

MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
UNIVERSITE AKLI MOHAND OULHADJ – BOUIRA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET DES SCIENCES DE LA TERRE
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Réf :/UAMOB/FSNVST/2023

MEMOIRE DE FIN D'ETUDES
EN VUE DE L'OBTENTION DU DIPLOME MASTER

Domaine : SNV **Filière : Sciences Biologiques**

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

KOURDACHE Fairouz & BANOUH Abdelhadi

Thème

Criblage de l'effet antibactérienne de quelques miels de l'Algérie sur des germes multi résistants (*Acinetobacter baumannii*)

Soutenu le : 02 / 07 / 2023

Devant le jury composé de :

<i>Nom et Prénom</i>	<i>Grade</i>		
<i>Dr MESSAD S</i>	<i>MCA</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Président</i>
<i>Dr DJENADI K</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Promotrice</i>
<i>Dr LIBDIRI F</i>	<i>MCB</i>	<i>Univ. de Bouira</i>	<i>Examineur</i>

Année Universitaire : 2022/2023

Remerciements

Avant tout, on remercie ***Dieu le tout puissant et miséricorde de dieux*** de nous avoir donné la chance d'étudier et de nous avoir procuré force, courage, et patience pour compléter ce travail.

Un grand merci pour ***nos parents*** qui ont veillé sur nous, et qui ont tout sacrifié pour notre bien-être.

A notre encadreur

Mme DJENADI Katia, enseignant chercheur à la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et des Sciences de la Terre, Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira

On vous remercie pour votre aide, orientation et tolérance qui nous ont encouragées durant ce labeur, et surtout pour votre disponibilité malgré vos obligations professionnelles.

Veillez croire à l'expression de notre profonde reconnaissance et notre grand respect.

Aux membres du jury

Qui nous ont fait l'honneur de faire partie du jury. On vous exprime notre profond respect et notre gratitude.

Aux apiculteurs

Qui nous ont aidé à procurer les échantillons de miel soit dans la région de Bouira ou la région de Djelfa surtout Mr BENLAKHEL

Dédicaces

En signe de respect et d'appréciation, je tiens à dédier ce travail :

À ma chère Maman, pour tout l'amour et le soutien inconditionnel que tu m'as apporté tout au long des étapes de ma vie. Je ne sais pas comment te remercier pour tout ce que tu as fait pour moi, c'est grâce à toi si j'en suis arrivée là. Cette journée marque l'aboutissement de ces années de travail, j'espère te rendre fière. Que Dieu te garde pour moi.

À mon cher Papa, pour tous ce que tu m'as transmis les valeurs du travail, de la rigueur et de l'ambition. Tu m'as toujours soutenue et aidée à avoir confiance en moi lorsque j'en avais besoin.

À Mes frères et ma sœur, mes amies et toute ma famille, parce que nous sommes très unis. Merci pour tous les souvenirs que nous nous sommes construits ensemble aussi drôles les uns que les autres, pour tous ces moments de complicité et pour votre présence dans les moments les plus durs.

Je dédie également ce travail à tous ceux qui m'ont encouragée et aidée à réaliser ce travail de près ou de loin et qui ont participé à ma réussite.

KOURDACHE Fairouz

Dédicaces

Chaque jour qui passe je remercie **Allah** et je le prie tout le temps de me donner la force de suivre le chemin qu'il m'a tracé afin de mener à bien le destin qu'il m'a prévu.

Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite.

Je dédie ce travail

Aux personnes les plus chères au monde, à **mes parents**

La raison de ce que je suis devenue aujourd'hui

A ma chère maman

Aucun mot, aucune phrase ne peut exprimer mes sentiments profonds d'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour toi. Tu as été toujours présente à mes côtés et m'a soutenue et encouragée durant toutes mes études, tes conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Que ce travail puisse être le résultat de tes efforts et de tes sacrifices et un début de mes récompenses envers toi. Puisse Dieu, le tout puissant te donner santé, bonheur et longue vie.

A mon papa

Je t'exprime mes profondes affections et ma gratitude, Tu m'as appris à me battre jusqu'au bout pour réussir, A la lumière de mes jours, la source de mes efforts, Aucun mot ne saurait exprimer ma gratitude, mon amour et mon profond respect. Puisse Dieu, tout puissant, te prêter longue vie, santé et bonheur.

A mes amis

Surtout « **IFRAH Youba et GUETTAL Wahid** » merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble. Merci pour votre présence dans ma vie.

A toute la famille chacun par son nom

A tous mes camarades d'étude.

BANOUH Abdelhadi

Table de matière

Introduction	1
La revue bibliographique	
Chapitre I : Généralités sur le miel	
1. Les types de miel.....	3
2. L'origine de miel.....	3
3. Les composants de miel	4
4. Les activités biologiques du miel	7
4.1. L'activité antimicrobienne	7
4.2. L'activité antioxydante.....	9
5. L'utilisation de miel par l'homme.....	11
Chapitre II : Les <i>A. baumannii</i> résistants aux antibiotiques	
1. Les <i>Acinetobacter baumannii</i> multi résistantes	13
1.1. Habitat	14
1.2. Caractères bactériologiques.....	14
1.3. Caractères biochimiques	16
1.4. Pouvoir pathogène et virulence	16
1.5. Manifestations cliniques.....	17
1.6. Résistance aux antibiotiques	20
Chapitre III : Matériels et méthodes	
I. Matériels	22
1. La souche bactérienne " <i>A. baumannii</i> "	22
2. Les miels utilisés	22
II. Méthodes	23
1. Le criblage de l'activité antibactérienne	23
1.1 Préparation des solutions de miels à tester.....	23
1.2. Les informations en relation avec les miels étudiés	24

1.3. Détermination de l'activité antibactérienne des miels sur la souche.....	25
1.3.1. Préparation de l'inoculum	25
1.3.2. La méthode de diffusion sur la gélose.....	25
2. Détermination de la concentration minimale d'inhibition	25
2.1. La méthode des puits.....	25
2.2. La méthode des spots	26
3. L'étude de l'effet synergique des différents miels	26
Chapitre IV : Résultats	27
Chapitre V : Discussion	33
Conclusion	36
Références bibliographiques	37
Résumé	48

Liste des figures :

Figure 01 : L'observation microscopique d' <i>Acinetobacter</i>	15
Figure 02 : Les colonies de la souche <i>A. baumannii</i> sur milieu MacConkey	16
Figure 03 : Les différentes voies possibles d'infection nosocomiale par <i>Acinetobacter baumannii</i>	18
Figure 04 : L'image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm d' <i>Acinetobacter baumannii</i> sur une sonde urinaire (x3000).	19
Figure 05 : Les quatre (4) échantillons de miel.....	23
Figure 06 : Les résultats de l'activité antibactérienne des miels 1 g/ml sur <i>A. baumannii</i>	29
Figure 07 : Les résultats de l'activité antibactérienne des miels 0.25 g/ml sur <i>A. baumannii</i>	29
Figure 08 : Le résultat de méthode de spots de la concentration de 0.03125g/ml	30
Figure 09 : Le résultat de méthode de spots de la concentration de 0.0625g/ml	31
Figure 10 : Les résultats de la synergie des miels (EF, EL et EM) sur <i>A. baumannii</i>	32
Figure 11 : Les résultats de la synergie des miels (FL, FM et LM) sur <i>A. baumannii</i>	32

Liste des tableaux :

Tableau I : Les effets thérapeutiques de quelques types de miel.....	10
Tableau II : La classification d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	14
Tableau III : Les caractéristiques géographique et climatiques des miels étudiés	24
Tableau IV : Les résultats de l'activité antibactérienne du miel dissous dans l'eau et l'éthanol	27
Tableau V : Les résultats de la CMI avec la méthode des puits des miels.	28
Tableau VI : Les résultats de la CMI sur milieu solide (méthode des spots)	30
Tableau VII : Les résultats de la synergie des quatre (4) échantillons de miel avec la souche <i>A. baumannii</i>	31

Liste d'abréviations :

MGO : Méthylglyoxal

HSV : Herpès simplex virus

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine

VRS : Virus respiratoire syncytial

VZV : Virus varicelle-zona

SARS-CoV2 : Virus de Corona

CMI : Concentration minimal inhibitrice

BMR : Bactérie multi-résistante

BLSE : Béta-lactamase à spectre étendu.

OXA : Oxacillinase

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

ADN : Acide Désoxyribonucléique

IU : Les infections urinaires

PN : Pneumonies nosocomiales

LPS : Lipopolysaccharides

Introduction

Introduction

Depuis des milliers d'années, de nombreuses civilisations se sont efforcées de débloquent les propriétés nutritionnelles, thérapeutiques, cicatrisantes, antiseptiques et antimicrobiennes du miel (Lequet, 2010). En plus de son efficacité dans le traitement des brûlures et des plaies, plusieurs expériences ont montré que le miel peut combattre efficacement et avec acharnement de nombreux microbes. Tous les types de miel ont des effets antibactériens, mais certains miels sont plus actifs que d'autres (Badawy *et al.*, 2004).

En effet, la composition quantitative de ce produit végétal est influencée par de nombreux facteurs incontrôlables, tels que : Flore fourragère et nature du sol dans lequel ces plantes poussent, conditions climatiques lors de la miellée, espèces d'abeilles, physiologie de la colonie, etc. (Bendahou et Hasnat, 2002 ; Philippe, 1999).

Plusieurs études ont montré que les composés clés du miel responsables de l'activité antibactérienne sont définis comme suit : composés phénoliques, tanins et flavonoïdes, inhibines non peroxydées comme le lysozyme, substances volatiles et aromatiques (Al-kafaween *et al.*, 2023 ; Bruzinski, 2006). Cependant, l'effet antibactérien du miel est principalement lié à sa forte teneur en sucre. Son hyperosmolarité permet d'extraire l'eau contenue non seulement dans l'œdème mais aussi dans les bactéries, provoquant la déshydratation et la lyse des bactéries (Bessas, 2008). Même dilué, le miel conserve son efficacité contre les bactéries. En effet, en présence d'eau, le peroxyde d'hydrogène est produit par l'activation d'une enzyme appelée glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène produit est donc le principal ingrédient actif responsable des effets antiseptiques et antibactériens du miel. De plus, le pH acide du miel de 3,0 à 4,5 confère une acidité relativement élevée et peut inhiber plusieurs types de bactéries (Brudzynski, 2006 ; Siess *et al.*, 1996).

La résistance bactérienne aux antibiotiques est aujourd'hui l'un des problèmes majeurs de santé publique. Cela est dû à l'émergence et à la propagation de souches résistantes en raison d'une combinaison d'antibiotiques non réglementés et excessifs et de nombreuses mutations génétiques dans le règne bactérien (Perretein *et al.*, 1997).

Le développement d'une nouvelle classe d'agents antimicrobiens est essentiel et urgent pour faire face à cette situation alarmante. L'utilisation du miel et des produits apicoles pour lutter contre les micro-organismes présente un intérêt particulier dans ce contexte.

Introduction

Depuis un quart de siècle, les chercheurs du monde entier sont fascinés par de mystérieux produits en nid d'abeille riches en principes actifs aux propriétés antibiotiques naturelles (El-Seedi *et al.*, 2022 ; Assie, 2004). En Algérie, le miel a également attiré l'attention des chercheurs algériens qui se sont investis dans l'évaluation de l'efficacité antimicrobienne du miel (Merah *et al.*, 2010). Nous confirmons également la conformité aux normes Codex pour les paramètres physico-chimiques du miel algérien (Benddouche et Dahmani, 2011).

Dans notre étude, nous avons criblé l'activité antibactérienne de quatre échantillons de miel naturel prélevés chez différents apiculteurs de Wilaya en Algérie, à savoir les apiculteurs de Bouira (Semmache, Ait Laaziz, Ain Bessam) et Djelfa (Benhar). Quatre échantillons sont testés avec la souche bactérienne multirésistante *Acinetobacter baumannii*.

Notre document est constitué d'une partie théorique, le chapitre un traitant des généralités sur le miel et le chapitre deux traitant des *A. baumannii* résistants aux antibiotiques. Il comprend également une partie expérimentale, qui décrit les matériaux et les méthodes utilisées dans l'étude, les résultats observés et la discussion. Enfin, il y a des conclusions concrètes et générales et une liste de références, un aperçu du PFE en trois langues.

Chapitre I :

Généralités sur le miel

Chapitre I : Généralités sur le miel

Le miel est une substance sucrée naturelle produite par des abeilles européennes de l'espèce *Apis mellifera*. Cette substance thérapeutique est fabriquée à partir de nectar de fleurs, de certaines sécrétions végétales ou d'aliments pour insectes laissés par les parties vivantes des plantes. Les abeilles combinent certaines substances qu'elles-mêmes sécrètent, les transforment, les sédimentent, les déshydratent, les stockent et les laissent dans la ruche pour la purification et la maturation (Eteraf-Oskouei et Najafi, 2012 ; Bendeddouche et Dahmani, 2011). Le miel est donc une composition complexe résultant d'interactions entre les systèmes métaboliques de l'abeille, de la fleur, du sol et du fourrage liés à la spécificité génétique de l'abeille (Bonté, 2013).

1. Les types de miel

Il existe de nombreux types de miel, classés selon différentes manières à savoir la source florale.

A/ Miel mono floral (uni-floral)

Le miel uni-floral à base de nectar et/ou de miellat est issue d'une espèce végétale unique récoltée par les abeilles, cela nécessite d'installer des ruches à côté des plantes ciblées. Par exemple : miel d'acacia, de fleur d'oranger, d'eucalyptus ou de lavande (Rossant, 2011).

Les nectars uni-floraux présentent des caractéristiques physicochimiques et organoleptiques spécifiques (Bogdanov, 2003).

B/ miel poly-floral

Le miel de toute fleurs est obtenu à partir du nectar et/ou du miellat de certaines plantes. Les apiculteurs doivent indiquer leur origine géographique en indiquant les zones de production, les régions, les départements et même les périodes de récolte pour souligner les particularités de l'apiculture et permettre aux consommateurs d'en reconnaître les principales caractéristiques. Ainsi, on trouvera de nombreux types différents tels que le miel de montagne, le miel de printemps, le miel de forêt, le miel de maquis...etc (Rossant, 2011).

2. L'origine de miel

Généralement, le miel est fabriqué par les abeilles à partir des sucres que les plantes produisent sous forme de miellat ou de nectar (Anchling, 2005).

Chapitre I : Généralités sur le miel

A/ Nectar

Liquide plus ou moins sucré et aromatisé (Hoyet, 2005), contenant environ 5 à 75% de sucres, d'acides organiques, de protéines, d'acides aminés libres, des enzymes, des lipides, des vitamines et de composés inorganiques (Meda *et al.*, 2005). Selon l'origine végétale, le nectar contient plus ou moins de saccharose. Ils sont divisés en trois (3) à savoir :

- Le nectar avec prédominance du glucose et du fructose ;
- Le nectar à taux égal de saccharose, glucose et fructose ;
- Le nectar avec prédominance du saccharose (Shweitzer, 2005).

B/ Miellat

Le miellat est un liquide odorant produit et excrété par plusieurs espèces d'insectes parasites tels que les pucerons et cochenilles qui vivent sur les feuilles de nombreuses plantes (Hoyet, 2005). Ensuite les abeilles vont récolter ce miellat et le transformeront en miel (Cavelier, 2013). Ce dernier a une couleur foncée, il est constitué de sels minéraux, de sucres complexes, d'acides organiques, et d'azote (Desmoulière, 2013). Il est plus dense que le nectar, il se cristallise moins rapidement et a un goût agréable (Schweitzer, 2004).

3. Les composants de miel

Le miel est un produit très complexe avec un pH entre 3,5 et 6, incluant généralement des glucides (sous forme de sucres ou de polysaccharides divers) représentaient environ 80 %, l'eau représentait 17 %. A propos et divers éléments (acides aminés, protéines, acides organiques, lipides, enzymes, pigments, vitamines et sels minéraux) La base douce de miel peut affecter la biodisponibilité des molécules qu'il contient (Bonté *et al.*, 2011 ; Gomez-Caravaca *et al.*, 2006).

A/ Les glucides

Les glucides représentent plus de 95% à 99% de la matière sèche du miel, et les sucres sont le fructose et le glucose, qui sont présents en quantités égales dans le miel. Cependant, le rapport fructose sur glucose est très élevé, autour de 0,76 à 1,76, il peut donc atteindre 7 % de saccharose et 2 à 7 % de maltose (Khenfer *et al.*, 2001).

Chapitre I : Généralités sur le miel

B/ L'eau

Le miel est une solution aqueuse dont la teneur en eau varie de 13,9 % à 20,2 % (Makhloufi *et al.*, 2010). La quantité de cet ingrédient dépend de plusieurs facteurs, dont l'origine géographique du miel, la source des fleurs, les conditions météorologiques et les traitements éventuels des abeilles (Al-Kafaween *et al.*, 2023). Ouchemoukh *et al* (2007) et Chefrour *et al* (2007) ont trouvé une teneur en humidité de 14,6 à 19,0% dans 11 échantillons de miel de Béjaïa (Algérie), et ainsi Chefrour *et al* (2007) a révélé une valeur qui varie de 16,0 à 20,4 %. Les valeurs vont de 16,0 à 21,8% pour les échantillons tunisiens (Jilani *et al.*, 2008). Terrab *et al* (2003a) ont observé une moyenne de 17,5 % (fourchette de 14,5 à 19,9 %) dans 29 espèces de miel d'eucalyptus marocain.

C/ Les substances antibiotiques

Le miel contient également des substances antibiotiques naturelles appelées inhibines, des agents bactériostatiques tels que le peroxyde d'hydrogène, l'un des principaux inhibiteurs contenus dans le miel, et il peut également y avoir des résidus de médicaments utilisés comme traitement des colonies, tels que le chloramphénicol, la tétracycline, la sulfadiazine (Homrani, 2020).

D/ Les protéines et les acides aminés

Les protéines et les acides aminés se trouvent à de faible teneur dans miel (0,26%) et en azote négligeable, environ 0,041 %. Essentiellement peptone, albumine, globuline sont obtenus à partir de plantes ou sécrétions d'abeilles. Ainsi que la présence d'une petite quantité d'autres acides aminés libres à savoir la proline, la trypsine, la glycine, la méthionine, l'alanine ou l'histidine. (Bonté, 2013).

E/ Les acides organiques

Les acides organiques sont présents en très faible quantité (moins de 0,6%) dans la composition du miel, mais ils sont très importants sur certains caractères physico-chimiques tels que la couleur, la saveur et la conservation (Suto *et al.*, 2020 ; Machado De-Melo *et al.*, 2018). Les acides présents dans les composants du miel sont comme suit : Acétiques, lactique, propionique, citrique, succinique, oxalique, pyroglutamique et butyrique. En fait, l'acide gluconique, qui est dérivé du glucose, est le plus dominant et considéré comme le principal acide organique présent dans les composants du miel. Sa part représente 70% à 90% (Cucu *et al.*, 2021).

Chapitre I : Généralités sur le miel

F/ Les lipides

Les composés lipidiques sont présents dans le miel à des niveaux très faibles (environ 0,04%) sous forme de glycérides, de stérols, de divers phospholipides et d'acides gras tels que les acides oléiques, linoléiques et palmitiques. Ils proviennent de plantes et principalement de résidus de cire (Machado De-Melo *et al.*, 2018).

G/ Les enzymes

Le miel contient diverses enzymes actives qui jouent un rôle important dans ses fonctions chimiques et biologiques. Leurs sources sont soit le nectar, soit les sécrétions salivaires des abeilles, soit les micro-organismes présents dans le miel (Ranneh *et al.*, 2021). Parmi les enzymes retrouvées, on trouve notamment l'amylase, qui décompose l'amidon en maltose. Il existe également la catalase, la phosphatase et la glucose oxydase qui convertissent le glucose en gluconate et en peroxyde d'hydrogène. Il existe également la glucose invertase (la plus connue) qui permet de décomposer le saccharose en fructose et glucose (Kouanou *et al.*, 2020). Ces enzymes peuvent être détruites par la chaleur, et la présence ou l'absence d'enzymes peut indiquer une surchauffe du miel (Roussant, 2011).

H/ Les pigments

Ceux-ci affectent principalement la couleur du miel. On distingue les caroténoïdes et les flavonoïdes (appartenant aux polyphénols). Ils ont des propriétés antioxydantes très intéressantes et neutralisent les radicaux libres. La quantité et le type de flavonoïdes varient selon l'origine botanique et géographique de la fleur. En général, plus le miel est foncé (sarrasin, miellat, tournesol, etc.), plus le miel est riche en flavonoïdes. La pinocembrine, la pomme de pin, la chrysin, la lutéoline, la galangine, le kaempférol et la quercétine sont les flavonoïdes qui composent le miel (Al-farsi *et al.*, 2018 ; Bonté, 2013).

I/ Les vitamines

Le miel contient des vitamines B (thiamine B1, riboflavine B2, niacine B3, acide pantothénique B5, pyridoxine B6, acide folique B9), de la vitamine C (acide ascorbique), de la vitamine E (tocophérol), de la vitamine anti-hémorragique (K) (Terzo *et al.*, 2020).

Les vitamines communes trouvées dans le miel de miellat sont les vitamines B, mais le nectar est riche en vitamine C (Seraglio *et al.*, 2019).

J/ Les sels minéraux

La teneur en minéraux du miel varie de 0,04 % pour le miel clair à 0,2 % pour le miel foncé. Les principaux minéraux proviennent principalement du sol et des plantes mellifères que les abeilles mangent, mais la contamination de l'environnement doit également être prise en compte (Miguel *et al.*, 2017). Les sels inorganiques comprennent des oligo-éléments tels que le cuivre, le fer, le manganèse et le zinc. Macroéléments comme le potassium, le calcium et le sodium. Métaux lourds comme le plomb. Aussi les autres minéraux tels que magnésium, chlore, soufre, silicium et plus de 30 oligo-éléments. Leur contenu dépend de type de la plante et de sol dans lesquels poussent les abeilles (Zhu *et al.*, 2020).

4. Les activités biologiques du miel

Le miel est un aliment et un médicament en raison de ses nombreuses propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes, thérapeutiques, etc.). Ces propriétés sont principalement dues à leur composition, qui varie selon les plantes dont se nourrissent les abeilles, ainsi que les conditions climatiques et environnementales (Lobreau-Callen *et al.*, 2000). Les chercheurs ont récemment prouvé scientifiquement les nombreux bienfaits du miel, notamment antibactériens, antifongiques, antiviraux et cicatrisants. Il y a un regain d'intérêt pour de tels traitements à une époque où la médecine moderne est confrontée à divers problèmes tels que la résistance aux antibiotiques, l'augmentation des coûts des soins de santé, etc. soi-disant naturopathie. Le miel mérite plus d'attention de la part de la communauté médicale en raison de ses diverses propriétés (Hoyet, 2005).

4.1. L'activité antimicrobienne

Le miel, avec sa forte teneur en sucre et de son pH acide, est défini comme un milieu hypertonique inhibiteur de croissance des agents pathogènes (Salomon *et al.*, 2010). L'activité antimicrobienne du miel varie selon la source végétale de nectar, de miellat et de la teneur en différents antioxydants (Al-Mamary *et al.*, 2002). Le miel a des effets qui peuvent être bactériostatiques ou bactéricides sur des micro-organismes pathogènes et non pathogènes (levure et champignons), selon la concentration utilisée (Manyi-Loh *et al.*, 2011). Les différents facteurs antimicrobiens du miel sont variables à savoir : l'eau oxygénée qui est le principal facteur puissant formée de l'oxydation du glucose en acide gluconique en présence de glucose oxydase sécrétée par les abeilles, l'acidité, méthylglyoxal (MGO), l'osmolarité et les inhibines non-péroxydes qui fournissent la plupart des propriétés antimicrobiennes du miel (Avisse, 2014 ; Kwakman et Van den Akker, 2008).

Chapitre I : Généralités sur le miel

Pour comprendre le rôle du peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) dans les effets antibactériens du miel, de nombreux chercheurs scientifiques ont fait des études sur l'enzyme de glucose oxydase qui est un très bon conservateur de ce produit (Brudzynski, 2006). Il est sécrété par les glandes hypopharyngées des abeilles lors de la transformation du nectar en miel, permettant de se produire par une réaction enzymatique. Par conséquent, l'action du peroxyde d'hydrogène peut être un effet néfaste pour les bactéries résistantes telles que *Staphylococcus aureus* (Brudzynski *et al.*, 2012).

En raison de sa forte teneur en sucre, le miel a un effet osmotique sur les cellules et peut entraîner une déshydratation des cellules germinales. Cependant, le miel est plus efficace pour inhiber la croissance de diverses bactéries, en particulier les staphylocoques à coagulase négative (French, 2005). Le miel a également un pH relativement acide de 3,5 à 6, et ces niveaux de pH semblent ralentir ou empêcher la croissance de certaines espèces bactériennes pathogènes (Couquet *et al.*, 2013).

Le miel inhibe également la croissance et le développement de virus tels que le virus de l'herpès simplex (HSV), le virus de l'immunodéficience humaine (VIH), le virus respiratoire syncytial (VRS), le virus varicelle-zona (VZV), l'adénovirus et la grippe. Cet effet antiviral est lié à la présence de certains composés bioactifs dans le miel. La consommation de miel, en particulier, peut aider à réduire la gravité du COVID-19 soit directement par ses effets antiviraux potentiels contre le SRAS-CoV-2, soit indirectement en stimulant le système immunitaire (Al-Hatamleh, 2020).

Comme les bactéries, les parasites et les virus, les champignons microscopiques sont des microorganismes qui attaquent les êtres vivants. Dont, le miel a prouvé son efficacité contre les champignons filamenteux tels que les dermatophytes sont à l'origine d'une maladie fongique très fréquente chez l'homme. Des études ont montré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment les toxines d'origine fongique. Il inhibe complètement la croissance de genre *Aspergillus* tels que *Aspergillus flavus*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus fumigatus*,... et de genre *Candida* tels que *Candida albicans*, *Penicillium* et autres moisissures (Rossant, 2011).

Chapitre I : Généralités sur le miel

Les propriétés antifongiques du miel en font une thérapie intéressante pour le traitement des infections associées à *Candida*, en particulier pour une application topique sur la peau et les muqueuses. De plus, contrairement à la plupart des antifongiques, la résistance au miel ne peut pas être induite et l'osmose du miel doit être considérée comme un mécanisme antifongique intrinsèque (Fernandes *et al.*, 2021).

Le miel a également des propriétés antiparasitaires. Il supprime différentes espèces de *Leishmania* qui causent des maladies cutanées ou viscérales qui peuvent être mortels si elles ne sont pas traitées (Avisse, 2014).

4.2. L'activité antioxydante

Les antioxydants sont des substances présentes à faible concentration qui inhibent, retardent ou empêchent les processus d'oxydation et leurs conséquences. Les mécanismes de protection antioxydante du miel utilisent des enzymes telles que la peroxydase, des composés phénoliques, des flavonoïdes et des acides organiques tels que l'acide ascorbique. Cependant, les plus importants dans cet effet sont les composés phénoliques appartenant à la classe des antioxydants primaires ou des piègeurs de radicaux libres. Leur action repose sur leur capacité à désactiver les radicaux libres en donnant de l'hydrogène aux radicaux libres existants, inhibant ainsi la propagation des réactions radicalaires. D'autres composants du miel appartiennent aux antioxydants secondaires ou prophylactiques et empêchent la formation de radicaux libres par divers mécanismes. Certains chélatent les ions métalliques, réduisant leurs effets pro-oxydants. Certains acides organiques et certaines protéines (Genot, 2004). Un rôle clé est joué soit par :

Le miel naturel a également montré d'autres effets thérapeutiques notables chez l'homme, avec des propriétés nettoyantes et antiseptiques. De plus, l'impact énergétique sur les profils des jeunes cellules favorise la prolifération cellulaire. Des études comparatives ont montré des résultats très intéressants concernant la cicatrisation des brûlures et des plaies nécrotiques grâce à la capacité du miel à absorber l'humidité de l'air (Merah *et al.*, 2010).

Le miel est la source de la guérison de l'être humain. Il se digère facilement et est donc bien efficace pour traiter les infections gastriques et intestinales et réduire l'inflammation ou des ulcères d'estomac.

Chapitre I : Généralités sur le miel

De plus, le miel améliore également les fonctions cérébrales. Le cerveau étant l'organe qui consomme le plus de sucre, le miel est le remède le plus efficace contre la fatigue et l'amélioration des performances sportives. Il aide à faire du sang. De plus, il joue un rôle important dans la circulation et la purification du sang (Amirat, 2014).

Prendre du miel par voie orale peut traiter ou soulager instantanément la toux et les maux de gorge. En raison de ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, il peut également aider à soulager les symptômes du rhume et apaiser les voies respiratoires (Jean-prost et Medori, 2005).

Tableau I : Les effets thérapeutiques de quelques types de miel (Oudjet, 2012)

L'origine de miel	L'effet thérapeutique
Montagne	Anémie
Romarin	Troubles digestifs
Poly-floral	Troubles respiratoires
Tournesol	Troubles cardiaques
Acacia	Anti-inflammatoire
Arbousier	Antiasthmatique
Sapin	Antiseptique
Jujubier	Troubles hépatiques
Tilleul	Calmant nerveux
Oranger	Favorise le sommeil

Chapitre I : Généralités sur le miel

En plus de ses propriétés antibactériennes, le miel aide également à combattre les infections en renforçant le système immunitaire humain. Il a été rapporté que le miel stimule la prolifération des lymphocytes T et B en culture et active également les neutrophiles polymorphonucléaires. Les cytokines sont libérées lorsque les monocytes cultivés sont stimulés. Le miel stimule non seulement ces globules blancs, mais fournit également des sucres aux macrophages, leur permettant de produire du peroxyde d'hydrogène, le principal composant de l'activité antibactérienne (Balas, 2015).

Consommer du miel est un bon complément à notre ration alimentaire quotidienne. Il assure un meilleur équilibre des éléments vitaux nécessaires au bon fonctionnement de l'organisme (Nordqvist, 2021). Le miel est une source précieuse de glucides et un aliment savoureux qui contient des oligo-éléments et apporte une diversité nutritionnelle dans certain régime alimentaire. Il possède de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques et il est souvent présent dans la préparation de plats traditionnels (Bradbear, 2005 ; Blanc, 2010).

Du fait de sa richesse en sucres simples tels que le glucose et le fructose, le miel a un pouvoir sucrant supérieur au sucre raffiné (saccharose) et est moins calorique (25% de calories en moins). Donc le miel peut : Satisfaire les besoins énergétiques du corps humains, pour cela, le miel est adapté aux sportifs, aux enfants et aux personnes âgées car il est absorbé rapidement. Peut favoriser la calcification des os et des dents et aussi l'absorption des aliments, en améliorant ainsi la digestion et le transit intestinal. Grâce à sa capacité antioxydante, le miel peut empêcher l'émergence de certains cancers (Oudjet, 2012).

5. L'utilisation du miel par l'homme

Depuis longtemps, le miel est utilisé par les êtres humains comme un aliment et un médicament au même temps. Il est particulièrement sain et très riche en composés bénéfiques pour la santé. Par conséquent, le miel est un aliment connu de l'homme depuis l'Antiquité. Les anciens l'utilisaient de diverses manières. En Égypte, il était considéré comme la source de l'immortalité et servait à entreposer les restes des pharaons. En Babylonie, le miel était utilisé pour les affections des yeux et des oreilles et en Afrique, où il a été utilisé dans les aliments pour fabriquer les bières au miel (Peter, 2008).

Chapitre I : Généralités sur le miel

Les Romains croyaient que le miel était la nourriture préférée des morts, donc il était souvent utilisé pour les embaumer. Le miel est également utilisé à des fins médicinales. Ainsi, Dioscoride a suggéré son utilisation bouillie avec de la poudre de sel pour soigner les plaies, les maux d'oreilles et d'autres maux, Galien l'a recommandé pour combattre l'inflammation des tissus, et Pline a décrit les effets bénéfiques de Hippocrate a reconnu les propriétés curatives du miel dans le traitement des hémorroïdes, des ulcères, de la dysenterie, des coliques et dans la promotion de la cicatrisation des plaies, et était un grand partisan de l'utilisation du miel dans l'alimentation et la médecine (Viel, 2003).

Chapitre II :
Les *A. baumannii* résistants
aux antibiotiques

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

Les bactéries multirésistantes (BMR) aux antibiotiques sont des bactéries qui combinent de multiples mécanismes de résistance contre plusieurs familles d'antibiotiques, limitant les options de traitement en cas d'infection (Cattoen, 2016). Les BMR dont l'épidémiologie est actuellement surveillée sont : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Entérobactérie* productrice de β -lactamase à spectre étendu (E-BLSE) et *Acinetobacter baumannii* multirésistant (ABRI).

Les entérobactéries sont des Bacilles à Gram négatif. Chez l'Homme, le réservoir des entérobactéries est le tube digestif à partir duquel la contamination urinaire et cutanée est fréquente (Fauchère et Avril., 2002). Les entérobactéries productrices de BLSE, comme les autres entérobactéries, ne sont pas pathogènes, mais les infections qu'elles provoquent sont plus difficiles à traiter car sont résistantes à de nombreux antibiotiques (Soussy, 2007). Plusieurs études ont été réalisées pour rechercher les *Enterobacteriaceae* productrices de BLSE (*E. coli*, *Salmonella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Klebsiella*, etc.) (Courvalin et Leckleck, 2012).

1. Les *Acinetobacter baumannii* multi résistantes

L'*Acinetobacter* cocobacillus est courte, souvent classée comme diplocobacillus, immobile et Gram-négatif. Elles sont strictement aérobies, souvent en capsules qui ne réduisent pas les nitrates, et sont catalase-positifs, oxydase-négatifs (Avril *et al.*, 2000).

Bien que l'*Acinetobacter* ait longtemps été considéré comme un membre de la famille des *Neisseriaceae*, le genre *Acinetobacter* appartient désormais à la famille des *Moraxellaceae* (*Pseudomonadaceae*, *Gammaproteobacteria*, *Proteobacteriaceae*, domaine *Bacteria*) (Tableau II) (Fomba, 2006). Une percée majeure dans l'histoire d'*Acinetobacter* a eu lieu en 1986 grâce à la technique d'hybridation ADN/ADN de Bouvet et Grimmons, qui ont réussi à identifier 12 espèces génomiques, dont certaines étaient clairement *Acinetobacter baumannii* (espèce standard), *Acinetobacter calcoaceticus*, *Acinetobacter haemolyticus*, *Acinetobacter johnsonii*, *Acinetobacter junii* et *Acinetobacter lwoffii* (Dortet *et al.*, 2006).

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

Tableau II : La classification d'*Acinetobacter baumannii* (Rossau *et al.*, 1991)

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>
Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Moraxellaceae</i>
Genre	<i>Acinetobacter</i>

1.1. Habitat

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont considérées comme des micro-organismes omniprésents qui peuvent être isolés du sol, des plans d'eau, des plans d'eau et des eaux usées. Ils peuvent survivre sur des surfaces humides et sèches. Surtout dans les hôpitaux, *Acinetobacter baumannii* est un pathogène commun qui colonise non seulement la peau et les muqueuses des patients (Denis *et al.*, 2016), mais aussi les équipements médicaux comme l'eau du robinet, les pièges à éviter, les lits, les matelas, les oreillers et les surfaces métalliques (Seifert *et al.*, 2008). Ce sont des bactéries qui infectent divers endroits. Il utilise des substrats comme source de carbone et donne un très grand habitat (Flandrois, 1997).

1.2. Caractères bactériologiques

- Caractères morphologiques

L'*Acinetobacter* est une bactérie immobile, strictement aérobie, gram-négatif (Figure 01), non fermentescible de glucose, avec des réactions d'oxydase négative et de catalase positive, avec des cellules de 1,5 µm de long pour former Diprocococobacilles avec 39 à 47% de guanine + cytosine. Ils ont de la nitrate réductase, mais ne réduisent pas la nitrate réductase dans les milieux complexes (Khaldi, 2016).

Les espèces d'*Acinetobacter* ont une enveloppe cellulaire multicouche constituée de membranes cytoplasmiques externe et interne séparées par un espace périplasmique (Uwingabiye, 2018).

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

Certaines souches sont immobiles mais peuvent présenter une « motilité par contraction », un type de motilité résultant de fimbriae polaires défectueuses sur un milieu solide. 30 % des actions d'*A. baumannii* ont une capsule, qui peut être vue sur la coloration de Gram par un halo clair entourant la bactérie (Azzam, 2018).

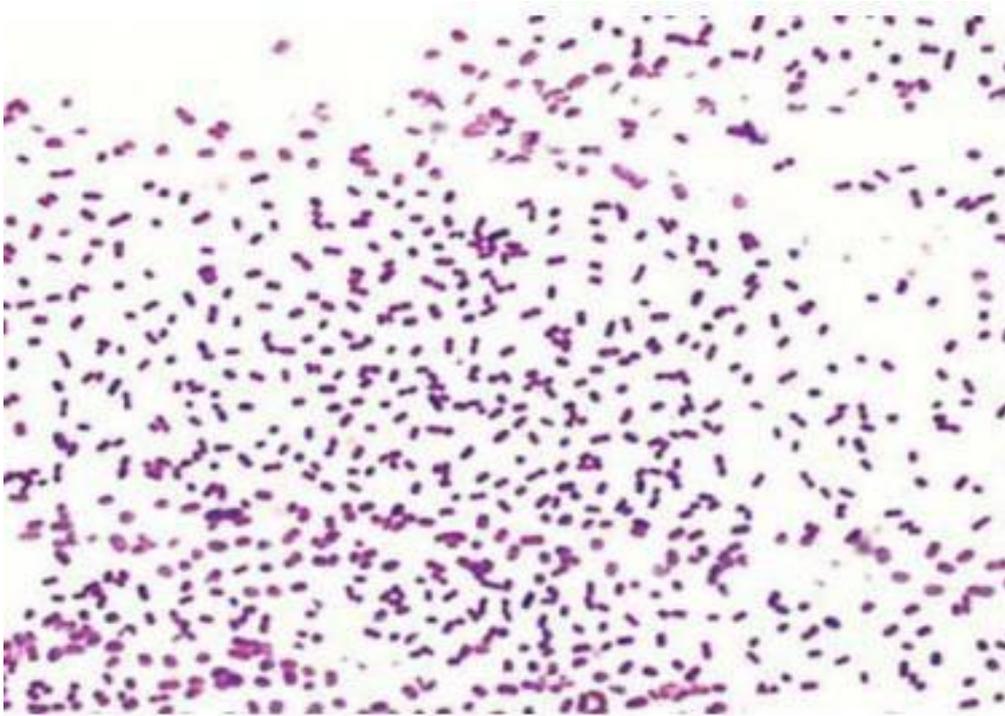


Figure 01 : L'observation microscopique d'*Acinetobacter* (Hidri, 2012)

L'*A. baumannii* est une bactérie complètement aérobie. Il se développe sur des milieux ordinaires non sélectifs (gélose trypticase soja, gélose LB, etc.) et peut être isolé sur des milieux sélectifs des bactéries Gram-négatives (McConkey, Hektoene, Dorigalski agar, etc.). L'incubation a lieu dans les 24 heures à une température de croissance de 41-44 °C. Les colonies sont arrondies, de 1 à 3 mm de diamètre, d'aspect convexe, lisse, parfois visqueux, aux contours réguliers et souvent translucides (Hidri, 2012). Certains *Acinetobacter* produisent une odeur désagréable lorsqu'ils sont cultivés. Certaines souches rares sont hémolytiques sur gélose au sang (Avril *et al.*, 2000 ; Flandrois, 1997).



Figure 02 : Les colonies de la souche *A. baumannii* sur milieu MacConkey (Noor Hussein et Ghada A., 2020)

1.3. Caractères biochimiques

Les bandelettes d'identification "API 20 NE" sont des bandelettes prêtes à l'emploi de 20 microtubes permettant d'effectuer 23 tests biochimiques pour identifier les bactéries à Gram négatif. Après préparation de l'inoculum et ensemencement de la galerie, les souches ont été identifiées comme suit : strictement aérobie, non fermentaire, oxydase négative, catalase positive, lysine et ornithine décarboxylation, arginine dihydrolase, nitrate réductase, gélatinase, hémolyse négative, acidification, pas de produit glucose gazeux, mannose, galactose, xylose, arabinose, lactose (Uwingabiye, 2018).

1.4. Pouvoir pathogène et virulence

L'*A. baumannii* possède plusieurs virulences et pathogénicité, listés ci-dessous :

- Lipopolysaccharide (LPS). Augmente la virulence des souches d'*Acinetobacter* par rapport aux souches non productrices (Joly-Guillou, 2005).

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

- Le quorum sensing est impliqué dans de nombreuses activités microbiennes importantes telles que la biosynthèse des enzymes extracellulaires, la formation de biofilms, la production de biosurfactants, les antibiotiques et la biosynthèse des facteurs de virulence extracellulaires (Smith, 2007).
- Les îlots de virulence contiennent des gènes impliqués dans la virulence, dont les plus importants seraient l'appareil de sécrétion de type IV (Smith, 2007).
- Formation de biofilms qui induisent une résistance à la dessiccation et à la désinfection (Tomaras *et al.*, 2003).
- Absorption du fer par des agents pathogènes qui génèrent des sidérophores capables de capturer le fer des molécules hôtes et de le restituer à la cellule bactérienne pour son utilisation (Crosa *et al.*, 2002).

1.5. Manifestations Cliniques

L'*A. baumannii* est un pathogène opportuniste sans tropisme spécifique. Par conséquent, il peut provoquer de nombreux types d'infections, mais les principales sont les infections communautaires et nosocomiales.

L'*Acinetobacter* est couramment associé à des infections humaines aiguës dans des sols affaiblis. Bien que les infections à *Acinetobacter* aient été décrites il y a 20 ans, elles restent rares, représentant 0,1 % des infections dans la population. Cette dernière est le plus souvent de nature pulmonaire et a une évolution plus sévère que la pneumonie nosocomiale, fréquente dans les zones tropicales (Khaldi, 2016).

L'*A. baumannii* est un agent causal d'infections associées au traitement depuis les années 1980. Cette bactérie a un impact majeur et croissant sur la santé publique car les souches résistantes se propagent rapidement et acquièrent continuellement d'autres mécanismes de résistance (Khaldi, 2016).

De nombreuses infections nosocomiales causées par *A. baumannii* peut être cité comme suit :

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

- Pneumonies nosocomiales

La pneumonie nosocomiale est une infection pulmonaire qui survient pendant l'hospitalisation mais qui n'était pas présente ou développée lors de l'admission du patient. Les maladies pulmonaires précoces et tardives se distinguent en fonction du temps nécessaire à la NP pour se développer. Pour qu'une infection se produise, les agents pathogènes doivent atteindre et coloniser les voies respiratoires inférieures (Chahmout, 2011). Les sources de contamination classiquement reconnues concernent les aspects techniques des soins, l'environnement et le risque d'infection croisée entre patients et soignants ou autres patients (Cook *et al.*, 1998).

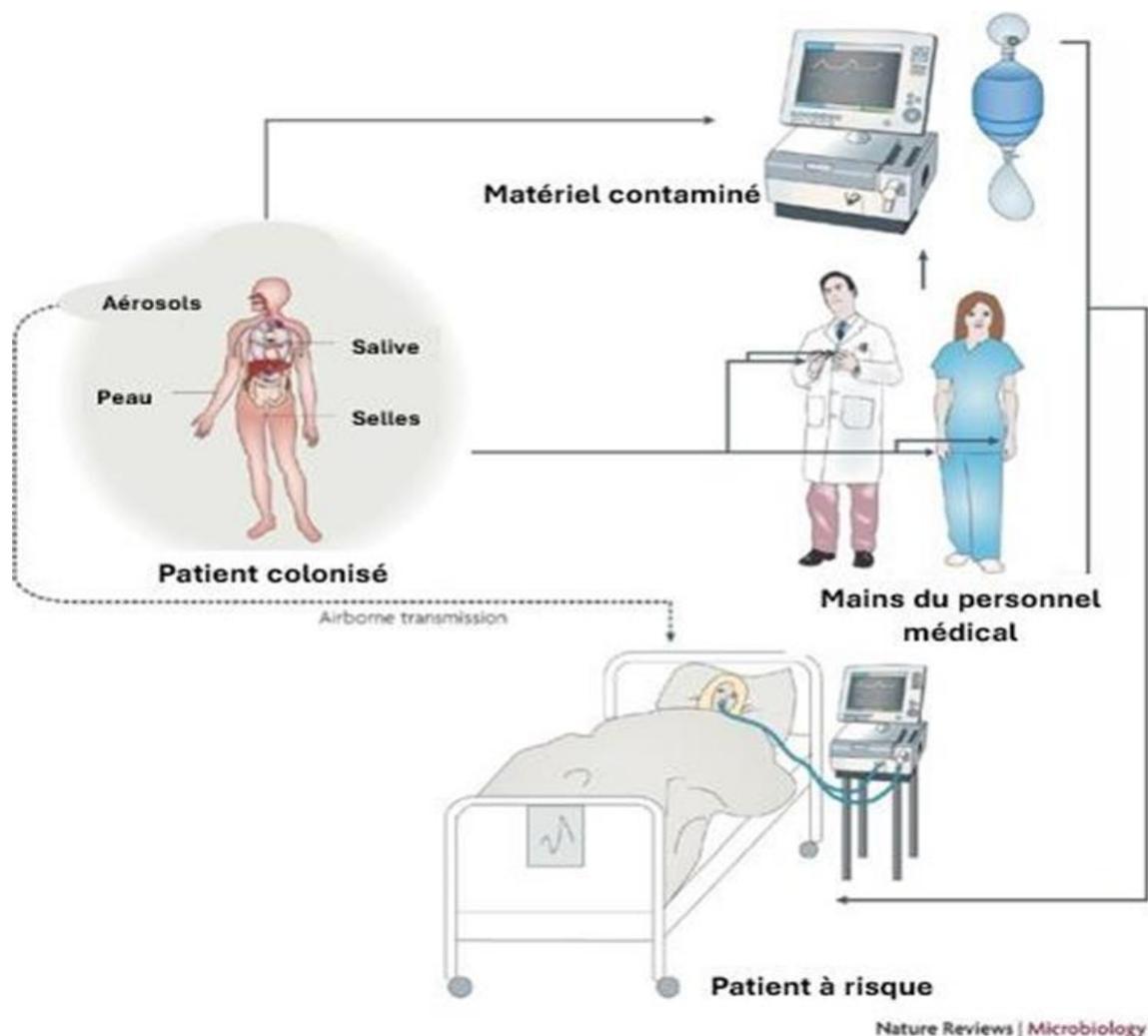


Figure 03 : Les différentes voies possibles d'infection nosocomiale par *Acinetobacter baumannii* (Dijkshoorn *et al.*, 2007).

- Infections urinaires (IU)

C'est l'infection nosocomiale la plus fréquente. Elle se définit par la présence anormale de bactéries dans les urines. Cela inclut à la fois la colonisation asymptomatique ou bactériurie et les infections urinaires symptomatiques qui provoquent des réactions inflammatoires et des signes de nature et d'intensité variables selon la topographie (Cabrolier et Bertrand, 2014).

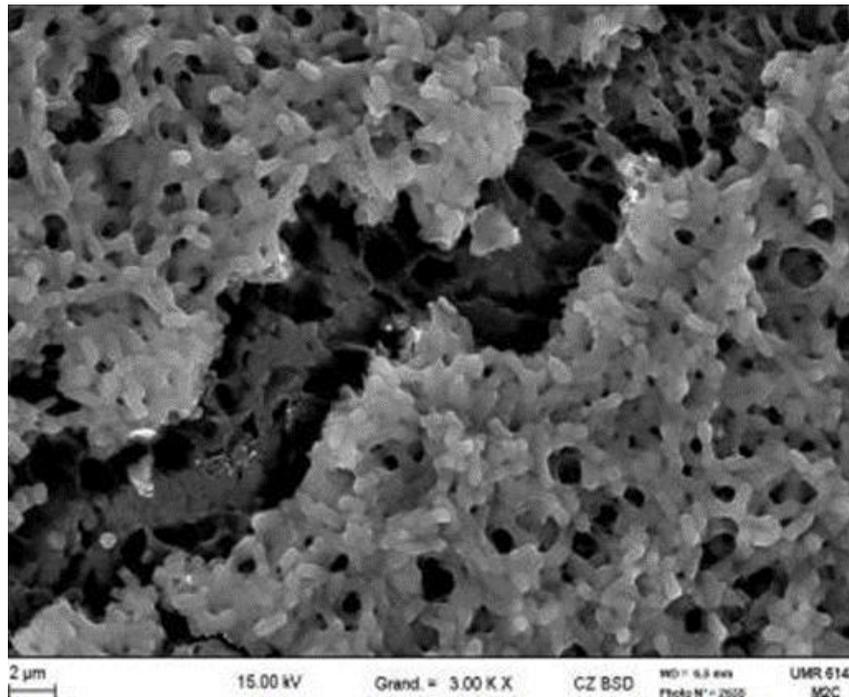


Figure 04 : L'image en microscopie électronique à balayage d'un biofilm d'*Acinetobacter baumannii* sur une sonde urinaire (x3000) (Djeribi *et al.*, 2013).

- Septicémies nosocomiales

Il a de multiples causes, principalement des lésions pulmonaires, mais peut également être traumatique, chirurgical ou lié à des cathéters, à une dialyse péritonéale ou à des brûlures graves. La septicémie nosocomiale est l'infection la plus grave causée par *Acinetobacter* (Joly-Guillou, 2006).

- Les méningites

L'*A. baumannii* est l'un des pathogènes impliqués dans l'épidémiologie microbienne des méningites nosocomiales (Chahmout, 2011).

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

- Autres infections sévères

Surtout, les infections graves sont causées par *Acinetobacter spp.* Ceux-ci incluent la méningite secondaire après une chirurgie crânienne, un traumatisme crânien, une ventriculographie et une aspiration nasale de craniopharyngiome. Un cas de méningite pédiatrique avec leucémie, endocardite prothétique et infections cutanéomuqueuses étendues dues à des brûlures graves (Joly-Guillou, 2006).

1.6. Résistance Aux Antibiotiques

L'*A. baumannii* possède un mécanisme de résistance naturelle aux β -lactamines, correspondant principalement à la production de céphalosporinase chromosomique (β -lactamase de type AmpC). *A. baumannii* possède également une oxacillinase unique à faible activité carbapénémase, à savoir OXA-69. Génération d'une membrane externe hypoperméable et d'un système d'efflux AdeIJK actif chez *A. baumannii* (Kyriakidis *et al.*, 2021).

L'*A. baumannii* a pu s'adapter et devenir multirésistant au fil du temps en raison de sa capacité supérieure à développer des mécanismes de résistance. En résistance, elle décrit divers mécanismes qui combinent mutation, acquisition de séquences insérées jouant le rôle de promoteurs de gènes silencieux, ou acquisition de gènes de résistance sous forme de plasmides, de transposons ou de cassettes d'intégrines d'espèces plus ou moins proches (Coyne *et al.*, 2011).

A/ Résistance aux bêta-lactamines

Le mécanisme enzymatique de la résistance aux β -lactamines implique la génération de β -lactamase à spectre étendu (BLSE). Les BLSE identifiées chez *Acinetobacter baumannii* sont SHV, TEM, PER, VEB et CTX-M (Rice, 2006). Ainsi, la formation de carbapénémases responsables de l'hydrolyse des carbapénèmes de type métallo-bêta-lactamase (IMP, VIM, SIM-1) se produit (Doi *et al.*, 2015). Nous identifions également la production d'oxacillinases (OXA-23, OXA-24, OXA-58, OXA-143) responsables de la plupart des résistances aux carbapénèmes observées dans le monde (Viana *et al.*, 2016).

Chapitre II : Les *A. baumannii* résistants aux antibiotiques

La métallo- β -lactamase, NDM-1, qui a émergé chez *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*, représente un trait de résistance significatif. Plusieurs isolats d'*A. baumannii* exprimant des variants de NDM ont été détectés en Inde, et des études récentes ont rapporté des *A. baumannii* producteurs de NDM en Allemagne, en Israël, à Oman, en Chine et en Égypte. Nous rapportons ici le premier isolat d'*A. baumannii* producteur de NDM-1 en provenance d'Algérie (Boulanger *et al.*, 2012).

On pense que la résistance aux β -lactames résulte de modifications de la structure ou du nombre de protéines de la membrane externe, de modifications de la présence ou de l'affinité des pompes à efflux ou de l'expression de protéines de liaison à la pénicilline (PBP) (Fernández-Cuenca *et al.*, 2003). Les mécanismes de résistance aux carbapénèmes les plus importants codent différents systèmes d'efflux. La pompe à efflux AdeABC est le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes. Cette pompe est constituée de plusieurs substrats tels que les aminoglycosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones (Livemore, 1995).

B/ Résistance aux Aminoglycosides

La résistance aux aminoglycosides a également été attribuée à des enzymes appelées « enzymes modifiant les aminoglycosides » (AME). L'acétyltransférase confère une résistance à la kanamycine, à la tobramycine, à la dibékacine, ainsi qu'à la streptomycine et à la gentamicine. La phosphotransférase inactive l'amikacine (Gribun *et al.*, 2003).

Chapitre III :

Matériels et Méthodes

Chapitre III : Matériels et Méthodes

Notre projet s'est porté pour l'étude de l'activité antibactérienne et la synergie des quatre (4) échantillons de miel, 3 échantillons des différentes régions de Bouira et un échantillon de hors Bouira (Djelfa), avec une espèce bactérienne *Acinetobacter baumannii* multi-résistante NDM-1 en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI).

I. Matériels

1. La souche bactérienne "*A. baumannii*"

Pour notre travail expérimental sur le criblage de l'effet antibactérien de quelques miels de l'Algérie sur un germe multi résistant, nous avons sélectionnée du laboratoire de l'université de Béjaia une souche pathogène à Gram négatif et multirésistante considérée un danger potentiel pour la santé humaine à cause de son profil de multirésistance : *A. baumannii*. Notre étude expérimentale a été effectuée au sein du laboratoire de la microbiologie, la faculté de science de la nature et de la vie et la science de la terre à l'université d'Akli Mohand Oulhadj Bouira.

2. Les miels utilisés

Dans notre étude nous avons utilisés quatre (4) échantillons de miel (Figure 05) collectés de chez les apicultures de différentes régions en Algérie à savoir : wilaya de Bouira et wilaya de Djelfa. Notre choix s'est orienté vers ces régions connus pour leurs activités apicoles et aussi pour leurs diversités florales et localisation géographique et climatique (Tableau III).



Figure 05 : Les quatre (4) échantillons de miel

II. Méthodes

1. Le criblage de l'activité antibactérienne

1.1 Préparation des solutions de miels à tester

Pour notre partie expérimental, un gramme de chaque échantillon de miel est mis dans un tube à Eppendorf. Par la suite, nous avons remis en suspension le miel dans des tubes, un contient 1ml d'eau distillée et l'autre 1ml d'éthanol. Après avoir bien homogénéiser la solution mère (1g/ml) nous avons procédé à une centrifugation à 15000 tr/min pendant 15 minutes, puis le surnageant est récupéré et filtré (0.20 μm). A partir de la solution mère (1g/ml) nous avons préparé des dilutions à raison de 0.5g/ml et 0.25g/ml.

Les solutions mère ainsi que les dilutions sont conservées à 4°C jusqu'à utilisation ultérieure (Tsavae *et al.*, 2022 (avec quelques modifications)).

1.2. Les informations en relation avec les miels étudiés

Tableau III : Les caractéristiques géographiques et climatiques des miels étudiés

Code du miel testés	Origine du miel	Période de récolte	Région de récolte	Localisation GPS	Conditions climatiques
E	Euphorbe	Mai-22	Benhar (Djelfa)	DD : 34.67279 3.263	Subtropical humide à 18.4°C (été)
F	Toute fleurs	Fin juin 2022	Semmache (Bouira)	DD: 36.34992 4.15605	Chaud et sec à 24.8°C (été)
L	Lebina (Miellée)	Janv-22	Ain bessam (Bouira)	DD: 36.29333 3.67319	Méditerranéen à 10.6 °C (Hiver)
M	Montagne	Juil-22	Ait laaziz (Bouira)	DD: 36.44089 3.86985	Chaud et sec à 27.7°C (été)

1.3. Détermination de l'activité antibactérienne des différents miels sur la souche *A. baumannii*

1.3.1. Préparation de l'inoculum

Avec une anse de platine et dans la zone stérile, nous avons prélevé quelques colonies bactériennes à partir d'une culture jeune ensemencée sur la gélose LB (Luria Bertani). Une suspension bactérienne (10^8 cellules/ml) est préparée dans le tube qui contient 5ml de l'eau physiologique stérile (NaCl 0.9%).

1.3.2. La méthode de diffusion sur la gélose

A l'aide de l'écouvillon, on a procédé à l'ensemencement de cette suspension bactérienne sur la boîte de Luria Bertani. Par la suite, des puits de 6mm de diamètre sont tracés sur la gélose (4 puits). Puis ces dernières sont remplies d'un volume de 50 μ l de la solution mère de chaque échantillon de miel (dans de l'eau et de l'éthanol). Ensuite la boîte a été placée au réfrigérateur pour diffusion à une température de 4 °C pendant quelques heures. Les zones d'inhibitions ont été mesurées en millimètre après une incubation de 24 heures à 37°C.

2. Détermination de la concentration minimale d'inhibition (CMI)

L'activité antibactérienne des substances actives est évaluée par la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui est définie comme la plus faible concentration de médicament pouvant inhiber la croissance bactérienne en 24 heures (Mounyr, Moulay et Saad Koraichi, 2016).

2.1. La méthode des puits

Après d'ensemencement de la suspension bactérienne précédente dans les trois (3) boîtes, des puits de 6mm de diamètre sont tracés sur la gélose (4 puits pour chaque boîte). Puis ces dernières sont remplies d'un volume de 50 μ l des différentes concentrations des échantillons de miel (1g/ml, 0.5g/ml et 0.25g/ml). Ensuite, toutes les boîtes sont refroidies à 4°C pendant quelques heures, puis sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

Chapitre III : Matériels et Méthodes

2.2. La méthode des spots

Dans cette méthode, la substance à tester à différentes concentrations (0.125g/ml, 0.0625g/ml et 0.03125g/ml) est incorporée dans la gélose en surfusion (entre 50 et 60°C), puis la gélose est coulée dans les boîtes de Pétri. Lorsque cette gélose est solidifiée la souche d'*A. baumannii* est ensemencée en spots (2µl), puis incubée à 37°C pendant 24 heures. La CMI ainsi obtenue s'observe à l'œil nu par l'absence ou présence de croissance bactérienne à la surface de la boîte de Pétri contenant différentes concentrations de miels (Mounyr, Moulay et Saad Koraichi, 2016).

3. L'étude de l'effet synergique des différents miels

A partir des solutions mères de chaque miel nous avons procédé à la préparation du mélange réactionnel à raison (50/50) (v/v) une combinaison de deux miels suivant ce schéma : EF (miel d'Euphorbe et de toutes fleurs), EL (miel d'Euphorbe et de Lebina), EM (miel d'Euphorbe et de montagne), FL (miel de toutes fleurs et de Lebina), FM (miel de toutes fleurs et de montagne), LM (miel de Lebina et de montagne).

Après avoir ensemencé les boîtes de pétrie contenant de la gélose Luria Bertani avec la souche d'*A. baumannii*, comme précédemment cité, des puits de 6mm de diamètre sont tracés sur la gélose. Par la suite ces derniers sont remplis d'un volume de 50µl de chaque mélange réactionnel. Les boîtes ont été placées au réfrigérateur pour diffusion à une température de 4°C pendant quelques heures. Les zones d'inhibitions ont été mesurées en millimètre après une incubation de 24h à 37°C.

Chapitre IV :

Résultats

Chapitre IV : Résultats

La résistance aux antibiotiques chez les germes pathogènes tels que *A. baumannii* est l'un des grands problèmes qui menace la santé publique de l'humain. De ce fait, la recherche de nouvelles molécules à effet thérapeutique a attiré l'attention de nombreux chercheurs. Leurs travaux ont révélé que ce soit les molécules d'origine végétale ou obtenus d'un produit apicole peuvent exprimer une activité antibactérienne et peuvent être utilisés comme une alternative de l'antibiothérapie qui actuellement est vouée à l'échec. Nos expérimentations sur l'activité antibactérienne effectuée dans le cadre de la préparation de notre PFE, nous a permis de révéler que des miels issues différentes régions de l'Algérie ont exprimé une activité antibactérienne sur une souche cible multirésistante *A. baumannii*.

1. La diffusion sur la gélose

L'activité antimicrobienne de nos miels recueillis de la région de Bouira et Djelfa est évaluée par la technique de diffusion sur gélose, des essais qui consistent à appliquer une concentration connue du miel sur la surface d'une gélose inoculée précédemment avec des cellules bactériennes d'*A. baumannii*. La méthode des puits a été réalisée, où 1g du miel est remis en suspension dans de l'eau et différentes concentrations de la solution mère diffusent dans le milieu gélosé, créant ainsi une zone d'inhibition circulaire après incubation à 37°C pendant 24 heures. Les résultats obtenus montrent des effets antibactériens importants des deux échantillons de miel Euphorbe (E) (12 mm) et de miel de toutes fleurs (F) (10 mm) sur la bactérie *Acinetobacter baumannii* par rapport aux autres échantillons tels que miel de Montagne (M) et Lebina (L) (Tableau IV).

Les essais élaborés en utilisant l'éthanol comme solvant ont révélé une activité très faible avec le miel de toutes fleurs (F) à 1g/ml avec une zone d'inhibition de 8mm de diamètre. Cependant la souche d'*A. baumannii* a exprimé une résistance avec les autres miels (Tableau IV)

Tableau IV : Les résultats de l'activité antibactérienne du miel dissous dans l'eau et l'éthanol

<i>Les miels</i> <i>Type de solution</i>	<i>E</i>	<i>F</i>	<i>L</i>	<i>M</i>
<i>L'eau</i> <i>1g/ml</i>	12 mm	10 mm	6 mm	6 mm
<i>L'éthanol</i> <i>1g/ml</i>	6 mm	8 mm	6 mm	6 mm

Chapitre IV : Résultats

2. La concentration minimale d'inhibition

La diffusion de 50µl de la solution de miel à différente concentration : 1g/ml, 0.5g/ml et 0.25g/ml dans des puits sur gélose de Luria Bertani, suivant la méthode des puits, nous a permet de visualiser des zones d'inhibitions d'un diamètre qui varie de 12 à 10 mm à l'action de miel de l'euphorbe (E) et le miel de toutes fleurs (F) à une concentration de 1g/ml. D'autre part, le miel de Lebina (miellée) à une concentration de 0.25g/ml a exprimé une activité antibactérienne sur la souche d'*A. baumannii* est une zone d'inhibition de 15mm est mesurée. Cependant la souche d'*Acinetobacter baumannii* exprime une résistance à l'action du miel de montagne à différente concentrations testés à savoir : 1g/ml, 0.5g/ml et 0.25g/ml (Tableau V, Figure 06 et 07).

Tableau V : Les résultats de la CMI avec la méthode des puits des miels.

<i>Les miels</i> <i>Dilutions</i>	<i>E</i>	<i>F</i>	<i>L</i>	<i>M</i>
<i>Solution mère</i> <i>(1g/ml)</i>	12 mm	10 mm	6 mm	6 mm
<i>Dilution de</i> <i>0.5g/ml</i>	6 mm	6 mm	6 mm	6 mm
<i>Dilution de</i> <i>0.25g/ml</i>	6 mm	6 mm	15 mm	6 mm



Figure 06 : Le résultat de l'activité antibactérienne des miels (1 g/ml) sur *A. baumannii*

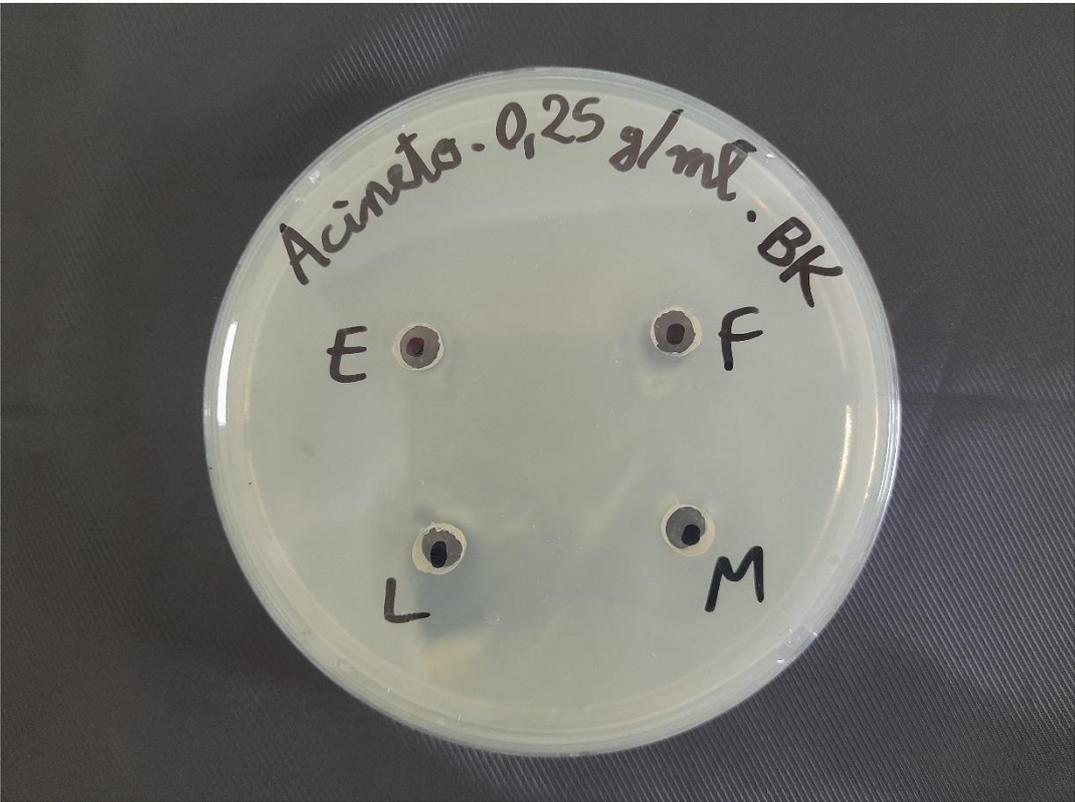


Figure 07 : Le résultat de l'activité antibactérienne des miels (0.25 g/ml) sur *A. baumannii*

Chapitre IV : Résultats

D'autre part, nous avons également évalué l'activité antibactérienne des quatre miels à différentes concentrations sur milieu solide (CMI) suivant la méthode des spots. Les résultats obtenus ont révélé une croissance d'*A. baumannii* à des concentrations allant de 0.125 à 0.03125g/ml avec le miel de l'Euphorbe, de toutes fleur et de montagne excepte pour le miel de Lebina (L) (Tableau VI, figure 08 et 09).

Tableau VI : Les résultats de la CMI sur milieu solide (méthode des spots)

<i>Les miels</i> <i>Dilutions</i> <i>(g/ml)</i>	<i>Miel de</i> <i>l'Euphorbe</i> <i>(E)</i>	<i>Miel de</i> <i>toutes fleur</i> <i>(F)</i>	<i>Miel de</i> <i>Lebina</i> <i>(L)</i>	<i>Miel de</i> <i>montagne</i> <i>(M)</i>
<i>0.125</i>	+++	+++	---	+++
<i>0.0625</i>	++	++	---	++
<i>0.03125</i>	++	++	---	++

(+) : Croissance

(-) : Absence de croissance

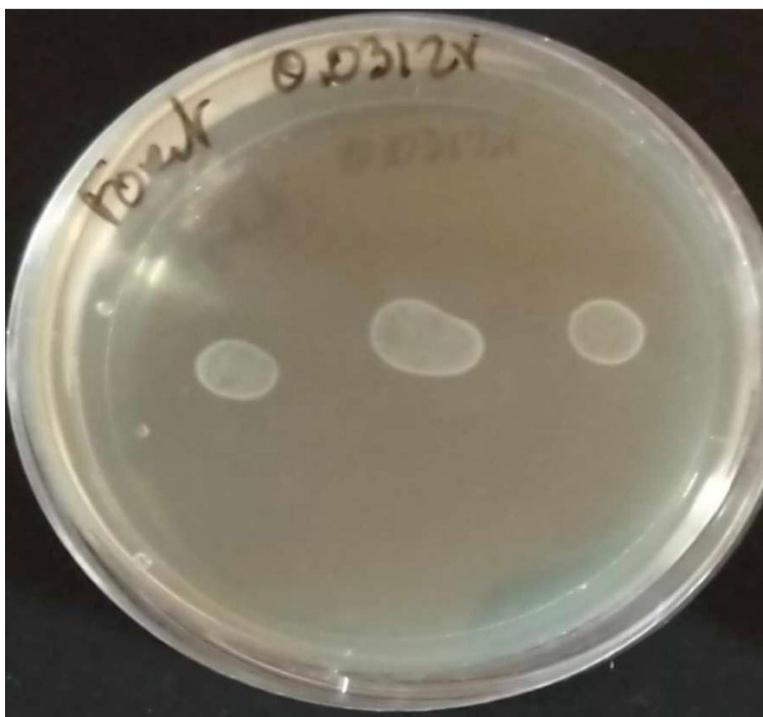


Figure 08 : Le résultat de méthode de spots de la concentration de 0.03125g/ml



Figure 09 : Le résultat de méthode de spots de la concentration de 0.0625g/ml

3. L'effet synergique des différents miels :

Les résultats de la synergie des mélanges des miels à 1g/ml ont été représentés dans les figures 10 et 11 et ont été exprimés en mm dans le tableau VII.

La diffusion de 50µl des mélanges de miel à une concentration de 1g/ml dans des puits sur gélose de Luria Bertani nous a permis de visualiser des zones d'inhibitions d'un diamètre de 25 mm à l'action de la synergie entre le miel de l'euphorbe (E) avec les autres miels. Cependant la souche d'*Acinetobacter baumannii* exprime une résistance à l'action de la synergie des autres miels (Tableau VII, Figure 10 et 11).

Tableau VII : Les résultats de la synergie des quatre (4) échantillons de miel avec la souche *A. baumannii*

Les mélanges	<i>EF</i>	<i>EL</i>	<i>EM</i>	<i>FL</i>	<i>FM</i>	<i>LM</i>
Dilution						
Solution mère (1g/ml)	25 mm	25 mm	25 mm	6mm	6mm	6mm



Figure 10 : Le résultat de la synergie des miels (EF, EL et EM) sur *A. baumannii*

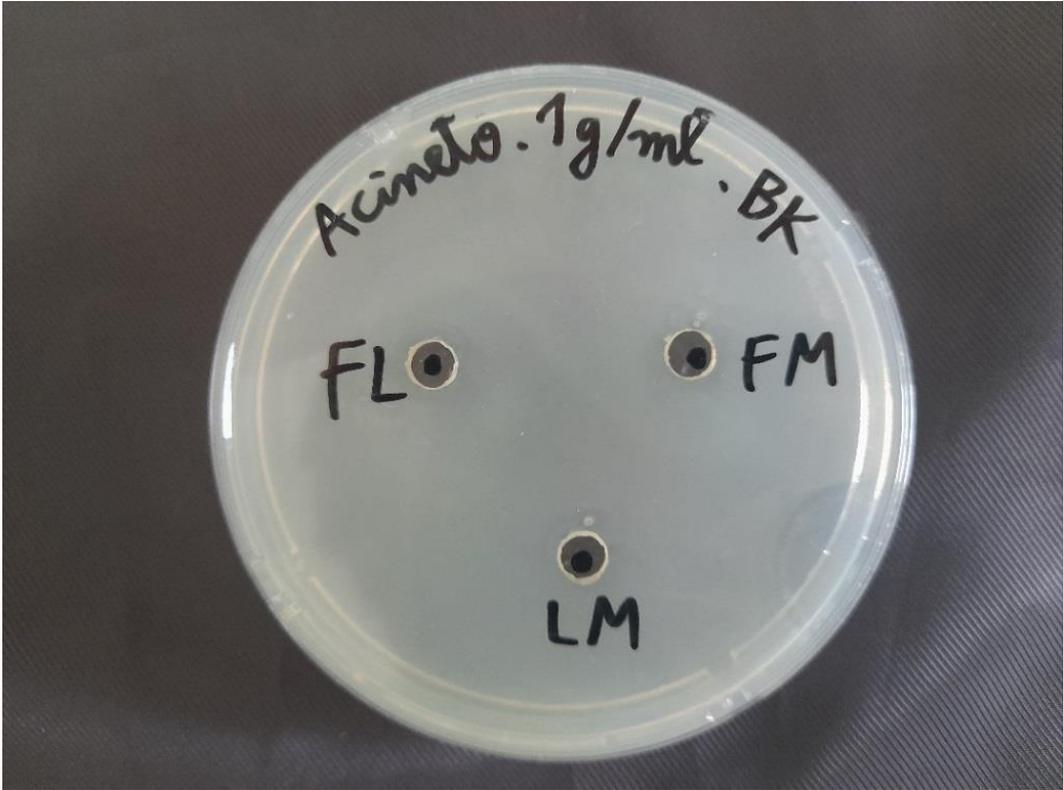


Figure 11 : Le résultat de la synergie des miels (FL, FM et LM) sur *A. baumannii*

Chapitre V :

Discussion

Chapitre V : Discussion

Dans nos investigations sur le criblage de l'activité antibactérienne de quatre miels recueillis dans les deux régions Bouira et Djelfa (E. F. L. M) et dissous dans de l'eau distillée nous a permis de voir résistance de la souche *A. baumannii* productrice de méthalo-betalactame (NDM-1) à l'action du miel de Lebina (L) et le miel de montagne (M) à une concentration de 1g/ml. Cependant, le miel de l'Euphorbe (E) et le miel de multi fleurs (F) ont exprimé une activité sur la souche testée.

Par ailleurs à de faible concentration (0.25g/ml) nous avons visualisé que le miel de Lebina a un effet inhibiteur sur la souche d'*A. baumannii*.

D'autre part, la souche d'*A. baumannii* a exprimé une résistance à l'action des miels testés dissous dans de l'éthanol. Excepte pour le miel de toutes fleur (F) qui a exprimé une faible activité sur la souche testée.

Selon Merah *et al*, plusieurs études ont montré que les bactéries Gram-positives, qui sont à parois épaisses et denses, sont capables de mieux résister à la haute pression des fortes concentrations de sucres absorbés que les bactéries Gram-négatives à parois minces et à parois lâches. Les propriétés inhibitrices du miel contre les souches bactériennes sont liées à ses propriétés physico-chimiques et à la présence de plusieurs autres composants antibactériens dans le miel. Une osmolarité élevée est associée à une concentration élevée en sucre, car le miel a une activité de l'eau de 0,56 à 0,62. Par conséquent, les molécules de sucre et d'eau laissent peu d'eau libre pour la croissance microbienne. Cela provoque une déshydratation sévère des bactéries.

Le chercheur algérien a également mené une étude évaluant l'activité antibactérienne de trois échantillons de miel naturel prélevés sur trois localités du territoire algérien : Tizi Ouzou, Jijel et Sidi Bel Abbes, et un échantillon de miel d'Arabie saoudite a été réalisé. Quatre échantillons sont testés pour cinq souches microbiennes pathogènes (4 souches bactériennes et 1 champignon) sélectionnées en fonction de leur sensibilité aux antibiotiques. Au final, les résultats ont montré deux types d'effets antibactériens : bactéricides et bactériostatiques (Merah *et al.*, 2010).

Chapitre V : Discussion

Actuellement, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) constitue inhibine majeure dans la plupart des miels. Cette enzyme est inactive dans le miel pur, par contre elle devient active dans le miel dilué, produisant ainsi plus de H₂O₂. De plus, la formation d'acide gluconique augmente l'acidité du miel limitant ainsi la croissance microbienne. Autres soi-disant inhibines non-peroxydes tels que le lysozyme, les flavonoïdes, les acides aromatiques et autres substances inconnues possèdent cette propriété antibactérienne (Brudzynski, 2006). Cependant, les composés volatils et aromatiques du miel contribuent à son effet inhibiteur (Manyl-Loh *et al.*, 2011).

En effet, Ouchemoukh *et al.*, (2012) ont rapporté que le miel a souvent des propriétés très communes, mais chacun a ses propres propriétés curatives. Ces dernières dépendent de plusieurs facteurs, à savoir ; la composition du miel, sa nature, âge des abeilles, nature et origine des fleurs, climat, saison de reproduction et méthode d'extraction du miel. Aljadi et Kamaruddin, (2004) ont démontré que les composés et les substances phénoliques sont faiblement impliquées dans le processus antibactérien du miel.

D'après les résultats obtenus qui sont rapportés sur le tableau VII et illustrés par les figures 10 et 11, les tests de synergie réalisées entre l'échantillon de miel Euphorbe (E) et les autres échantillons à une concentration de 1g/ml, ont révélé une amélioration importante de l'activité antibactérienne vis -à- vis de la souche testée. Par contre les mélanges des autres échantillons de miel n'ont révélé aucune activité antibactérienne et aucune zone d'inhibition.

Il semble que l'action de miel naturel sur les bactéries dépend de la structure de la paroi bactérienne, parce que certains miels ont un effet inhibiteur significatif contre les bactéries Gram-négatives et un autre effet faible à nul sur les bactéries Gram-positives. Cela peut aussi dépendre du type de composition du miel et de plusieurs facteurs surtout la nature du sol, la race et le pays des abeilles, physiologie coloniale (Merah *et al.*, 2010). Par conséquent, le miel peut inhiber la lignée de bactéries, champignons, protozoaires et virus. Ce dernier ne peut pas développer de résistance. Surtout les plaies infectées par des bactéries Gram positif et Gram négatif, comme *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* ou *Escherichia coli* que les autres germes (Irlande, 2010).

Chapitre V : Discussion

Les synergies peuvent souvent résulter de la formation d'un ensemble plus complexe et inhiber efficacement des espèces spécifiques de micro-organismes, soit en inhibant la structure cellulaire ou provoquer la lyse ou la mort de ces micro-organismes (Cherbuliez et Domerego, 2003). Le portefeuille de synergies représente une part importante une source inexploitée de nouveaux médicaments avec un mécanisme d'action nouveaux et multiples qui peuvent vaincre la résistance microbienne (Ncube *et al.*, 2008).

Conclusion

Conclusion

Le travail réalisé sur les quatre échantillons de miel (Euphorbe, Toutes fleur, Lebina et Montagne) des régions : Benhar de Djelfa, Semmache, Ain Bessam et Ait Laaziz de Bouira a permis la mise en évidence de l'effet antibactérien des miels sur la souche bactérienne *Acinetobacter baumannii* NDM-1. Ce travail a permis de conclure les informations suivantes :

- L'évaluation de l'activité antibactérienne, par la méthode de diffusion sur gélose en puits (méthode liquide) sont réalisées pour les quatre échantillons de miel (avec l'eau et avec l'éthanol), testés sur la souche bactérienne pathogène et multirésistante. Cette méthode montre que les miels d'Euphorbe (avec l'eau) et de Toutes fleur (avec l'eau et l'éthanol) ont un effet antibactérien plus efficace sur la bactérie par rapport aux celle de miel de Lebina et de Montagne.
- La concentration minimale inhibitrice des miels montre un effet antibactérien très importante pour l'échantillon de miel de Lebina à toutes les concentrations.
- La synergie de miel d'Euphorbe avec tous les autres échantillons montre un effet antibactérien plus efficace sur la bactérie testée par rapport au synergie des autres miels entre eux qui ne présentent aucun effet.

Donc, on conclure que le miel est une substance naturelle qui peut montrer une activité thérapeutique et antibactérienne remarquable pour les êtres humains. La valeur médicinale du miel en tant qu'antibiotique naturel est constamment développée de plus en plus scientifiquement pour assurer son application en médecine humaine, en particulier dans l'industrie pharmaceutique. Cependant, ce produit naturel risque d'être contaminé ou altéré, il est préférable d'utiliser des méthodes pour le conserver. Cependant, même si le miel a fait l'objet de diverses études mettant en avant ses propriétés, de nombreuses interrogations subsistent quant à sa composition et au rôle de certains ingrédients. Ce précieux produit ne peut pas être synthétisé par l'homme. Seules les abeilles, véritables alchimistes de la nature, peuvent le produire. C'est pourquoi la survie de cet insecte doit être protégée face aux menaces des pesticides, des parasites, des virus et prédateurs ou du changement climatique.

Enfin, nous espérons que nos découvertes trouveront des applications possibles dans le traitement de diverses maladies causées par des bactéries pathogènes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

Références Bibliographiques :

Al-Farsi, M., Al-Amri, A., Al-Hadhrami, A., Al-Belushi, S. (2018). Color, flavonoids, phenolics and antioxidants of Omani honey. *Heliyon*, 4(10), p. e00874.

Al-Hatamleh, M. A., Hatmal, M. M. M., Sattar, K., Ahmad, S. et al. (2020). Antiviral and immunomodulatory effects of phytochemicals from honey against COVID-19: Potential mechanisms of action and future directions. *Molecules*, 25(21), p. 5017.

Aljadi, A.M., and Kamaruddin, M.Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. *Food Chemistry* 85, 513–518.

Al-Kafaween, M.A.; Alwahsh, M.; Mohd Hilmi, A.B.; Abulebdah, D.H. Physicochemical Characteristics and Bioactive Compounds of Different Types of Honey and Their Biological and Therapeutic Properties: A Comprehensive Review. *Antibiotics* 2023, 12, 337. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020337>

Al-Mamary M., Al-Meeri A., Al-Habori M., 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutr Research* 22, 1041-1047.

Amirat A., 2014. Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de *Thymus algeriensis* de la région de Tlemcen. Université Abou-Bekr Belkaid –Tlemcen .Thèse de master.pp45.

Anchling F., 2005. juin, sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. *Revue j'abeille de France N° 915*. Pp.07.

ASSIE B ., DESCOTTES B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse III. 115p

Avisse I., 2014. Grand traité des miels, Editions Le Sureau, 293-80-111-113.

AVRIL JL., DABERNAT H., DENIS F. et MONTEIL H. (2000). Bactériologie clinique. Paris : Ellipses, 602p.

Références bibliographiques

AZZAM A. (2018). Evolution phylogénique de l'espèce *Acinetobacter baumannii* au CHU de Tizi-Ouzou et étude de sa résistance aux β -lactamines, aminosides et quinolones. Thèse de Doctorat en Sciences Médicales. Université Mouloud MAMMERRI, faculté de Médecine. TiziOuzou. 27, 29, 30p.

Badawy O., Shasii S., Tharwat E., Kamal M. (2004). Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 23: 1011-1022.

BALAS Fanny. Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en Médecine générale [Thèse]. Nice :faculté de médecine de Nice, le jeudi 19 mars 2015.

Baltrusaityte V., Venskutonis P., Ceksteryte V. (2007). Antibacterial Activity of honey and beebread of different origin against *S. aureus* and *D. epidermidis*. Food technology, Lithuania. 45: 201-208.

Bendahou H., Hasnat N. (2002). Contribution à l'étude de l'influence de durée de conservation sur la qualité du miel dans la wilaya de Mascara; Mémoire d'ingénieur en sciences alimentaires, centre universitaire de Mascara. Algérie.

Beneddouch Badis, Dahmani Kheira. Physical properties of honey products in Algeria. Journal of Stored Products and Postharvest Research Vol. 2(12), pp. 237 – 244, 16 October, 2011.

Benson, S.A., (1997). Principles of Medical Biology, JAI Press Inc, 9, 1-16

Bessas A., Benmoussa L., Kerarma M. (2008). Dosage biochimique des polyphénols dans les dattes et le miel récoltés dans le sud algérien. Mémoire d'ingénieur en Biologie. Université Djillali Liabes -Sidi Bel Abbas, p.45.

Blanc M., 2010. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.

Bogdanov S., Imdrof A., Charrière J-D., Fluri P. et Kilchenmann V., 2003. Qualité des produits apicoles et sources de contamination. Centre Suisse de recherché apicoles. Station fédérale de recherché laitières, liebefeld, CH-3003 Berne. PP.1-2-3. traduction Evelyne Fasnacht (Partie 1) et Michel dubois (Partie 2).

Références bibliographiques

Bonté F, Desmoulière A. Le miel : origine et composition. Actualités pharmaceutiques • n° 531 • décembre 2013 •

Bonté F, Rossant A, Archambault JC, Desmoulière A. Miels et plantes : de la thérapeutique à la cosmétique. La Phytothérapie Européenne. 2011;63:22-8.

Boulangier Anne, Thierry Naas, Nicolas Fortineau, Samy Figueiredo, Patrice Nordmann (2012). NDM-1 Producing *Acinetobacter baumannii* from Algeria. Antimicrobial Agents and Chemotherapy p. 2214-2215.

Bradbear N., 2005. Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.

Brudzynski K. Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. Can J Microbiol. 2006;52:1228-1237.

Brudzynski K, Lannigan R. Mechanism of honey bacteriostatic action against MRSA and VRE involves hydroxyl radicals generated from honey's hydrogen peroxide. Front Microbiol. 2012;3:36.

CABROLIER N. et BERTRAND X. (2005). Epidémiologie et facteurs de risques des infections liées à *Pseudomonas aeruginosa* et des entérobactéries. International journal des sciences; 16 : 9p. Collège national des enseignants de réanimation médicale. Réanimation et urgences. Paris : Masson.

Cattoen.C. 13 février(2015).Persistance du portage de bactéries multirésistantes après la réanimation.2 p.Disponible sur : link.springer.com/content/pdf/10.1007/s13546-015-1048-4.pdf

Cavelier E. Le miel : Composition et techniques de production [Mémoire]. Paris : Université de Sorbonne Nouvelle-Paris 3; 2013.

CHAHMOUT S. (2011). Pneumopathie nosocomiale à *Acinetobacter baumannii* En réanimation à propos de 155 prélèvements distaux protégés à l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V de Rabat, Thèse du Doctorat en Pharmacie. Université Mohammed V. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat. 19p.

Chefrour A., Battesti M.-J., Ait K., Tahar A. (2007) Melissopalynologic and physicochemical analysis of some north-east Algerian honeys, Eur. J. Sci. Res. 18, 389–401 (<http://www.eurojournals.com/ejsr%2018%203.pdf>) (accessed on 25 June 2009).

Références bibliographiques

Cherbuliez, T., and Domerego, R. (2003). L'apithérapie: médecine des abeilles (Ed. Amyris).

COOK JA., VANDERJAGT DJ., PASTUSZYN A., MOUNKAILA G., GLEW RS. et GLEW RH. (1998). Influence de la gestion des voies respiratoires sur la pneumonie à ventilation assistée : données probantes provenant d'essais randomisés. 279 : 781-7p.

Couquet Y., Desmoulière A., Rigal M L. Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. Actualités pharmaceutiques • n° 531 • décembre 2013 •

Courvalin, P., et Leclerck, R. (2012) AntibioGramme. Paris ESKA 3ème édition

Coyne SP Courvalin and Périchon B. Efflux-mediated antibiotic resistance in *Acinetobacter* spp. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2011. 55(3): 947-953.

Crosa JH and Walsh CT. Genetics and assembly line enzymology of siderophore biosynthesis in bacteria. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 2002. 66(2): 223-249.

Cucu, A. A., Baci, G. M., Moise, A. R. et al. (2021). Towards a Better Understanding of Nutritional and Therapeutic Effects of Honey and Their Applications in Apitherapy. *Applied Sciences*, 11(9), p. 4190.

De Jonge BLM and Tomasz A (1993). Abnormal peptidoglycan produced in a methicillin-resistant strain of *Staphylococcus aureus* grown in the presence of methicillin : functional role for penicillin binding protein 2a in a cell wall synthesis. *Antimicrob Agents Chemother* . 37 : 342-346.

Denis F, et al. Bactériologie médicale: techniques usuelles. 2016: Elsevier Masson.

Desmoulière A., 2013. Le miel, de remarquables propriétés cicatrisantes. Actualités pharmaceutiques 531, 17.

Dijkshoorn L, Nemeč A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*. déc 2007;5(12):939-51.

Djeribi R, Boucherit Z, Bouchloukh W, Zouaoui W, Latrache H, Hamadi F, et al. A study of pH effects on the bacterial surface physicochemical properties of *Acinetobacter baumannii*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 1 févr 2013;102:540-5.

Références bibliographiques

Doi Y, Murray GL and Peleg AY. Acinetobacter baumannii: evolution of antimicrobial resistance—treatment options. in *Seminars in Respiratory and Critical Care Medicine*, 2015. 36(1): 85-98 .

Dortet L, et al. Bacterial identification, clinical significance, and antimicrobial susceptibilities of Acinetobacter ursingii and Acinetobacter schindleri, two frequently misidentified opportunistic pathogens. *Journal of Clinical Microbiology*, 2006. 44(12): 4471-4478.

El-Seedi HR, Eid N, Abd El-Wahed AA, Rateb ME, Afifi HS, Algethami AF, Zhao C, Al Naggari Y, Alsharif SM, Tahir HE, Xu B, Wang K and Khalifa SAM (2022) Honey Bee Products: Preclinical and Clinical Studies of Their Anti-inflammatory and Immunomodulatory Properties. *Front. Nutr.* 8:761267. doi: 10.3389/fnut.2021.761267

Eteraf-Oskouei T, Najafi M. Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases: A Review. *Iran J Basic Med Sci*; 2013; 16: 731-742.

Fauchere JL and Avril JL (2002). Bactériologie générale et médicale. ellipses, Paris. 213-217.

Fauchère J. L et Avril J. L., 2002. Bactériologie générale et médicale. Ed Ellipses. Paris. 368p.

Fernandes, L., Ribeiro, H., Oliveira, A., Silva, A. S. et al. (2021). Portuguese honeys as antimicrobial agents against Candida species. *Journal of traditional and complementary medicine*, 11(2), p.130-136.

Fernández-Cuenca F, et al. Relationship between β -lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of Acinetobacter baumannii. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 2003. 51(3): 565-574.

FLANDROIS JP. (1997). Bactériologie Médicale. Presses Universitaires de Lyon. 309p.

FOMBA M. (2006). Rôle pathogène et sensibilité aux antibiotiques des Acinetobacter et des Staphylococcus à coagulase négative à l'hôpital du point g. Thèse du Doctorat en Pharmacie, Université De Bamako. Mali. 21p.

Références bibliographiques

French VM, Cooper RA, Molan PC. The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. *J Antimicrob Chemother.* 2005;56:228-31.

Genot C, Eymard S, Viau M. Comment protéger les acides gras polyinsaturés à longues chaînes oméga 3 vis-à-vis de l'oxydation ? *Oléagineux, corps gras, lipides*, 2004, vol.11 (2) : 133-141.

Gomez-Caravaca AM, Gomez-Romero M, Arraez- Roman D et al. Advances in the analysis of phenolic compound in product derived from bees. *J Pharm Biomed Analysis.* 2006;41:1220-34.

Gribun A, et al. Molecular and structural characterization of the HMP-AB gene encoding a pore-forming protein from a clinical isolate of *Acinetobacter baumannii*. *Current Microbiology*, 2003. 47(5): 434-443.

Guide du miel. Composition du miel [En ligne].2019[consulté le 13 décembre 2019]. Disponible sur <http://www.guide-du-miel.com/Lemiel/Composition-du-miel.html>

Hart, T., Shears, P. (1997). Atlas de poche de microbiologie. Médecine-Sciences Flammarion.

Héritier C, et al. Characterization of the naturally occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2005. 49(10): 4174-4179.

HIDRI N. (2012). Identification d'*Acinetobacter* spp. au laboratoire. *Revue Francophone Des Laboratoires.* 441 : 38, 40p.

Homrani, M. (2020). Caractéristiques physico-chimiques, spectre pollinique et propriétés biologiques de miel algériens crus de différentes origines florales. Thèse de doctorat : production et biotechnologie animales. Mostaganem: université de Abd-Elhamid Ibn Nadia, 232 p.

Hoyet C. Le miel : De la source à la thérapeutique [Mémoire]. Nancy : Université de Poincaré; 2005.

Hoyet C., 2005. Le miel: De la source à la thérapeutique. Thèse en vue d'obtention de docteur en pharmacie, Pharmacie, Université Henri Poincaré-Nancy-1, 87 p.

Irlande D. (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques: Utilisation dans les plaies cutanées. Mémoire en pharmacie. Université de Paris, France.

Références bibliographiques

Jean-prost P. & Medori P., 2005. Matière première. In Apiculture. Lavoisier: Yves Le Conte. Paris, 161-183.

Jilani I.B.H., Schweizer P., Khouja M.L., Zouaghi M., Ghrabi Z. (2008) Physicochemical spectra of honeys produced in Tunisia (Southwest of Kef), *Apiacta* 43, 38–48 (accessed on 27 June 2009).

Joly-Guillou ML. Clinical impact and pathogenicity of *Acinetobacter*. *Clinical Microbiology and Infection*, 2005. 11(11): 868-873.

JOLY-GUILLOU M. L. et BERGOGNE-BEREZINE. (2006). Les bactéries du genre *Acinetobacter* revisitées : leur importance actuelle. CHU Angers. Paris. 95p.

Kerkvliet J.D. (1996). Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. *J. Apicult. Res*, 35: 110-117.

KHALDI H. (2016). Epidémiologie de l'infection à *Acinetobacter baumannii* au CHU de Marrakech. Thèse de Doctorat en Médecine. Université CADI AYYAD. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Marrakech.

Khenfer A et Fettal M., 2001. Le miel. Ministère de l'agriculture. Direction de la formation de la recherche et de la vulgarisation.P23.

Kluytmans J, van Belkum A and H. Verbrugh (1997). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus*: epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* .10:505-520.

Kouanou, E.F.B., Latifou, A.B., Christiane, A.D.D.A., Lucienne, E.D.A.H. et al. (2020). Le Miel: Facteurs Influençant sa Qualité. *International Journal of Progressive Sciences and Technologies*, 21(1), p.79-107.

Kwakman PH, Van den Akker JP. Medicalgrade honey kills antibiotic-resistant bacteria in vitro and eradicates skin colonization. *Clin Infect Dis* 2008; 46:1677-82.

Kyriakidis, I., Vasileiou, E., Pana, Z. D., & Tragiannidis, A. (2021). *Acinetobacter baumannii* antibiotic resistance mechanisms. *Pathogens*, 10(3), 373.

Références bibliographiques

Lequet L. (2010). Du nectar a un miel de qualité: Contrôles analytiques du miel et conseils Pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur; thèse de Doctorat en vétérinaire, numéro de thèse 085. Université de Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie).

Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clinical Microbiology Reviews*, 1995. 8(4): 557-584.

Lobreau-Callen D, Clément MC, Marmion V. Les miels. Paris : Éditions Techniques de l'ingénieur; 2000.

Machado De-Melo, A. A., Almeida-Muradian, L. B. D., Sancho, M. T., Pascual-Maté, A. (2018). Composition and properties of *Apis mellifera* honey: A review. *Journal of apicultural research*, 57(1), p. 5-37.

Makhloufi, C.; Kerkvliet, J.D.; D'albore, G.R.; Choukri, A.; Samar, R. Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Apidologie* 2010, 41, 509–521.

Manafi, M. (1996). Fluorogenic and chromogenic substrates in culture media and identification tests. *Int. J. Food Microbiol*, 31, 45-58.

Manyl- Loh C.E., Ndip R.N., Clarke A.M. (2011). Volatile compounds in honey: a review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *Int. J. Mol. Sci.* 12: 9514-32.

Meda A., Lamien C.E., Romito M., Millogo J. & Nacoulma O.G., 2005. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry* 91, 571-577.

Merah M, Bensaci Bachagha M, Boudershem A. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel récoltés sur le territoire algérien [Mémoire]. Ouargla : Université de Ouargla; Vol. 2, N° 2, Décembre 2010.

Miguel, M. G., Antunes, M. D., Faleiro, M. L. (2017). Honey as a complementary medicine. *Integrative medicine insights*, 12, p. 1–15.

Mounyr Balouiri, Moulay Sadiki, Saad Koraichi Ibnsouda (2016). Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2016)71–79.

Références bibliographiques

Ncube, N.S., Afolayan, A.J., and Okoh, A.I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology* 7.

Nordqvist, J. (2021). Everything you need to know about honey. Disponible sur: <https://www.medicalnewstoday.com/articles/264667> (Consulter le : 15/02/2022).

Nour Hussein Ahmad., Ghada A. Mohammad. (2020). Identification of *Acinetobacter baumannii* and Determination of MDR and XDR Strains. *Baghdad Science Journal*. 17(3):726-732

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., and Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control* 18, 52–58.

Oudjet K. Le miel : une denrée à promouvoir. Etudes et Enquêtes. Infos-CACQE N°:00 / Octobre 2012. Site web : http://www.cacqe.org/fichier_etude/2.pdf

PERRETIN V.F., SHWARTZ L., CRISTA M., BOEGILIN G., DASEN, & M.TEUBER. (1997). Antibiotic résistance spread in food, *Nature*. 389 ; 801-802p.

Peter D Paterson. L'apiculture. *Agricultures tropicales en poche*. Les presses agronomiques de Gembloux. 2008 : p127.

Phillippe J. M. (1999). *Le guide de l'apiculture*. Ed Edisud la calade, 13090 Aix-en Provence, pp. 209-228.

Prakash, O., Verma, M., Sharma, P., Kumar, M., Kumari, K., Singh, A., Kumari, H., Jit, S., Gupta, S.K., Khanna, M., Lal, R. (2007). Polyphasic approach of bacterial classification—An over view of recent advances. *Indian J. Microbiol*, 47, 98-108.

Ranneh, Y., Akim, A. M., Hamid, H. A., Khazaai, H. et al. (2021). Honey and its nutritional and anti-inflammatory value. *BMC Complementary Medicine and Therapeis*, 21 (1), p.1-17.

Rice LB. Challenges in identifying new antimicrobial agents effective for treating infections with *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Clinical Infectious Diseases*, 2006. 43(Supplement_2): S100-S105.

Références bibliographiques

Rossant, A. (2011). Le Miel Un Composé Complexe Aux Propriétés Surprenantes. Thèse de doctorat: Pharmacie. France: Université de Limoges, 133 p.

Rossant A., 2011. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Doctorat, Pharmacie. Université de Limoges, 136 p.

Rossau R, et al. Taxonomy of Moraxellaceae fam. nov, a new bacterial family to accommodate the genera Moraxella, Acinetobacter, and Psychrobacter and related organisms. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology, 1991. **41(2): 310-319.**

Salomon D., Barouti N., Rosset C., Whyndham-White C. Le miel : de Noe aux soins de plaies. Rev Med Suisse 2010;6:871- 874

Seifert H and Dijkshoorn L. Overview of the microbial characteristics, taxonomy, and epidemiology of Acinetobacter, in Acinetobacter Biology and Pathogenesis. 2008, Springer. 19-45.

Seraglio, S. K. T., Silva, B., Bergamo, G., Brugnerotto, P. et al. (2019). An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey. Food Research International, 119, p. 44-66.

Schweitzer P, (2004): le monde des miellats. Revue l'abeille de France N°908 laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.04p.

Schweitzer P, (2005): miel étranger. Revue l'abeille de France N°920 .laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 04p.

Siess M.H., Le bon AM., Canivenc- lavier M.C., Amiot M.J., Sabatier S., Aubert S.Y., Suschetet M. (1996). Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on hepatic drug-metabolizing enzymes and benzo[a]pyrene-DNA binding in rats. J. Agr. Food Chem. 44: 2297–2301.

Smith MG, et al. New insights into Acinetobacter baumannii pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. Genes & Development, 2007. 21(5): 601-614.

Soussy C-J., 2007. Résistance bactérienne aux antibiotiques. Monographies en urologie. 21-46 p.

Références bibliographiques

Suto, M., Kawashima, H., Nakamura, Y. (2020). Determination of organic acids in honey by liquid chromatography with tandem mass spectrometry. *Food Analytical Methods*, 13(12), p. 2249-2257.

Terrab A., Díez M.J., Heredia F.J. (2003a) Palynological, physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: I. River red gum (*Eucalyptus camaldensis* Dehnh) honey, *Int. J. Food Sci. Technol.* 38, 379–386.

Terzo, S., Mulè, F., Amato, A. (2020). Honey and Obesity-Related Dysfunctions: A Summary on Health Benefits. *J. Nutr. Biochem*, 82, p.1–8.

Tomaras AP, et al. Attachment to biofilm formation on abiotic surfaces by *Acinetobacter baumannii*: involvement of a novel chaperone-usher pili assembly system. *Microbiology*, 2003. 149(12): 3473-3484.

Tsavea, E.; Vardaka, F.-P.; Savvidaki, E.; Kellil, A.; Kanelis, D.; Bucekova, M.; Grigorakis, S.; Godocikova, J.; Gotsiou, P.; Dimou, M.; et al. Physicochemical Characterization and Biological Properties of Pine Honey Produced across Greece. *Foods* 2022, 11, 943. <https://doi.org/10.3390/foods11070943>

UWINGABIYE J. (2018). *Acinetobacter baumannii* : comparaison phénotypique et moléculaire des isolats colonisant et/ou infectant les patients et ceux contaminant l'environnement hospitalier. Thèse de Doctorat. Université Mohammed V. Faculté de Médecine et de Pharmacie. Rabat.16, 28, 50, 129p.

Viana G F, et al. ISAbal/blaOXA-23: A serious obstacle to controlling the spread and treatment of *Acinetobacter baumannii* strains. *American Journal of Infection Control*, 2016. 44(5): 593-595.

Viel C., Doré J.C. Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche. Dans : *Revue d'histoire de la pharmacie*, Société d'histoire de la pharmacie, 2003;337 :7-20.

Zhu, M., Zhao, H., Wang, Q., Wu, F. et al. (2020). A Novel Chinese Honey from *Amorpha fruticosa* L.: Nutritional Composition and Antioxidant Capacity In Vitro. *Molecules*, 25(21), p. 5211.

Résumé

Notre travail est une contribution à le criblage de l'activité antibactérienne et la synergie des quatre échantillons de miel des régions de Bouira et Djelfa, avec une espèce bactérienne *Acinetobacter baumannii* multi-résistante en déterminant la concentration minimale d'inhibition et en utilisant la méthode de diffusion sur gélose Luria Bertani à des concentrations de 1g/ml, 0.5g/ml et 0.25g/ml et la méthode de spots à des concentrations de 0.125g/ml, 0.0625g/ml et 0.03125g/ml. Les résultats obtenus montrent des effets antibactériens importants avec des zones d'inhibitions d'un diamètre de 12 à 09 mm à l'action de miel de l'euphorbe (E) (avec l'eau) et de 8 à 9 mm à l'action de miel de toutes fleurs (F) (avec l'eau et avec l'éthanol) à une concentration de 1g/ml sur la souche *A. baumannii*. D'autre part, le miel de Lebina à toute des concentrations (sauf 1g/ml et 0.5g/ml) a exprimé une activité antibactérienne efficace sur la souche. Les zones d'inhibitions d'un diamètre de 25 mm à l'action de la synergie entre le miel de l'euphorbe avec les autres miels ont été observées. Il semble que l'action de miel naturel sur les bactéries dépend de la structure de la paroi bactérienne, parce que certains miels ont un effet inhibiteur significatif contre les bactéries à Gram négative. Cela peut aussi dépendre du type de composition du miel et de plusieurs facteurs.

Mots clés : Miel, *Acinetobacter baumannii*, multirésistances aux antibiotiques, Activité antibactérienne, Bactéries

Abstract

Our work is a contribution to the screening of the antibacterial activity and the synergy of four samples of honey from the regions of Bouira and Djelfa, with a multi-resistant bacterial species *Acinetobacter baumannii* by determining the minimum concentration of inhibition and using the method diffusion on Luria Bertani agar at concentrations of 1g/ml, 0.5g/ml and 0.25g/ml and the spot method at concentrations of 0.125g/ml, 0.0625g/ml and 0.03125g/ml. The results obtained show significant antibacterial effects with zones of inhibition with a diameter of 12 to 09 mm at the action of euphorbia honey (E) (with water) and 8 to 9 mm at the action of all-flower honey (F) (with water and with ethanol) at a concentration of 1 g/ml on the *A. baumannii* strain. On the other hand, Lebina honey at all concentrations (except 1g/ml and 0.5g/ml) expressed effective antibacterial activity on the strain. The zones of inhibition with a diameter of 25 mm to the action of the synergy between euphorbia honey with other honeys were observed. It seems that the action of natural honey on bacteria depends on the structure of the bacterial wall, because some honeys have a significant inhibitory effect against Gram-negative bacteria. It can also depend on the type of composition of the honey and several factors.

Keywords: Honey, *Acinetobacter baumannii*, Drug multiresistant, Antibacterial activity, Bacteria

ملخص:

عملنا هو مساهمة في فحص النشاط المضاد للبكتيريا وتأزر أربع عينات من العسل من منطقتي البويرة والجلفة، مع نوع بكتيريا متعدد المقاومة *Acinetobacter baumannii* عن طريق تحديد الحد الأدنى لتركيز التثبيط واستخدام طريقة الانتشار على Luria Bertani agar بتركيزات 1 غ/مل و 0.5 غ/مل و 0.25 غ/مل وطريقة البقع بتركيزات 0.125 غ/مل و 0.0625 غ/مل و 0.03125 غ/مل. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها آثارًا كبيرة مضادة للجراثيم مع مساحة تثبيط بماء مقطر 12 إلى 09 ملم عند تأثير عسل الفربيون (E) (مع الماء) و 8 إلى 9 ملم عند تأثير عسل الأزهار بالكامل (F) (مع الماء والإيثانول) بتركيز 1 غ/مل على سلالة *A. baumannii*. من ناحية أخرى، أظهر عسل Lebina بكافة التركيزات (باستثناء 1 غ/مل و 0.5 غ/مل) نشاطًا فعالاً مضادًا للبكتيريا على السلالة. تمت ملاحظة مساحة التثبيط بقطر 25 مم لتأثير التآزر بين عسل الفربيون مع أنواع العسل الأخرى. يبدو أن تأثير العسل الطبيعي على البكتيريا يعتمد على بنية جدار البكتيريا، لأن بعض أنواع العسل لها تأثير مثبط كبير ضد البكتيريا سالبة الجرام. يمكن أن يعتمد أيضًا على نوع تركيبة العسل و عدة عوامل أخرى.

الكلمات الدالة: العسل، *Acinetobacter baumannii*، بكتيريا متعدد المقاومة، النشاط المضاد للبكتيريا، البكتيريا