotique a émergé au début du XXe siècle grâce aux travaux d'Elie Metchnikoff. Les probiotiques approuvés contiennent généralement un nombre limité de bactéries bénéfiques, souvent seulement quelques souches ou même une seule. Ces souches sont sélectionnées en raison de leur efficacité démontrée dans le traitement de maladies spécifiques. Les bactéries vivantes colonisent l'intestin, contribuent à l'équilibre du microbiome et ont des effets bénéfiques spécifiques. **(Probiotiques, Prébiotiques et Le Microbiome, 2024; Seguès, 2020)**

Types de probiotiques :

Les probiotiques proviennent de diverses sources, notamment des bactéries (comme *Bacillus cereus*, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*, et *Streptococcus*), des levures (telles que *Saccharomyces cerevisiae*, *Saccharomyces boulardii*, et *Candida*), et des champignons (comme *Aspergillus*). Ils peuvent être isolés de l'intestin humain et animal, ainsi que de produits fermentés, bien que la majorité ait une origine intestinale. Des sources non conventionnelles de probiotiques incluent *L. plantarum* et *Leuconostoc mesenteroides*, isolés de fruits et légumes. Chez les poulets, les levures (*Saccharomyces boulardii*) et les bactéries (*Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Pediococcus*, *Bacillus*) sont couramment utilisées. Récemment, l'attention s'est portée sur l'utilisation des bactéries lactiques en tant que probiotiques en raison de leur adaptation naturelle à l'environnement intestinal. **(Hage, 2019)**

Dans les pays du Moyen-Orient, divers aliments fermentés contenant des matières premières telles que le blé précuit, l'ail, le persil et les olives sont riches en bactéries lactiques (LAB) et peuvent être examinés pour leur potentiel probiotique. De plus, plusieurs boissons fermentées traditionnelles non lactières, fabriquées à partir de céréales, millets, légumineuses, fruits et légumes, sont de bonnes sources de probiotiques. Ces boissons incluent le Boza, le Pozol, le Bushera, le Mahewu et le Togwa, consommées en Europe, Amérique et Afrique.

Les céréales sont une source nutritionnelle riche en protéines, glucides, vitamines, minéraux et fibres solubles, agissant comme prébiotiques. Par exemple, des isolats de *Lactobacillus plantarum* ont été extraits de Boza, une boisson fermentée turque. Ces isolats produisent des substances (acides organiques et peroxyde d'hydrogène) qui combattent des bactéries pathogènes telles que *Listeria*, *Bacillus*, *Yersinia*, *E. coli*, *Pseudomonas*, *Salmonella* et *Klebsiella*.

De plus, Oluwajoba et al. ont isolé des LAB probiotiques de Kunu-zaki, une boisson nigériane traditionnelle faite de sorgho et millet non germés. Ces LAB, identifiés principalement comme

des espèces de *Lactobacillus*, montrent une résistance à un pH de 3 et à 3 % de bile, et possèdent une activité antimicrobienne contre *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* et *E. faecalis*. (Sornplang & Piyadeatsoontorn, 2016)

Méthodes d'évaluation du pouvoir antibactérien :

L'antibiogramme :

a) Définition :

L'antibiogramme est un test biologique réalisé en laboratoire qui évalue la sensibilité ou la résistance d'une bactérie à divers antibiotiques. Ce test guide la thérapie antimicrobienne empirique et contribue à réduire la morbidité et la mortalité selon la gravité des infections bactériennes. L'antibiogramme est un test prédictif et de croissance, entièrement artificiel et complexe, nécessitant une interprétation obligatoire et ayant un impact variable. Les résultats de ce test intéressent plusieurs destinataires. (Maïa SIMON, 2022; Truong et al., 2021) La réalisation de l'antibiogramme doit suivre les recommandations annuelles du CASFM concernant le choix des antibiotiques à tester en fonction de la bactérie concernée. (Croize et al., 2007)

b) Les types :

1. L'antibiogramme Standard

Le test de sensibilité par disque a donc été la principale méthode pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques et surveiller la résistance. La méthode de disque utilisée actuellement dans la plupart des laboratoires au Royaume-Uni est la « méthode Stokes modifiée », améliorée depuis les années 1950. (Kerr, 2005)

En 1952, Gould et Bowie ont développé une méthode de diffusion sur gélose permettant de tester plusieurs concentrations d'un même antibiotique sur une même gélose. En 1955, Stokes a introduit une méthode, portant son nom, utilisée pendant plusieurs années en Europe, qui permettait de tester un organisme contrôle de la même espèce ou d'une espèce similaire à l'organisme à tester sur une même gélose. Récemment, des efforts ont été faits pour standardiser cette méthode, incluant des directives plus détaillées sur la méthode et l'interprétation des zones d'inhibition, ainsi que la lecture semi-automatisée avec une caméra numérique connectée à l'ordinateur du laboratoire. (de Rohello, 2020)

Les avantages :

Cette méthode offre plusieurs avantages significatifs :

- Traitement uniforme des échantillons : Elle assure des conditions égales pour la souche contrôle et la souche à tester, garantissant ainsi des résultats fiables en termes de milieu, temps d'incubation, atmosphère, température et contenu des disques.

Détection de mécanismes associés : Elle permet la détection précise de mécanismes spécifiques, tels que la β -lactamase à spectre étendu (BLSE) associée à la céphalosporinase AmpC

- Contrôle visuel : Un contrôle visuel est effectué pour évaluer la pureté des échantillons et identifier tout résultat aberrant, garantissant ainsi la qualité des données obtenues.
- Flexibilité dans le choix des antibiotiques : Elle offre une flexibilité dans la sélection des antibiotiques à tester, permettant une adaptation aux besoins spécifiques.
- Fiabilité sans risque de panne

(de Rohello, 2020)

2. L'antibiogramme Automatisé

L'automatisation de l'antibiogramme a connu un développement considérable depuis les années 1980. À cette époque, les technologies permettaient la réalisation d'antibiogrammes en milieu liquide.

En ce qui concerne l'antibiogramme par diffusion, l'automatisation a commencé à la fin du XXe siècle avec l'apparition de systèmes de lecture automatisés. L'automatisation quasicomplète de la méthode d'antibiogramme en milieu gélosé par diffusion est un développement récent.

Actuellement, en France, l'automatisation de cette méthode repose sur des lecteurs automatiques de diamètres de zones d'inhibition, comme l'Adagio et la gamme Sirscan. Plusieurs automates sont désormais disponibles sur le marché : BD offre une solution d'automatisation complète avec ses automates de la gamme Kiestra®, BioMérieux distribue en France l'automate WASP® fabriqué par COPAN, et I2a commercialise le PreLUD®.

Les avantages :

L'automatisation offre de nombreux avantages :

- Automatisation des tâches répétitives telles que la réception des prélèvements, l'ensemencement, l'incubation et la lecture des cultures.
- Optimisation du temps de travail du personnel.
- Diminution des erreurs telles que l'oubli d'ensemencement ou les erreurs d'identité.

-
- Traçabilité complète des opérations effectuées.
Possibilité de travail 24h/24, permettant une diminution significative de la durée de rendu des résultats.
(de Rohello, 2020)

Limites des antibiogrammes

Les antibiogrammes présentent certaines limitations. Par exemple, délais de réalisation, toute augmentation des valeurs de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sur une période donnée, tant qu'elle reste en dessous du seuil de sensibilité, ne peut pas être détectée (c'est ce qu'on appelle le "MIC creep"). De plus, les antibiogrammes ne fournissent que la proportion globale d'isolats sensibles pour une combinaison organisme-antibiotique donnée, sans permettre de déterminer les réactivités croisées avec d'autres antibiotiques. **(Joshi, 2010; Truong et al., 2021)**

Mesure de la zone d'inhibition et la relation entre la zone d'inhibition et la CMI

L'estimation de la taille de la zone d'inhibition obtenue par l'analyse de profil est finalement comparée aux seuils conventionnels recommandés pour la catégorisation de la sensibilité.

La mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) peut être effectuée directement et exprimée en mg/L, quelle que soit la méthode utilisée. La dilution en milieu liquide, réalisée en macro-méthode ou en micro-méthode, bien que moins pratique en macro-méthode, reste une méthode de référence. Son automatisation, couplée à des logiciels experts, permet une utilisation en routine avec des résultats classifiés en sensible (S), intermédiaire (I) ou résistant (R). Les CMI peuvent également être mesurées par les techniques de bandelettes à gradient de concentration (E-tests), bien corrélées aux méthodes de référence et très pratiques pour des CMI ponctuelles selon les besoins cliniques et microbiologiques. **(Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023; Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2024 ; Francis et al., 2019; Tascini et al., 2016)**

Critères de catégorisation des souches

- Sensible (S) : Souches dont la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), correspondant à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D.

- Résistant (R) : Souches dont la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute (C), correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique.

Sensibilité intermédiaire (I) : Souches dont la CMI et le diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques. (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2005; Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023*)

Les diamètres des zones d'inhibition et les CMI doivent être comparés aux seuils cliniques standardisés pour chaque combinaison organisme-antibiotique. Ces seuils sont établis par des comités spécifiques : le Comité Européen de Tests de Sensibilité aux Antimicrobiens (EUCAST) en Europe et l'Institut des Standards Cliniques et de Laboratoire (CLSI) aux États-Unis. (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023*) **E-test**

Depuis de nombreuses années, des méthodes telles que la méthode de diffusion sur disque et les bandes imprégnées de gradients de concentration d'antibiotiques (E-test) sont reconnues comme des standards pour étudier la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les systèmes automatisés basés sur la microdilution en bouillon, tels que le BD Phoenix et le VITEK de BioMérieux, sont également couramment utilisés en diagnostic de routine. Bien que ces tests automatisés ne mesurent pas directement la CMI, ils sont considérés comme fiables pour déterminer les catégories de sensibilité aux médicaments.

E-test, introduit dans les années 1990, est une méthode manuelle de diffusion en milieu gélosé qui mesure précisément la concentration minimale inhibitrice (CMI). Une bandelette contenant un gradient de concentration d'un antibiotique est placée sur une gélose ensemencée. Après incubation, la CMI est déterminée par l'intersection de la zone d'inhibition avec la bandelette. Cette méthode est utile pour des tests ponctuels ou pour détecter des mécanismes de résistance spécifiques, comme la résistance aux glycopeptides chez *Staphylococcus aureus*. Les résultats de l'E-test sont généralement bien corrélés avec les méthodes de dilution en bouillon ou en agar, bien qu'il puisse y avoir des biais systématiques. (*Chen et al., 2022; Jolyguillou, 2006; Jorgensen & Ferraro, 1998, 2009; Kowalska-Krochmal et al., 2023; Tascini et al., 2016*)

•
MTT

Le test au MTT est une méthode colorimétrique qui évalue l'activité métabolique cellulaire, la viabilité et la toxicité cellulaires. Les extraits testés sont placés dans des puits d'une plaque à microplaques pré-diluée, puis incubés pendant 48 heures. Après incubation, les cellules sont traitées avec du MTT et incubées à nouveau pendant 4 heures. Les cellules métaboliquement actives réduisent le MTT en formazan, qui est ensuite mesuré par absorbance. Les valeurs d'absorbance inférieures à 50% de l'activité de division sont considérées comme toxiques. Cette méthode est utilisée pour évaluer la toxicité des échantillons et déterminer la concentration toxique minimale. L'essai MTT repose sur la capacité des cellules métaboliquement actives à réduire le sel de tétrazolium jaune MTT en cristaux de formazan violets, qui sont ensuite quantifiés par mesure de l'absorbance. Cela permet d'estimer le nombre de cellules viables et actives métaboliquement (**Ghasemi et al., 2021; Twarużek et al., 2018**)

Chapitre 02

MATÉRIEL ET

MÉTHODES

1. Matériel de laboratoire

Le matériel que nous avons utilisé au cours de ce travail de recherche est représenté ci-dessous :

Appareillage

- Autoclave
- Etuve
- Four pasteur
- Spectrophotomètre

Petit matériel

Bec Bunsen, anse de platine, boîtes de Pétri (90 mm), pipettes Pasteur, pince bactériologique, portoir, verreries (tube à vis de 10 ml, flacons à prélèvement thermostérile de (200 ml /250 ml), bécher, éprouvette graduée, Erlenmeyer, agitateur magnétique chauffant, vortex, chauffe-ballon, barreau magnétique d'agitation, micropipette 1000µL, embouts de micropipette, disques d'antibiotiques, disques d'extrait végétaux, papier filtre, plaques de CCM, portoir, entonnoir, règle graduée.

Extraits végétaux :

- THFO
- THF3
- THAL
- MA1
- MA2
- E1
- E2
- E3
- E4

Matériel biologique :

Pour le déroulement de notre travail, nous avons utilisé quatre souches bactériennes différentes. Ces souches bactériennes font parties de deux groupes bactériens : bactéries à Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et bactéries à Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

Tableau 1 Description des souches utilisé (DAOUDI Yacine et DAOUDI Smail, 2018;

Fawzia BEDDOU, 2015)

GERME	Souche	Habitat préférentiel	Infections hospitalières
Bacille Gram –	<i>Escherichia coli</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Eaux usées • Matière fécales •Aliments contaminés 	<ul style="list-style-type: none"> • Infections respiratoires • Infections urinaires •Plaies septicémies
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Sol, eau, plantes • Voies respiratoires • Matières fécales •Appareils sanitaires 	<ul style="list-style-type: none"> • Infections pulmonaires et urinaires • Brûlures •Plaies septicémies
Cocci Gram +	<i>Staphylococcus aureus</i>	<ul style="list-style-type: none"> • Peau, cheveux • Nasopharynx • Périnée • Poussières, air •Aliments contaminé 	<ul style="list-style-type: none"> • Infections cutanées, plaies, abcès • Ostéites, ostéomyélites • Infections pulmonaires •Intoxications alimentaires

Produits chimiques

- Eau distillée
- Eau physiologique
- Éthanol 70°
- MF : McFarland

Milieux de culture :

- MH : gélose de Mueller-Hinton

- GN : gélose nutritive

Antibiotiques :

AMP : Ampicilline (10 µg); AMC: Amoxicilline + acide clavulanique (30 µg); Imipénème (10 µg); FOX: Céfoxitine (30 µg); CTX: céfotaxime (30 µg); GEN: Gentamicine (10 µg); NA : nolidixic acide (30 µg); P10: Péniciline (10 UI)

Milieux de culture

Les deux milieux de cultures utilisés ont été préparés au laboratoire. (**Figure 4**)

- Gélose Mueller-Hinton
- Gélose nutritive



Figure 4 Exemple des milieux de culture préparés au niveau du laboratoire « MH; GN» (Photo Originale ,2024).

Repiquage des souches bactériennes

Les cinq souches bactériennes utilisées ont été repiquées par stries sur gélose nutritive, puis incubées à 37 °C pendant 18h, afin d'obtenir des colonies distinctes qui vont servir à la préparation de la suspension bactérienne. (**Figure 5**)

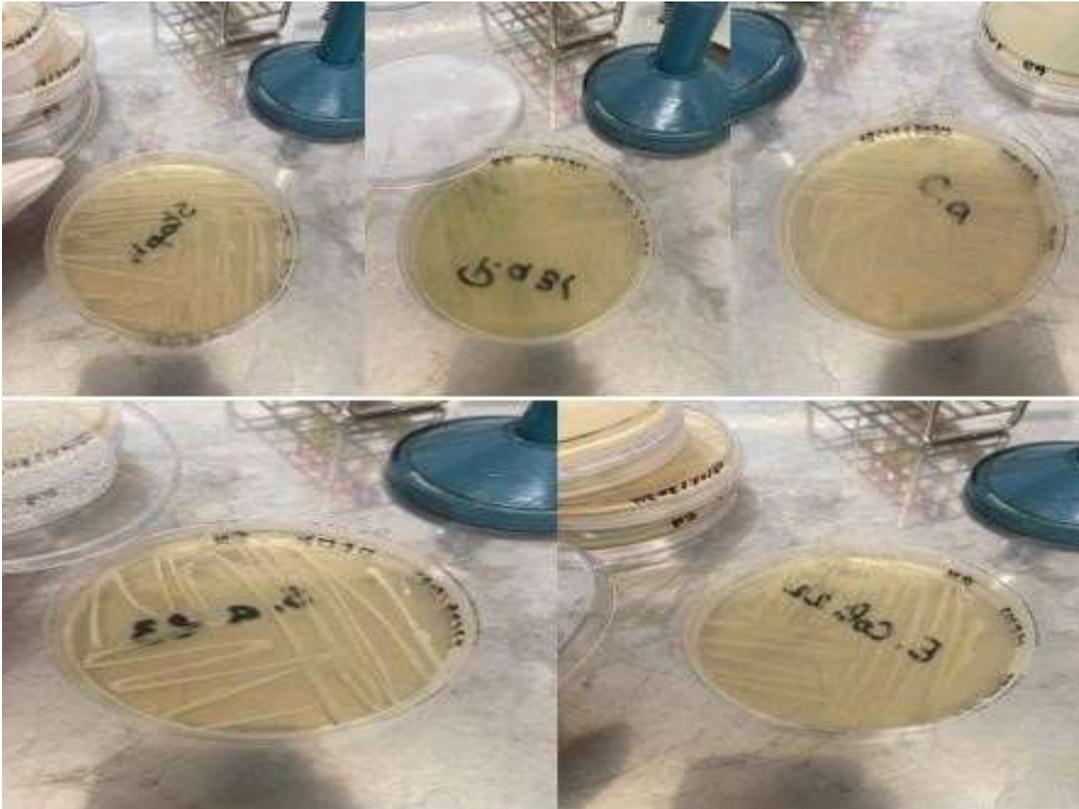


Figure 5 Ensemencement les cinq souches bactériennes (Photo Originale ,2024).

1 Préparation de la suspension bactérienne

A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur gélose nutritive, on fait racler quelques colonies à l'aide d'une anse de platine, visiblement bien isolées et parfaitement identiques. On décharge l'anse de platine dans 10 mL d'eau physiologique stérile à 0,9% NaCl. On fait bien homogénéiser la suspension bactérienne (solution mère) par un vortex avant de mesurer sa densité optique, son opacité doit être au maximum entre 0,08 et 0,1 (absorbance mesurée à 600 nm), la suspension est ajustée à cette valeur en ajoutant des colonies ou de l'eau physiologique (si nécessaire). **(Figure 6)**



Figure 6 Préparation de la suspension bactérienne (Photo Originale ,2024).

2 Détermination de la concentration de suspension bactérienne

Les concentrations bactériennes de chaque souche sont évaluées par turbidité et sont exprimées par la mesure de la densité optique (DO) par un spectrophotomètre préalablement étalonné sur la longueur d'onde 600 nm tout en déterminant le zéro d'absorbance avec une cuve remplie de McFarland (**Figure 7**). Après avoir mesuré les densités optiques des différentes suspensions bactériennes(**Figure 8**), on les standardiser à l'aide du témoin McFarland 0,5 (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023*).



Figure 7 Standardisation des suspension bacterienne par un témoin 0,5 McFarland (Photo Originale, 2024).



Figure 8 Mesure de la densité optique (DO) par un spectrophotomètre (Photo Originale, 2024).

3 Ensemencement

Le milieu de culture MH (prêt à l'usage) est coulé dans des boîtes de Pétri stériles (de 90 mm de diamètre) et laissés se gélifier. L'épaisseur de la gélose est de $4 \text{ mm} \pm 0,5 \text{ mm}$ répartie uniformément dans les boîtes. Ces dernières doivent être séchées durant 30 min à une température ambiante avant leur emploi (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023*). Chaque souche était ensemencée par inondation dans les 5 min qui suivent la préparation de suspension on fait bien homogénéiser la solution de chaque souche. On dépose $500 \mu\text{l}$ (0.5 ml) de suspension à la surface du milieu de culture On l'étale à une prise sur la surface entière du milieu à l'aide d'une pipette râteau (**Figure 9**).

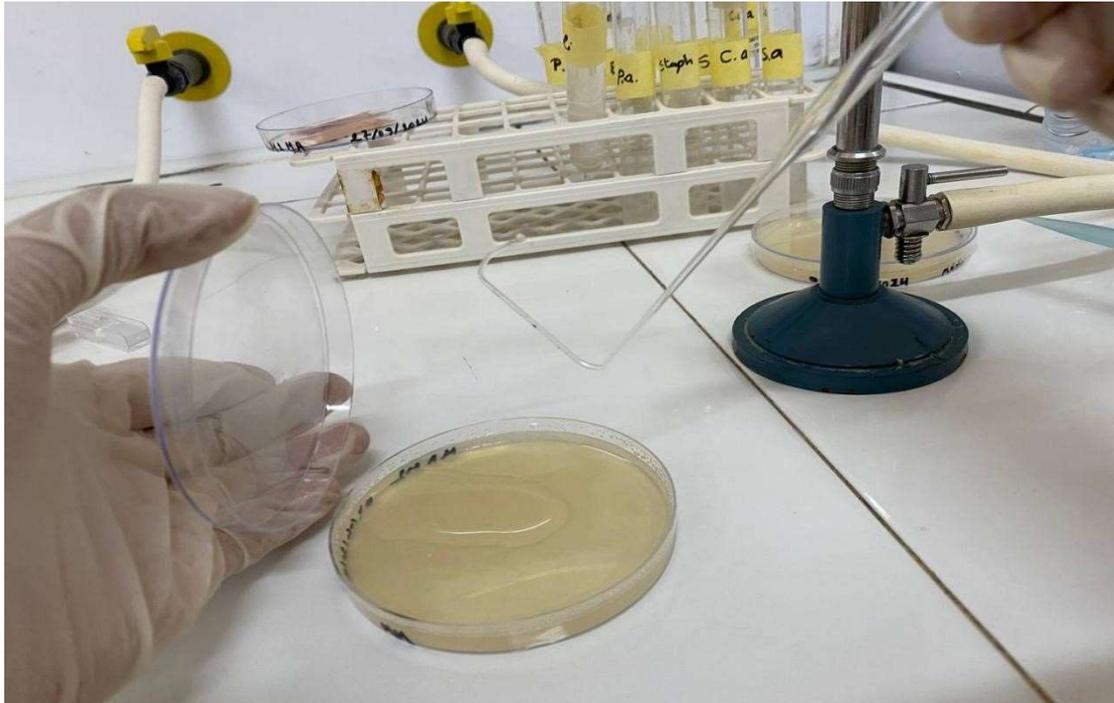


Figure 9 Ensemencement de suspension à la surface du milieu à l'aide d'une pipette râteau (Photo originale ,2024)

4 Antibiogramme par diffusion en milieu de culture

4.1 Préparation des disques des extraits

Les disques sont fabriqués à partir du papier filtre, avec un diamètre de 6 mm. Ces disques sont ensuite placés dans des tubes à essai, stérilisés par autoclave et conservés à température ambiante (les tubes à essai sont scellés).

Chaque disque stérile est imprégné de deux gouttes d'extraits

4.2 Choix des antibiotiques

Un antibiogramme permet de tester sur milieu de culture solide l'action des antibiotiques (antibactériens) sur les souches bactériennes dans le but de déterminer la sensibilité (ou la résistance) de chaque antibiotique vis-à-vis de chaque souche bactérienne. Le choix des antibiotiques a été fait en fonction de leur mode d'action, et selon leur utilisation et également selon leur disponibilité.

4.3 Test de l'activité antibactérienne et incubation :

Le test est réalisé en cultivant les bactéries sur milieu Mueller-Hinton. Remplir chaque boîte de Pétri de 90 mm avec 20 ml de milieu et ensemencer par inondation avec 0.5 ml de la suspension bactérienne.

Quatre disques d'antibiotiques de différentes familles et neuf disques des extraits sont appliqués avec une légère pression à l'aide d'une pince bactériologique stérile afin d'assurer le contact complet avec la surface de la gélose (**Figure 10**). Une fois appliqué, le disque ne peut pas être déplacé car la diffusion des antibiotiques est très rapide (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2017*). Les quatre disques d'antibiotiques et les neuf disques des extraits utilisés sont distribués de sorte que les zones d'inhibition autour des disques ne se chevauchent pas et qu'ainsi la zone d'inhibition puisse être déterminée. Le diamètre des disques est de 6 mm. Les boîtes sont incubées à l'étuve à 37°C en position inversée pendant 24 h (**Figure 11**).

Une évaluation de l'activité antibactérienne de nos extraits a été réalisée contre quatre souches bactériennes. La sensibilité des quatre souches aux différents extraits étudiés est classée selon leur diamètre d'inhibition.



Figure 10 Application des disques d'antibiotiques et les disques des extraits (Photo Originale ,2024).



Figure 11 Incubation des boîtes de Pétri dans l'étuve à 37°C pendant 24 h (Photo Originale ,2024)

4.4. Lecture et interprétation

La lecture de l'antibiogramme, après incubation, est faite en termes de diamètre de la zone d'inhibition. L'absence de croissance bactérienne se traduit par un halo translucide (une zone transparente) autour du disque dont le diamètre est mesuré avec précision à l'aide d'une règle graduée et exprimé en millimètre. Les résultats sont interprétés selon les critères du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (*Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2023; Comité de l'antibiogramme de La Société Française de Microbiologie, 2024*). Les cinq différentes souches testées ont été classées dans plusieurs catégories : sensible (S), résistante (R) ou intermédiaire (I) à un antibiotique selon le diamètre de la zone d'inhibition ; plus le diamètre de cette zone est grand, plus la souche est sensible à l'antibiotique. La lecture des résultats se fait en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition autour des disques, et les écart-types entre les différents diamètres des zones d'inhibition mesurés ont été calculés à partir de trois séries d'expériences.

Notre démarche expérimentale est résumée ci-dessous :

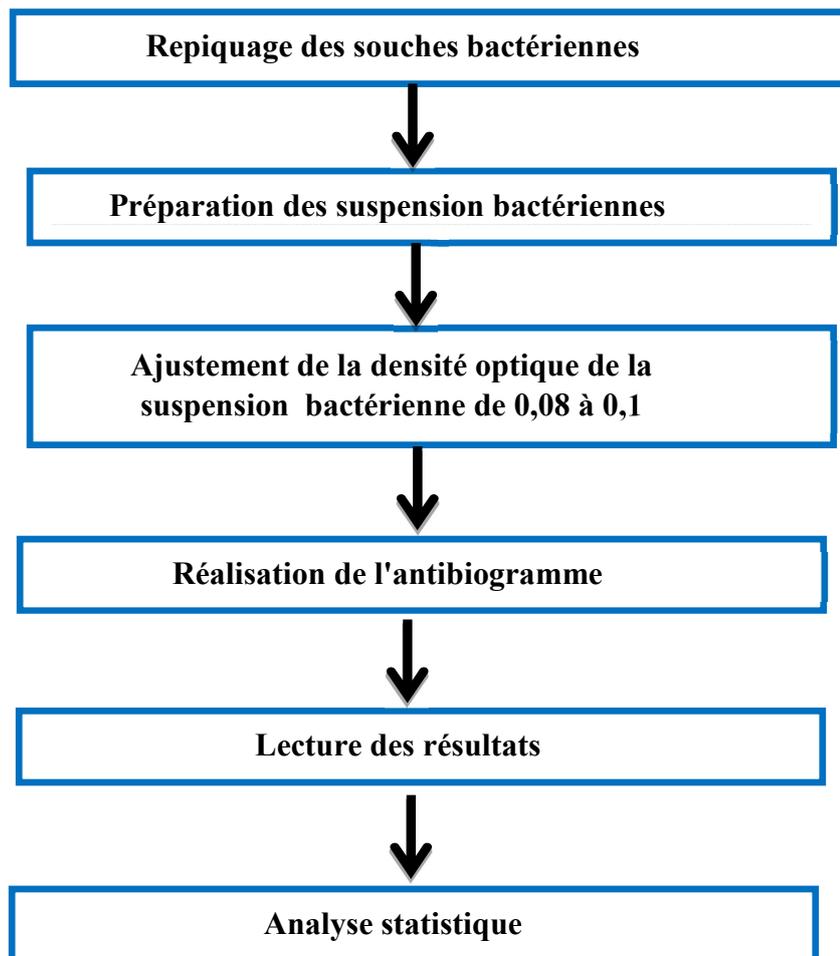


Figure 12 Etapes expérimentales.

5 Chromatographie sur couche mince (CCM)

Après ensemencement par inondation de la suspension bactérienne sur le milieu MH on y met les plaques CCM à l'aide d'une pince bactériologique stérile (**Figure 13**) afin d'assurer la bioautographie par contact direct sur la surface de la gélose pendant 5 -10 seconds après enlevé les plaques une pince stérile et on met dans une autre boîte de Pétri contenant le milieu MH pendant 2h , après les 2h on enlève les plaques que l'on dépose sur boîte de Pétri stérile et que l'on incube à l'étuve à 37°C pendant 24 h.



Figure 13 Méthode de CCM pour l'évaluation des extraits végétaux et des composés organiques synthétiques en tant qu'agents antibactériens

CHAPITRE 3

RESULTATS ET

DISCUSSION

3.1 Résultats de l'antibiogramme

Diffusion sur disque (méthode de diffusion sur disque normalisée EUCAST)

Milieu : gélose Mueller-Hinton

Inoculum : McFarland 0,5

Incubation : 37±1°C, 24±2h

Tableau 2 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'antibiogramme

	CTX	AMC	IMP	GEN	P10	NA	AMP	FOX
E.coli	20	24	15				-	
<i>P.aeruginosa</i>		17	7	18	-			
<i>S. aureus</i>				18		11	27	10
<i>S. aureus</i> isolat				20	-		-	14

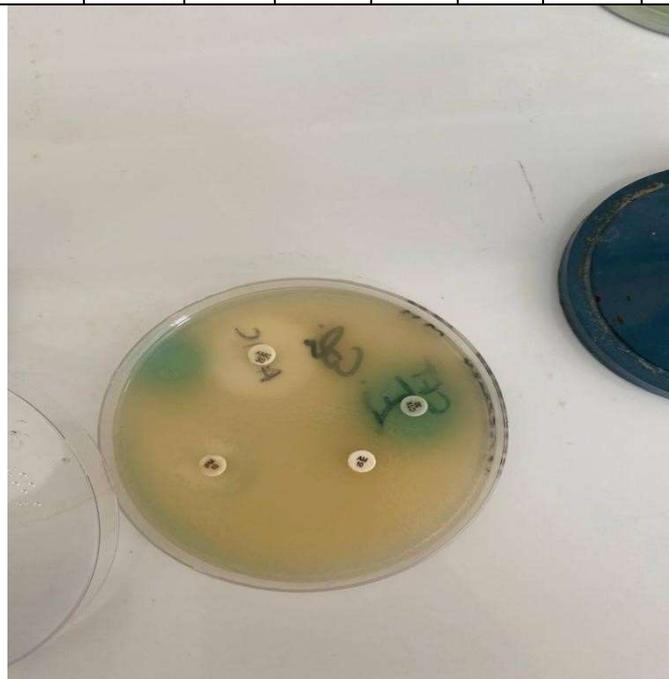


Figure 14 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche *Escherichia coli* (Photo Originale ,2024).

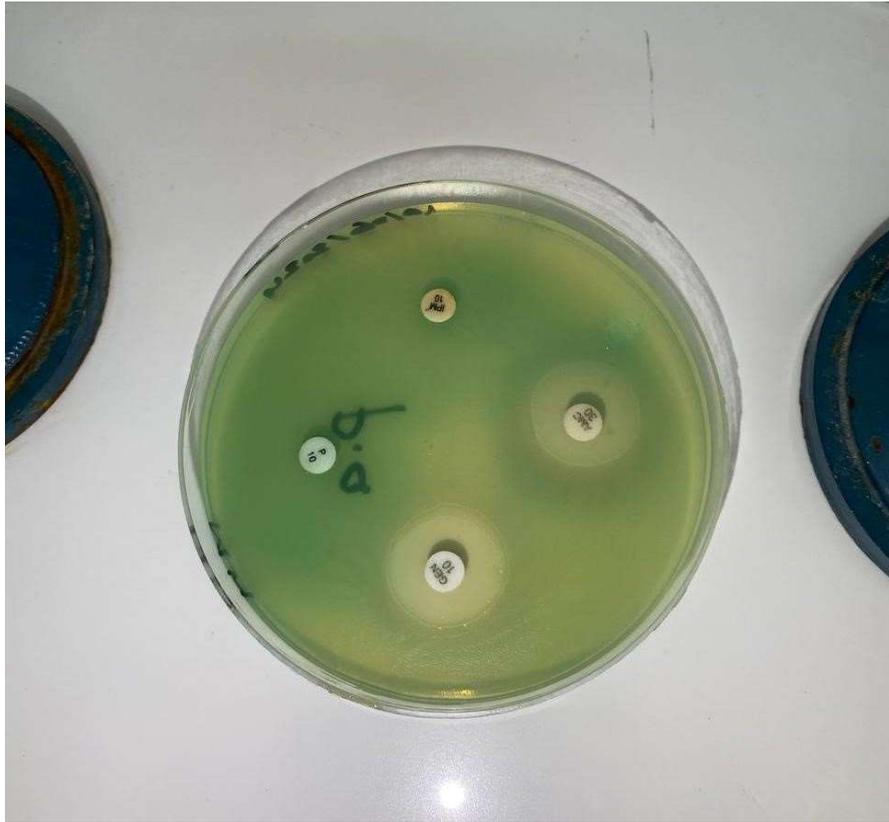


Figure 15 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (Photo Originale ,2024).

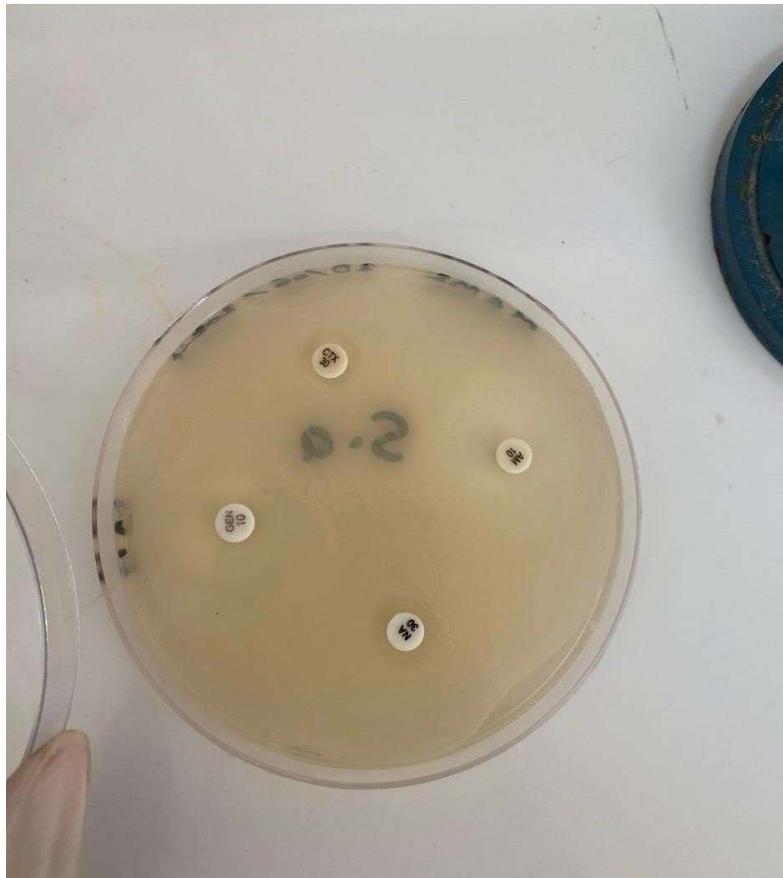


Figure 16 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche *Staphylococcus aureus*. (Photo Originale 2024).



Figure 17 Résultats des antibiogrammes obtenus pour la souche *Staphylococcus aureus* isolat. (Photo Originale 2024).

Interprétation de l'antibiogramme

Tableau 3 Normes de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens (en mm) (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2023) (Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie, 2024)

	CTX	AMC	IMP	GEN	P10	NA	AMP	FOX
<i>E.coli</i>	25-31	18-24	26-32				15-22	
<i>P.aeruginosa</i>			20-28	17-23				
<i>S. aureus</i>				19-25			15-21	24-30
<i>S. aureus</i> isolat				19-25	12-18		15-21	24-30

Tableau 4 Interprétations des antibiogrammes selon le Ø des zones d'inhibitions

	CTX	AMC	IMP	GEN	P10	NA	AMP	FOX
<i>E.coli</i>	R	I	R				R	
<i>P.aeruginosa</i>			R	I				
<i>S. aureus</i>				R			S	R
<i>S. aureus</i> isolat				I	R		R	R

R = Résistant, S = Sensible, I = Intermédiaire.

3.2 Résultats de l'aromatogramme

Tableau 5 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par aromatoigramme

	THFO	THF3	THAL	MA1	MA2	E1	E2	E3	E4
<i>E.coli</i>	0	0	0	9	0	18	0	23	9
<i>P.aeruginosa</i>	7	0	0	0	0	23	0	9	0
<i>S.aureus</i>	23	21	0	17	8	0	11	27	12
<i>S.aureus</i> isolat	21	0	0	0	19	8	10	26	7

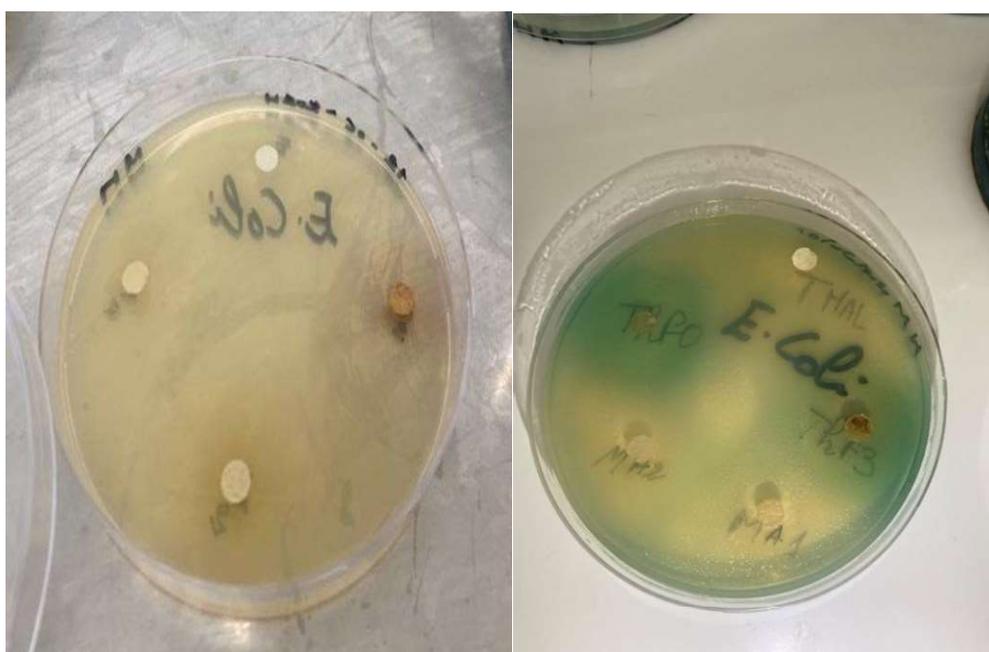


Figure 18 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche *Escherichia coli* (Photo Originale, 2024).



Figure 19 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche *Pseudomonas aeruginosa* (Photo Originale, 2024).

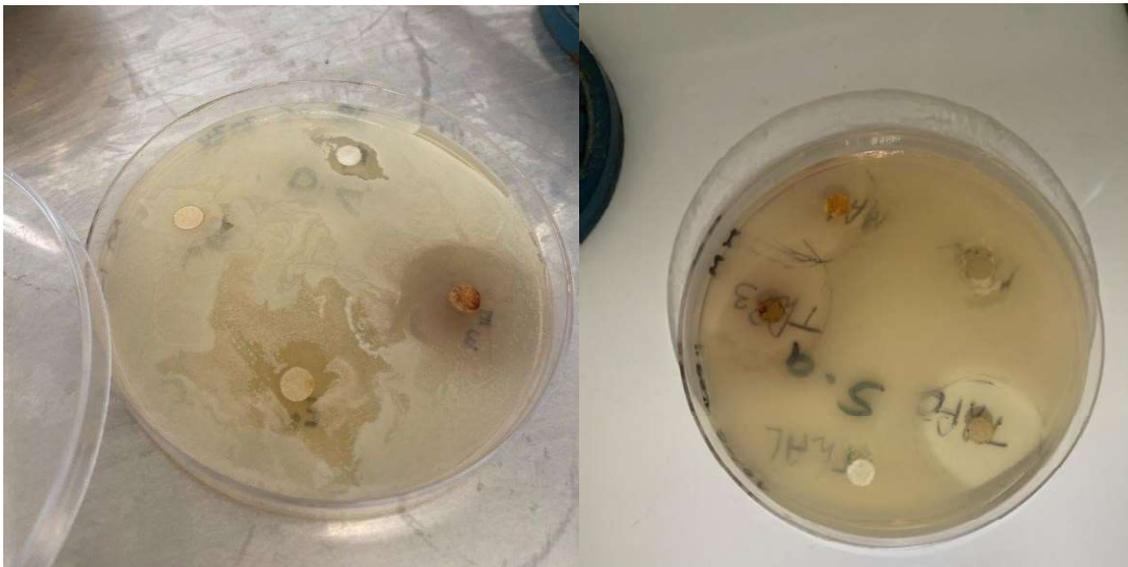


Figure 20 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche *Staphylococcus aureus*. (Photo Originale, 2024).

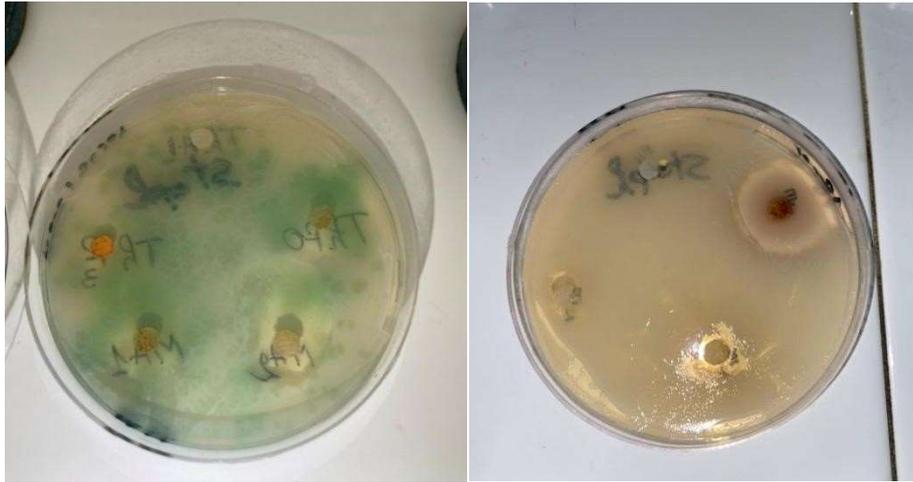


Figure 21 Résultats des aromatoigrammes obtenus pour la souche *Staphylococcus aureus* isolat. (Photo Originale, 2024).

Interprétations d'aromatogramme

Tableau 6 Norme de performance pour les tests de sensibilité aux antimicrobiens des extraits (en mm)

	R	I	S
Extrait	≤17	18-23	≥24

Tableau 7 Interprétations des aromatoigrammes selon le Ø des zones d'inhibitions

	THFO	THF3	THAL	MA1	MA2	E1	E2	E3	E4
<i>E.coli</i>	R	R	R	R	R	I	R	I	R
<i>P.aeruginosa</i>	R	R	R	R	R	I	R	R	R
<i>S.aureus</i>	I	I	R	R	R	R	R	S	R
<i>S.aureus</i> isolat	I	R	R	R	I	R	R	S	R

Discussion

Tableau 8 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'activité antimicrobienne des extraits de *Berberis vulgaris*.(Mezouar et al., 2014)

	<i>Escherchia coli</i> ATCC 25912	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923
1: aqueux	10	6	10
2: méthanolique	11	7	-
3: butanolique	10	7	17
4 : acétate d'éthyle	-	-	12
5 : aqueux		7	-
6 : méthanolique	7	8	-
7: butanolique	7.5	9	-
8: acétate d'éthyle	10.5	-	-
9: alcaloïdes	11.5	-	-

– : aucune activité ; extraits macéré : (1) : aqueux, (2) : méthanolique (3) : butanolique, (4) : acétate d'éthyle ; extraits sous reflux : (5) : aqueux, (6) : méthanolique, (7) : butanolique, (8) : acétate d'éthyle) (9) : alcaloïdes

Tableau 9 Les diamètres des zones d'inhibition (en mm) obtenus par l'activité antimicrobienne des extraits pour *Pseudomonas aeruginosa*(Benaïssa et al., 2023)

	AV	OG	TC	CM	TL
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	17.6 ± 2.5	14.3±1.15	8.3±0.5	20.0±2.0	18.6±1.5

AV : *A. verticillata*, OG : *O. glandulosum*, TC : *T. capitata*, CM : *C. munbyi*, TL : *T. lanceolatus*.

- Pour *E. coli* : il n'y a pas une zone d'inhibition observe pour les extraits « THF3 », « THFO », «MA1»et «E2» donc ces extraits n'affectent pas *E.coli* comme l'antibiotique

AMP les extraits « MA1 » et « E4 » les zones d'inhibitions sont équivalents à 9mm même la zone est faible mais a un effet plus mieux que AMP et un diamètre de 18 mm d'inhibition est observé pour l'extrait «E1» donc la zone plus grand que IMP Cependant, pour l'extrait « E3 » un diamètre d'inhibition plus large de 23mm est observé plus grand que IMP et CTX et égale à l'antibiotique AMC.

Les extraits THFO, THF3, THAL, MA2, E2et aussi (4), (5) il y'a aucune zone d'inhibition, par contre les extraits (6) et (7) sont inférieur de MA1 et E4 Et les extraits E1 et E3 sont supérieur des extraits (1), (2), (3), (8) et (9)

La plus grande zone d'inhibition d'extrait E3 par 23 mm (Mezouar et al., 2014)

Pour l'extrait de l'oléorésine du pistachier de l'atlas La dose de 50 µl d'huile essentielle a présenté un halo d'inhibition égale à 30 mm c'est la plus grand zone de tous les extraits, mais les extraits THAL ,THFO, THF3, MA1, MA2 ,E1,E2,E3 ,E4 a seulement volumes de quelque gouttes cependant une grand zone d'inhibition comme E3 qui a un zone de 23mm (**Benabdallah et al., 2017**)

- Pour *Pseudomonas aeruginosa* : il n'y a pas une zone d'inhibition observe pour les extraits « THF3 », «MA1 » et « MA2 » ces extraits n'affectent pas *P.aeruginosa* comme l'antibiotique P10 et un faible diamètre d'inhibition est observé pour l'extrait « THFO » et cette zone égale à la zone de IMP et aussi une faible diamètre de la zone d'inhibition de « E3 » qui est inférieur à l'antibiotique IMP et l'extrait « E1 » de zone d'inhibition 23 mm plus grand de GEN , AMC et P10

(4), (8), (9) il y'a aucune zone d'inhibition

Le diamètre de zone d'inhibition (1) inférieur à THFO

Alors que la zone de THFO égale (2) et (5) et (7)

Et (6) inférieur de THFO et aussi inférieur de E3

Et la valeur de E1 la plus grand de tous les extraits par 23mm (**Mezouar et al., 2014**)

- L'extrait *A. verticillata* , *O. glandulosum*, *C. munbyi*, et *T. lanceolatus*.a des zones d'inhibitions différent a des diamètres plus supérieur des extraits THAL, THF3 , MA1, MA2 et aussi inférieur des extraits THFO et E3 par contre l'extrait de AV inférieur du diamètre de la zone d'inhibition de E1 qui a la plus grande valeur de tous les extraits par 23 mm

L'extrait T.C a une zone d'inhibition plus grand que les extraits THAL, THF3, MA1, MA2 et aussi THFO mais cet extrait inférieur à des extraits E3 et E1(**Zahrae Radi et al., 2023**)

- Pour *Staphylococcus aureus* : il n'y a pas une zone d'inhibition observe pour les extraits « THFAL »et « E1 »
L'extrait « MA2 » a une zone d'inhibition égale 8 mm et cette zone inferieur de la zone de CX
L'extrait de « E2 » a une zone d'inhibition 11mm égale la zone de l'antibiotique NA

Les extraits « E4 » et « MA1 » sont des zones d'inhibitions successivement 12mm et 17 mm supérieur à FOX et NA et inférieur de GEN

L'extrait « THF3 » et « THFO » sont des zones d'inhibitions successivement 21 mm, 23mm supérieur que GEN

L'extrait « E3 » un diamètre d'inhibition plus large 27mm comme l'antibiotique AMP (2), (5), (6), (7), (8), (9) il y'a aucune zone d'inhibition

En a l'extrait MA2 inférieur da (1)

Et les extraits E4 et E2 sont supérieur de (1) tandis que E2 est inférieur a (4) mais E4 est égale a (4) de zone d'inhibition 12mm

Diamètre de la zone d'inhibition MA1 égale (3) par 17mm au même est inférieur à THF3, THFO, et E3

Alors que la plus grande valeur est E3 par 27mm (**Mezouar et al., 2014**)

- Pour *Staphylococcus aureus* isolat il n'y a pas une zone d'inhibition observe pour les extraits « THFAL », « THF3 » et « MA1 » donc ces extraits n'affectent pas *Staphylococcus aureus* isolat comme l'antibiotique P10 et AMP Les extraits « E4 », « E1 » et « E2 » des zones d'inhibitions successivement 7mm, 8mm et 10mm sont inférieur de FOX

L'extrait « MA2 » a une zone d'inhibition 19mm qui est supérieur de FOX et inférieur de GEN

L'extrait de « THFO » a un diamètre de zone d'inhibition supérieur de GEN

La zone d'inhibition de GEN est entre les extraits « MA2 » et « THFO »

Plus large diamètre d'inhibition pour tous les extraits et les antibiotiques est « E3 » de zone d'inhibition égale 26mm

Les zones d'inhibition E1 et E4 sont inférieures à celles de l'extrait ETA qui a une zone d'inhibition de 10 mm, et également inférieures à celles de E70 qui a une zone d'inhibition de 11 mm. Par contre, le ZH de ETA est égal à celui de E2 tandis que EE70% présente une zone d'inhibition inférieure à E2. Et les extraits MA2 et THFO et E3 sont supérieurs aux extraits ETA et EE à 70 %. Alors que l'extrait E3 présentait le plus grand diamètre d'inhibition de 26 mm (**Traoré et al., 2012**)

L'extrait de E4, E1, E2, MA1 plus inférieur de Moyenne de diamètre d'inhibition de l'extrait aqueux des feuilles de Peganum harmala qui a une zone 21.33 mm

Et la zone d'inhibition de cet extrait égale la zone de THFO

Et l'extrait E3 présentait le plus grand diamètre d'inhibition 26mm (**Behidj-Benyounes et al., 2013**)

L'extrait de E4, E1, E2, MA1 inférieur de Moyenne de diamètre d'inhibition de l'extrait éthanolique des feuilles de Peganum harmala qui a une zone 20mm

L'extrait THFO et E3 inférieur de l'extrait FPHE (**Behidj-Benyounes et al., 2013**)

L'extrait de E4, E1, E2, MA1 plus inférieur de Moyenne de diamètre d'inhibition de l'extrait hexanique des feuilles de Peganum harmala qui a une zone 20mm

L'extrait THFO et E3 inférieur de l'extrait FPHH (**Behidj-Benyounes et al., 2013**) Les extraits E4, E1, E2 ont une zone d'inhibition inférieure à la zone d'inhibition moyenne de l'extrait TIA de 14,5, Et les extraits MA2, THFO, E3 sont supérieurs à TIA. (**Nassima et al., 2016**)

Les extraits E4 et E1 sont inférieurs d'extrait SSD par contre SSD est égale l'extrait E2 par zone d'inhibition 10mm

Et les extraits MA2, THFO et E3 sont supérieurs à l'extrait SSD (**Désiré Diatta et al., 2022**)

Les extraits E4, E1 et E3 sont inférieurs d'extrait ASD qui a une zone d'inhibition 12mm

Les autres extraits THFO, MA2 et E3 sont supérieurs à l'extrait ASD (**Désiré Diatta et al., 2022**)

Tous les extraits E4, E1, E2, MA2, THFO sont inférieurs à la diamètre de zone d'inhibition à 22 mm de l'extrait de ALG, mais la zone de l'extrait de E3 est inférieure de l'extrait ALG (**Désiré Diatta et al., 2022**)

Et pour l'extrait aqueux de *C. monogyna* (CMA) et l'extrait aqueux de *C. laciniata* (CLA) par 10 µL a des zones d'inhibitions 6 mm

Donc les extraits CMA et CLA inférieurs à des extraits THF3 et MA1, par contre tous les autres extraits E1, E4, E2, MA2, THFO et E3 supérieurs des extraits CMA et CLA et la valeur de E3 est la plus grande 26mm (**Zahrae Radi et al., 2023**)

CONCLUSION

L'évaluation des pouvoirs antibactériens des extraits végétaux et des composés de synthèse organique, effectuée à la fois "*in vitro*" et "*in situ*" vis-à-vis de souches de référence et d'isolement, représente un domaine de recherche essentiel et prometteur dans la lutte contre les infections bactériennes.

Les études "*in vitro*" révèlent une activité antibactérienne marquée contre un large éventail de souches testées, ce qui indique un potentiel thérapeutique élevé des extraits végétaux et des composés synthétiques. Ces tests en laboratoire permettent d'identifier avec précision les substances ayant une efficacité antibactérienne significative, offrant ainsi des pistes prometteuses pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens.

Les tests "*in situ*", quant à eux, démontrent l'efficacité de ces substances dans des conditions proches de l'environnement réel. Ces tests prennent en compte des variables complexes présentes dans les milieux naturels. Les résultats obtenus dans ces conditions confirment la pertinence pratique et l'applicabilité des extraits végétaux et des composés synthétiques pour des usages réels dans divers secteurs.

L'évaluation des pouvoirs antibactériens des extraits végétaux et des composés de synthèse organique est cruciale pour plusieurs raisons :

- Développement de nouveaux agents thérapeutiques : Face à la montée des résistances bactériennes aux antibiotiques traditionnels, il est impératif de trouver des alternatives efficaces. Les extraits végétaux et les composés de synthèse organique offrent de nouvelles solutions potentielles.
- Compréhension des mécanismes d'action : Cette évaluation permet de mieux comprendre comment ces substances interagissent avec les bactéries, ouvrant ainsi la voie à des optimisations futures et à la création de traitements plus ciblés.
- Applications pratiques diversifiées : Les résultats prometteurs obtenus tant "*in vitro*" qu' "*in situ*" suggèrent des applications potentielles dans des domaines tels que la médecine (traitement des infections), l'agroalimentaire (sécurité et conservation des aliments) et la conservation des matériaux (protection contre les contaminations bactériennes).

Les recherches actuelles montrent que les extraits végétaux et les composés de synthèse organique pourraient devenir des alternatives viables et durables aux antibiotiques conventionnels. Cependant, plusieurs défis subsistent :

- Optimisation et standardisation des méthodes d'extraction et de synthèse : Pour garantir une efficacité maximale et une production à grande échelle.
- Études cliniques et essais sur le terrain : Pour confirmer l'efficacité et la sécurité des nouvelles substances dans des conditions réelles.
- Compréhension approfondie des mécanismes d'action : Pour optimiser les formulations et minimiser les effets secondaires.

En conclusion, l'évaluation des pouvoirs antibactériens des extraits végétaux et des composés de synthèse organique représente une avancée significative dans la lutte contre les infections bactériennes. Les approches "*in vitro*" et "*in situ*" sont complémentaires et essentielles pour le développement de nouveaux agents antimicrobiens efficaces et sûrs. Les résultats obtenus à ce jour sont prometteurs et ouvrent des perspectives innovantes pour répondre aux défis posés par les résistances bactériennes. Il est donc crucial de poursuivre ces recherches pour développer des solutions durables et efficaces, contribuant ainsi à la santé publique et à la sécurité alimentaire mondiale.

Références

- Adzitey, F. (2015). Antibiotic Classes and Antibiotic Susceptibility of Bacterial Isolates from Selected Poultry; A Mini Review. *World s Veterinary Journal*, 6(1), 36. <https://doi.org/10.5455/wvj.20150853>
- Benaissa, A., Abdelmounaim, K., Benbelaid, F., Bousselham, A., Benziane, Y., Muselli, A., & Bendahou, M. (2023). Inhibitory Effect of Essential Oils Obtained from Five Algerian Plants against *Pseudomonas aeruginosa*, Including Carbapenem-Resistant Strains. *Natural Product Sciences*, 29(4), 225–234. <https://doi.org/10.20307/nps.2023.29.4.225>
- Behidj-Benyounes, N., Dahmane, T., Aknouche, F., & Demmouche, K. (2013). *SCREENING PHYTOCHIMIQUE ET EVALUATION DE L'ACTIVITE ANTIMICROBIENNE DES ALCALOÏDES DES FEUILLES DE Peganum harmala L. RECOLTEES DANS LA REGION DE M'SILA.*
- Benabdallah, F. Z., Kouamé, R. O., El Bentchikou, M., Zellagui, A., & Gherraf, N. (2017). Études ethnobotanique, phytochimique et valorisation de l'activité antimicrobienne des feuilles et de l'oléorésine du pistachier de l'atlas (*Pistacia atlantica* Desf.). *Phytothérapie*, 15(4), 222–229. <https://doi.org/10.1007/s10298-015-0926-2>
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, 6(8), a025247. <https://doi.org/10.1101/cshperspect.a025247>
- C Reygaert, W. & Department of Biomedical Sciences, Oakland University William Beaumont School of Medicine, Rochester, MI, USA. (2018). An overview of the antimicrobial resistance mechanisms of bacteria. *AIMS Microbiology*, 4(3), 482–501. <https://doi.org/10.3934/microbiol.2018.3.482>
- Chen, J., Huang, Y., Ding, Z., Liang, X., & Lu, H. (2022). E-Test or Agar Dilution for

Metronidazole Susceptibility Testing of *Helicobacter pylori*: Importance of the Prevalence of Metronidazole Resistance. *Frontiers in Microbiology*, 13, 801537.

<https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.801537>

- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Vol. 50). (2005).
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Vol. 128). (2017).
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Vol. 177). (2023).
- Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Vol. 177). (2024).
- Croize, J., Recule, C., Pelloux, I., & Chantepedrix, V. (2007). *L'automatisation en bactériologie: Un challenge continu. L'expérience du Centre Hospitalier Universitaire de Grenoble.*
- de Rohello, F. L. (2020). *L'antibiogramme par diffusion: De sa découverte à son automatisation—Mise en place d'une méthode automatisée au CHU de Rouen.*
- DAOUDI Yacine et DAOUDI Smail. (2018). *Effet des milieux de culture sur la zone d'inhibition des antibiogrammes des souches: Escherichia coli HO25, Pseudomonas aeruginosa HO80 et Staphylococcus aureus HO90.* Université de Ghardaïa.
- Désiré Diatta, B., Niass, O., Gueye, M., Houël, E., & Boetsch, G. (2022). Diversité Et Activité Antimicrobienne Des Plantes Impliquées Dans Le Traitement Des Affections Dermatologiques Chez Les Peul Et Les Wolof Du Ferlo Nord (Sénégal). *European Scientific Journal ESJ*, 18(8), 73–97. <https://doi.org/10.19044/esj.2022.v18n8p73>
- Etebu, E., & Arikekpar, I. (2016). *Antibiotics: Classification and mechanisms of action with emphasis on molecular perspectives.*
- European Centre for Disease Prevention and Control. & World Health Organization. (2023).
- *Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023: 2021 data.* Publications Office. <https://data.europa.eu/doi/10.2900/63495>

- *Évaluation d'interventions visant à améliorer les pratiques de prescription des antibiotiques en soins primaires.* (2022).
- Fawzia BEDDOU. (2015). *Etude phytochimique et activités biologiques de deux plantes médicinales sahariennes Rumex vesicarius L. et Anvillea radiata Coss. & Dur.* Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen.
- Francis, A., Yaw, D. B., Christian, A., George, H. S., Vivian, E. B., & Frank, B. O. (2019). Antibacterial resistance modulatory properties of selected medicinal plants from Ghana. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 13(5), 57–69.
<https://doi.org/10.5897/AJPP2019.4989>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., & Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(23), 12827.
<https://doi.org/10.3390/ijms222312827>
- Hage, R. E. (2019). *Salmonelles dans l'industrie avicole libanaise: Prévalence, antibiorésistance, caractérisation moléculaire et lutte alternative par les Lactobacilles.*
- Jolyguillou, M. (2006). Intérêt du E-test dans le suivi de l'antibiothérapie. *Réanimation*, 15(3), 237–240. <https://doi.org/10.1016/j.reaurg.2006.02.003>
- Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (1998). Antimicrobial Susceptibility Testing: General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 26(4), 973–980. <https://doi.org/10.1086/513938>
- Jorgensen, J. H., & Ferraro, M. J. (2009). Antimicrobial Susceptibility Testing: A Review of General Principles and Contemporary Practices. *Clinical Infectious Diseases*, 49(11), 1749–1755. <https://doi.org/10.1086/647952>
- Joshi, S. (2010). Hospital antibiogram: A necessity. *Indian Journal of Medical Microbiology*, 28(4), 277–280. <https://doi.org/10.4103/0255-0857.71802>

- Kerr, J. R. (2005). Antibiotic treatment and susceptibility testing. *Journal of Clinical Pathology*, 58(8), 786–787. <https://doi.org/10.1136/jcp.2005.030411>
- Kowalska-Krochmal, B., Mączyńska, B., Smutnicka, D., Secewicz, A., Krochmal, G., Laufer, K., & Dudek-Wicher, R. (2023). Reliability of E-Tests and the Phoenix Automated Method in Assessing Susceptibility to IV Fosfomycin—Comparative Studies Relative to the Reference Method. *Pathogens*, 12(5), 700. <https://doi.org/10.3390/pathogens12050700>
- Leroy, É. (2022). *Mechanisms of context-dependent translation inhibition by ribosometargeting antibiotics*.
- Maia SIMON. (2022). *Évaluation d'interventions visant à améliorer les pratiques de prescription des antibiotiques en soins primaires*. UNIVERSITE DE LORRAINE.
- Mainardi, J. L. (2015). *Mécanismes d'action et de résistance aux antibiotiques/ Session interactive autour de l'antibiogramme*.
- Mezouar, D., Lahfa, F. B., Abdelouahid, D. E., Adida, H., Rahmoun, N. M., & Boucherit-Otmani, Z. (2014). Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Phytothérapie*, 12(6), 380–385. <https://doi.org/10.1007/s10298-014-0863-5>
- MUYLAERT A, M. J. g. (2012). *Résistances bactériennes aux antibiotiques: Les mécanismes et leur « contagiosité »*.
- Nassima, B.-B., Thoraya, D., & Abderrahman, A. (2016). *DIFFERENT SOLVENTS AGAINST SOME PATHOGENIS MICROORGANISMS*.
- *Probiotiques, prébiotiques et le microbiome*. (2024). <https://badgut.org/wp-content/uploads/GIS-PIH-PR-2024-04.pdf>
- Renard, E. (2023). *Études biophysiques et structurales d'antibiotiques ciblant le ribosome*.
- Sabrina, B. (2018). *En Biologie Présentée par*.
- Sanders, P., Bousquet-Melou, A., Chauvin, C., & Toutain, P. L. (2011). Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRAE Productions Animales*,

24(2), 199–204. <https://doi.org/10.20870/productions-animales.2011.24.2.3254>

- Seguès, É. (2020). *Les probiotiques pour la beauté de la peau: Développement d'un complément alimentaire destiné au marché français.*
- Sornplang, P., & Piyadeatsoontorn, S. (2016). Probiotic isolates from unconventional sources: A review. *Journal of Animal Science and Technology*, 58(1), 26.
<https://doi.org/10.1186/s40781-016-0108-2>
- Tascini, C., Sozio, E., Viaggi, B., & Meini, S. (2016). Reading and understanding an antibiogram. *Italian Journal of Medicine*, 10(4), 289.
<https://doi.org/10.4081/itjm.2016.794>
- Traoré et al. (2012). *Recherche des activités antifongique et antibactérienne des feuilles d'Annona senegalensis Pers. (Annonaceae).*
- Trémolières, F., Cohen, R., & Schlemmer, B. (2006). *Requiem pour les antibiotiques Faut-il craindre une disparition des antibiotiques ? 12.*
- Truong, W. R., Hidayat, L., Bolaris, M. A., Nguyen, L., & Yamaki, J. (2021). The antibiogram: Key considerations for its development and utilization. *JAC-Antimicrobial Resistance*, 3(2), dlab060. <https://doi.org/10.1093/jacamr/dlab060>
- Twarużek, M., Zastempowska, E., Soszczyńska, E., & Ałtyn, I. (2018). The use of in vitro assays for the assessment of cytotoxicity on the example of MTT test. *Acta Universitatis Lodzianae. Folia Biologica et Oecologica*, 14, 23–32.
<https://doi.org/10.1515/fobio-2017-0006>
- Uddin, T. M., Chakraborty, A. J., Khusro, A., Zidan, B. R. M., Mitra, S., Emran, T. B., Dhama, K., Ripon, Md. K. H., Gajdács, M., Sahibzada, M. U. K., Hossain, Md. J., & Koirala, N. (2021). Antibiotic resistance in microbes: History, mechanisms, therapeutic strategies and future prospects. *Journal of Infection and Public Health*, 14(12), 1750–1766. <https://doi.org/10.1016/j.jiph.2021.10.020>

- Van Belkum, A., Burnham, C.-A. D., Rossen, J. W. A., Mallard, F., Rochas, O., & Dunne, W. M. (2020). Innovative and rapid antimicrobial susceptibility testing systems. *Nature Reviews Microbiology*, *18*(5), 299–311. <https://doi.org/10.1038/s41579-020-0327-x>
- Zahrae Radi, F., Bencheikh, N., Anarghou, H., Bouhrim, M., Alqahtani, A. S., Hawwal, M. F., Noman, O. M., Bnouham, M., & Zair, T. (2023). Quality control, phytochemical profile, and biological activities of *Crataegus monogyna* Jacq. And *Crataegus laciniata* Ucria fruits aqueous extracts. *Saudi Pharmaceutical Journal*, *31*(10), 101753. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2023.101753>
- Zinner, S. H. (2007). *Antibiotic use: Present and future*.