

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة الجيلالي بونعامة خميس مليانة
Université Djilali Bounaama de Khemis Miliana
Faculté des sciences de la nature et de la vie et des sciences de la terre
Département des sciences biologiques



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

**Etude comparative *in vitro* entre les
traitements alternatifs et les traitements
conventionnels vis-à-vis d'*E. coli* responsable
d'infection urinaire chez l'homme**

Présenté par :

- Ouadah Nadjjet
- Kaddouri Ahlam
- Otsmane Hadjer

Devant le jury :

M ^{me} Halfaoui Z.	MAA	Présidente	(U.D.B. Khemis Miliana)
M ^f Ghallal M.	MAA	Promoteur	(U.D.B. Khemis Miliana)
M ^{me} Didouh N.	MCA	Examinatrice	(U.D.B. Khemis Miliana)

Année universitaire : 2021/2022

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah Le Tout Puissant pour nous avoir donné la force, le courage, la santé et la volonté et les moyens afin de pouvoir accomplir ce modeste travail ;

Nous adressons nos remerciements à notre Encadreur, Mr **Ghallal M.**, pour nous avoir accompagnés et avoir encadré notre mémoire par sa patience, son assistance et ses conseils, nous éprouvons beaucoup de gratitude concernant sa présence, ses encouragements et tout le temps dédié à l'avancement de notre étude, nous le remercions pour ce temps pris pour nous écouter et pour avoir respecté nos limites et nos besoins de façon empathique, nous le remercions sincèrement pour tout ;

Nous adressons aussi nos sincères remerciements à l'ensemble des ingénieurs du laboratoire **Zibouche** qui nous ont beaucoup aidés à réaliser ce travail dans des bonnes conditions ;

Un grand respect et beaucoup de remerciements vont vers les membres du jury qui vont consacrer leur temps et leur attention afin d'évaluer notre travail, nous tenons à remercier vivement Mme **Halfaoui Z.** et Mme **Didouh N.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire ;

Un grand merci à nos familles pour leur soutien permanent et indéfectible qui nous a permis de chercher au plus profond de nous-mêmes la force, la volonté et la persévérance, et d'arriver à ce moment important de notre vie ;

Nous remercions tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

Dédicaces

Mes dédicaces sont adressées à :

Celle qui m'a donnée la vie, la source de la tendresse : ma chère mère **Khadidja**, que Dieu te protège et te prête une longue et heureuse vie et te garde pour nous, ce travail est le fruit du sacrifice que t'as consenti pour mon éducation et mon avenir ;

Mon cher père **Ben Aicha** qui m'a entourée de tous ses encouragements et de son aide durant toute la période de mes études ;

La source de nostalgie, ma vie et mon poussin, ma moitié : mon adorable sœur **Fatma Zohra**, qui m'a toujours soutenue et encouragée, et ses enfants **Jojo** et **Fathi**, je vous souhaite une vie pleine d'amour et de succès ;

Mon bébé d'amour ma petite sœur **Amola** et ma chère sœur **Hanane**, je vous remercie pour votre temps, tous vos conseils et vos encouragements, je vous souhaite une belle vie pleine de bonheur et de réussite ;

Mes frères **Mohammed** et **Salim** et sa femme **Siham** et leurs enfants **Bahae El-Dine** et **Alae El-Dine**, je vous souhaite une vie pleine d'amour et de succès ;

Mes belles amies **Hadjer** et surtout **Ahlam**, merci de m'avoir considérée comme une sœur et d'avoir été présentes à mes côtés durant la réalisation de notre mémoire, je vous souhaite beaucoup de succès dans leur vie ;

Toutes les collègues de la carrière scolaire et universitaire et tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Nadjet

Dédicaces

Mes dédicaces sont adressées à :

Ma chère maman **Cherifa**, aucun mot ne saurait exprimer tout ce que je ressens pour toi, tes encouragements étaient pour moi une source de motivation tout au long de mes études, merci pour tes sacrifices, ta bonté, ta tendresse et ton amour ; en ce jour, j'espère que j'ai pu réaliser un de tes rêves, que Dieu te préserve du mal et te comble de santé et de bonheur ;

Mon père **Missoum**, tu m'as inculqué les principes de l'honneur, de droiture et de dévouement, je souhaite que ce mémoire t'apporte de la joie et de la fierté de voir aboutir tes sacrifices et j'espère avoir été digne de ta confiance, que Dieu te procure de la santé, du bonheur et une longue vie ;

Mes très chers frères **Mohammed, Karim et Ahmed**, et mes chères sœurs **Siham et Nawal** et leurs maris et enfants, je ne peux exprimer à travers ces lignes tous mes sentiments d'amour envers vous, que l'amour et la fraternité nous unissent à jamais, je vous souhaite la réussite dans votre vie et d'être comblés de bonheur, merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragée ;

Mon mari **Hakim**, l'homme de ma vie, mon âme sœur et la lumière de mon chemin, ma vie à tes côtés est remplie de belles surprises ;

Mes belles binômes **Hadjer** et spécifiquement **Nadjat**, merci à vous pour m'avoir considérée comme une sœur et d'avoir été présentes à mes côtés durant la réalisation de notre travail, cette dédicace ne saurait exprimer mon grand et profond respect ;

Tous mes chers collègues et les membres de ma famille que je n'ai pas mentionnés, et tous ceux qui m'ont aidé à mener ce travail, je vous remercie beaucoup.

Ahlam

Dédicaces

Mes dédicaces sont adressées à :

Toutes les personnes qui me sont chères ;

Deux êtres les plus chers au monde qui se sont sacrifiés pour m'offrir un climat idéal de travail, qui n'ont jamais cessé de témoigner leurs affections et de m'apporter leur soutien et leurs encouragements depuis toujours, mes très chers parents, merci pour tout ;

Mon cher mari **Youcef** et ma nouvelle petite famille ;

Mes chers frères **Abdellah** et **Abdellatif** ;

Ma belle-sœur **Nour El Houda** ;

Mes proches amies **Nour El Houda**, **Ahlam** et **Nadjet** ;

Tous les membres des familles **Otsmane**, **Belhioufi** et **Maghraoui** ;

Tous ceux qui m'ont encouragée par leur soutien moral.

Hadjer

ملخص

كانت عدوى المسالك البولية موضوع دراسات عديدة نظرًا لتكرارها وخطورة العامل المسبب، وتحتل المرتبة الثانية بعد التهابات الجهاز التنفسي من حيث سبب الاستشارات الطبية، وهي تصيب النساء بشكل عام أكثر من الرجال وغالبًا ما تسببها جرثومة الإشريكية القولونية الموجودة مع الجراثيم المعوية، ولكن إذا انتقلت إلى المسالك البولية، فسوف تسبب التهابًا يمكن أن يكون أكثر خطورة. يتم علاج هذا المرض بشكل أساسي بالمضادات الحيوية، والتي تسبب تطوير البكتيريا لمقاومة ضدها على نطاق واسع. لهذا، تهتم الدراسات الجديدة بشكل متزايد بإيجاد منتجات طبيعية بديلة فعالة ضد البكتيريا وبدون آثار جانبية.

الهدف من دراستنا هو عزل سلالات الإشريكية القولونية المسؤولة عن التهابات المسالك البولية عند الانسان، والمقارنة بين فعالية العلاجات التقليدية (المضادات الحيوية) والعلاجات البديلة الطبيعية (نوعان من العسل من أصل نباتي مختلف) ضد هذه السلالات البكتيرية المعزولة.

نظرًا لأن مدة التجربة كانت محدودة جدًا (أسبوعين)، فقد عملنا فقط على 10 عينات بول، كانت الإشريكية القولونية موجودة فيها جميعًا. أظهرت السلالات البكتيرية المعزولة مقاومة كبيرة للمضادات الحيوية (60٪ للأموكسيسيلين و50٪ لمزيج الأموكسيسيلين / حمض الكلافولانيك). لوحظت مقاومات أخرى عالية نوعا ما: 30٪، 20٪، 10٪ لمركب سلفاميثوكسازول / تريميثوبريم، حمض النايديكسيك، والفوسفوميسين، على التوالي. لم تسجل أي مقاومة تجاه السيفيكسيم، السيفوتاكسيم، الجنتاميسين، الأميكاسين، السيبروفلوكساسين والفيوران. في الوقت نفسه، أظهر العسلان اللذان تم اختبارهما، وهما عسل متعدد الأصل النباتي من منطقة بوقرة (ولاية البلدية) وعسل أحادي الأصل النباتي (الصدر) من منطقة المشرية (ولاية النعام)، نشاطًا مضادًا للبكتيريا مثيرًا للاهتمام، بتركيزات مثبتة دنيا 11٪ و15٪ على التوالي؛ حيث كانت السلالات البكتيرية المعزولة حساسة للغاية.

نظرًا لأن المضادات الحيوية لها عيوب تتمثل بشكل رئيسي في مقاومة المضادات الحيوية، في حين أن العسل ليس له تقريبًا أي من هذه الأضرار الجانبية وتطور المقاومة البكتيرية ضده معدومة، يمكن استخدام العسل في علاج التهابات المسالك البولية كبديل للمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: عدوى المسالك البولية، الإشريكية القولونية، المضاد الحيوي، مقاومة المضادات الحيوية، العلاج البديل، العسل.

Résumé

L'infection urinaire a fait l'objet de nombreuses études vu sa fréquence et la gravité de l'agent étiologique, et se place au deuxième rang après les infections respiratoires au terme de consultations, elle touche généralement les femmes plus que les hommes et est souvent causée par le germe *Escherichia coli* qui est présent dans la flore intestinale, mais s'il retourne dans l'arbre urinaire, il provoquera des inflammations plus ou moins graves. Cette maladie est principalement traitée par des antibiotiques à l'origine d'une large antibiorésistance chez les bactéries. Pour cela, de nouvelles études s'intéressent de plus en plus à la recherche des produits naturels alternatifs efficaces contre les bactéries et sans effets secondaires.

L'objectif de notre travail est d'isoler des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections urinaires chez l'être humain, et de comparer entre l'efficacité des traitements conventionnels classiques (antibiotiques) et des traitements alternatifs naturels (2 types de miel d'origine botanique différente) vis-à-vis de ces souches bactériennes isolées.

Comme la durée de l'expérimentation était très limitée (2 semaines), nous avons travaillé seulement sur 10 échantillons d'urine, dont *Escherichia coli* était présent dans la totalité de ceux-ci. Les souches bactériennes isolées ont montré des antibiorésistances importantes (60 % pour l'amoxicilline et 50 % pour l'association amoxicilline/acide clavulanique). D'autres résistances plus ou moins élevées ont été constatées : 30 %, 20 %, et 10 %, pour la combinaison sulfaméthoxazole/triméthoprim, l'acide nalidixique et la fosfomycine, respectivement. Aucune résistance n'a été enregistrée pour le céfixime, le céfotaxime, la gentamicine, l'amikacine, la ciprofloxacine et le furane. Parallèlement, les deux miels testés, miel multifloral de la région de Bougara (Wilaya de Blida) et miel monofloral (jububier de Palestine "السدر") de la région de Mechria (Wilaya de Naama), ont montré une activité antibactérienne très intéressante, avec des concentrations minimales inhibitrices de 11 % et de 15 %, respectivement.

Comme les antibiotiques présentent des inconvénients essentiellement les antibiorésistances, alors que le miel n'en a presque pas et le développement des résistances bactériennes en sont nulles, le miel pourrait être utilisé en thérapeutique des infections urinaires comme une alternative aux antibiotiques.

Mots clés : infection urinaire, *E. coli*, antibiotique, antibiorésistance, traitement alternatif, miel.

Abstract

The urinary tract infection has been the subject of numerous studies given its frequency and etiological agent severity, and ranks second after respiratory infections in terms of medical consultations, it generally affects women more than men and is often caused by the *Escherichia coli* germ which is present in the intestinal flora, but if it returns to the urinary tract, it will cause more or less serious inflammation. This disease is mainly treated with antibiotics, which cause high antibiotic resistance in bacteria. For that, new studies are increasingly interested in finding alternative natural products effective against bacteria and without side effects.

The aim of our work is to isolate strains of *Escherichia coli* responsible for urinary tract infections in humans, and to compare between the effectiveness of conventional treatments (antibiotics) and natural alternative treatments (2 types of honey of different botanical origin) against these isolated bacterial strains.

As the duration of the experiment was very limited (2 weeks), we only worked on 10 urine samples, of which *Escherichia coli* was present in all of them. The isolated bacterial strains showed significant antibiotic resistances (60 % for amoxicillin and 50 % for the amoxicillin/clavulanic acid combination). Other more or less high resistances were observed: 30 %, 20 %, and 10 %, for the sulfamethoxazole/trimethoprim combination, nalidixic acid and fosfomycin, respectively. No resistance was recorded for cefixime, cefotaxime, gentamicin, amikacin, ciprofloxacin and furan. At the same time, the two tested honeys, multifloral honey from the Bougara region (Wilaya of Blida) and monofloral honey (Christ's thorn jujube "السدرة") from the Mechria region (Wilaya of Naama), showed a very interesting antibacterial activity, with minimal inhibitory concentrations of 11 % and 15 %, respectively; whose isolated bacterial strains were very sensitive.

As antibiotics have drawbacks mainly antibiotic resistance, while honey has almost none and there is no development of bacterial resistance, honey could be used in therapy for urinary tract infections as an alternative to antibiotics.

Keywords: urinary tract infection, *E. coli*, antibiotic, antibiotic resistance, alternative treatment, honey.

Sommaire

Remerciements

Dédicaces

ملخص

Résumé

Abstract

Sommaire

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction	1
Chapitre I : Infections urinaires (IU)	3
1.1. Rappels anatomiques et physiologiques sur l'appareil urinaire	3
1.1.1. Haut appareil urinaire	3
1.1.1.1. Rein	3
1.1.1.2. Uretères	4
1.1.2. Bas appareil urinaire	4
1.1.2.1. Vessie	4

1.1.2.2. Urètre	4
1.1.2.3. Prostate	4
1.1.2.4. Méat urinaire	5
1.1.3. Constitution physiologique des urines	5
1.2. Infections urinaires (IU)	6
1.2.1. Cystite	6
1.2.1.1. Cystite aiguë simple	6
1.2.1.2. Cystite aiguë compliquée	6
1.2.2. Urérite	7
1.2.3. Prostatite	7
1.2.4. Pyélite ou pyélonéphrite	7
1.3. Étiologie des IU	8
1.4. Epidémiologie des IU	9
1.5. Facteurs favorisants des IU	9
1.5.1. Facteurs liés aux bactéries	9
1.5.1.1. Facteurs de virulence bactérienne	9
1.5.1.2. Adhérences bactériennes et colonisation	9
1.5.2. Facteurs liés à l'homme	9
1.6. Physiopathologie des IU	10
1.7. Diagnostic des IU	11
1.7.1. Examen à la bandelette urinaire (BU)	11

1.7.2. Examen cyto bactériologique des urines (ECBU)	11
Chapitre II : Traitements conventionnels des IU : ATB	12
2.1. Historique	12
2.2. Définition d'un ATB	13
2.3. Mécanismes d'action des ATB	13
2.4. Antibiorésistance	14
2.4.1. Définition de l'antibiorésistance	14
2.4.2. Support de l'antibiorésistance	14
2.4.2.1. Résistance naturelle	15
2.4.2.2. Résistance acquise	15
2.4.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique	15
2.4.2.2.2. Résistance par acquisition de gènes	16
2.4.3. Mécanismes de l'antibiorésistance	16
2.4.3.1. Résistance par inactivation enzymatique	16
2.4.3.2. Résistance par imperméabilité	18
2.4.3.3. Résistance par efflux actif	18
2.4.3.4. Résistance par modification de la cible	18
2.4.3.5. Résistance par formation de biofilms	19
2.4.4. Bactéries multirésistantes (BMR)	20
2.4.5. Lutte contre l'antibiorésistance	20
2.4.5.1. Réduction de la consommation d'ATB	21

2.4.5.2. Recherche de nouvelles perspectives thérapeutiques	21
Chapitre III : Traitement alternatif : miel	22
3.1. Aperçu historique	22
3.2. Définition	22
3.2.1. Miel	22
3.2.2. Abeille	23
3.2.3. <i>Apis mellifera</i>	23
3.3. Elaboration et fabrication	24
3.4. Classification	24
3.4.1. Miel de nectar	25
3.4.1.1. Miels monofloraux	25
3.4.1.2. Miels multifloraux	25
3.4.2. Miel du miellat	25
3.5. Récolte	26
3.6. Composition	26
3.6.1. Sucres	27
3.6.2. Eau	27
3.6.3. Acides organiques	27
3.6.4. Protéines	27
3.6.5. Lipides	28
3.6.6. Vitamines	28

3.6.7. Enzymes	28
3.6.8. Sels minéraux	29
3.7. Propriétés	29
3.7.1. Propriétés organoleptiques	29
3.7.1.1. Couleur	29
3.7.1.2. Odeur et goût	29
3.7.1.3. Consistance	29
3.7.1.4. Cristallisation	30
3.7.2. Propriétés physico-chimiques	30
3.7.2.1. Densité	30
3.7.2.2. Viscosité	30
3.7.2.3. pH et acidité	31
3.7.3. Propriétés nutritionnelles	31
3.8. Miel en thérapeutique	31
3.8.1. Activité cicatrisante	31
3.8.2. Activité antimicrobienne	32
3.8.3. Activité antioxydante	32
3.8.4. Activité immunostimulante	33
3.8.5. Activité antitumorale et anti-inflammatoire	33
Chapitre IV : Partie pratique	35
4.1. Objectif du travail	35

4.2. Lieu et période du travail	35
4.3. Matériels et produits	35
4.3.1. Matériels	35
4.3.2. Milieux de culture	36
4.3.3. Réactifs	36
4.3.4. Matériel biologique	36
4.4. Méthodes	37
4.4.1. Prélèvement	37
4.4.2. Isolement d'<i>Escherichia coli</i> et observation macroscopique	37
4.4.3. Purification des colonies suspectes	38
4.4.4. Identification bactérienne	38
4.4.4.1. Observation microscopique après coloration	38
4.4.4.2. Identification biochimique	39
4.4.4.2.1. Test d'oxydase	39
4.4.4.2.2. Test de catalase	40
4.4.4.2.3. Test urée-indole	40
4.4.4.2.4. Test Clark et Lubs	41
4.4.4.2.5. Galerie API 20E	42
4.4.5. Antibiogramme par diffusion des disques	43
4.4.6. Test de sensibilité au miel	45
4.4.6.1. Miels testés	45

4.4.6.2. Détermination de la CMI	45
4.4.6.3. Test de sensibilité des souches d'<i>E. coli</i> isolées aux miels	46
4.5. Résultats	46
4.5.1. Prélèvement	46
4.5.2. Isolement d'<i>Escherichia coli</i> et observation macroscopique	46
4.5.3. Purification des colonies suspectes	47
4.5.4. Identification bactérienne	47
4.5.4.1. Observation microscopique après coloration de Gram	47
4.5.4.2. Identification biochimique	48
4.5.4.2.1. Test d'oxydase	48
4.5.4.2.2. Test de catalase	48
4.5.4.2.3. Test urée-indole	48
4.5.4.2.4. Test de Clark et Lubs	49
4.5.4.2.5. Galerie API 20E	50
4.5.5. Antibiogramme	51
4.5.6. Test de sensibilité au miel	52
4.5.6.1. Détermination de la CMI	52
4.5.6.2. Test de sensibilité des souches d'<i>E. coli</i> isolées aux miels	52
4.6. Discussion	53
Conclusion	57

Références bibliographiques

Liste des figures

Figure 1.1 : Anatomie de l'appareil urinaire	3
Figure 1.2 : Formes topographiques des types d'IU	7
Figure 2.1 : Types de l'antibiorésistance	15
Figure 2.2 : Mécanismes de l'antibiorésistance	16
Figure 2.3 : Antibiorésistance par modification de la cible (synthèse d'une PLP modifiée)	19
Figure 2.4 : Schéma présentant les étapes du développement du biofilm	20
Figure 3.1 : L'abeille <i>Apis mellifera</i>	23
Figure 3.2 : Composition moyenne du miel	26
Figure 3.3 : Phénomène de cristallisation du miel	30
Figure 4.1 : Echantillon d'urine	37
Figure 4.2 : Réalisation du test d'oxydase avec le disque et le réactif	39
Figure 4.3 : Réalisation du test de catalase	40
Figure 4.4 : Mise en évidence de la dégradation du tryptophane par un tryptophane désaminase	41
Figure 4.5 : Réalisation du test urée-indole et du test Clark et Lubs	42
Figure 4.6 : Réactifs utilisés pour la lecture de la galerie API 20E	43
Figure 4.7 : Réalisation de la galerie API 20E	43

Figure 4.8 : Miels (A et B) testés vis-à-vis d'<i>E. coli</i>	46
Figure 4.9 : <i>E. coli</i> sur le milieu Hektoen après 24 heures d'incubation	46
Figure 4.10 : <i>E. coli</i> sur le milieu GN après 24 heures d'incubation	47
Figure 4.11 : Observatoire microscopique d'<i>E. coli</i> après coloration de Gram	47
Figure 4.12 : Résultats du test d'oxydase pour <i>E. coli</i> avec le disque et le réactif ..	48
Figure 4.13 : Résultat du test de catalase pour <i>E. coli</i>	48
Figure 4.14 : Résultats du test urée-indole pour <i>E. coli</i> après avoir ajouté le réactif de Kovacs	49
Figure 4.15 : Résultat de la réaction RM pour <i>E. coli</i> après avoir ajouté le RM ...	49
Figure 4.16 : Profil de galerie API 20E pour <i>E. coli</i> (souche 1)	50
Figure 4.17 : Profil d'<i>E. coli</i> (souche 1) sur le gabarit de lecture (fiche technique) dédié à la galerie API 20E	50
Figure 4.18 : Profil d'<i>E. coli</i> (souche 1) sur le logiciel de lecture dédié à la galerie API 20E	51
Figure 4.19 : Profil d'antibiogramme d'<i>E. coli</i> (souche 1)	52
Figure 4.20 : Résultats du test de sensibilité au miel A à 15 % des souches d'<i>E. coli</i> isolées	52
Figure 4.21 : Résultats du test de sensibilité au miel B à 11 % des souches d'<i>E. coli</i> isolées	53

Liste des tableaux

Tableau 1.1 : Principaux constituants de l'urine	5
Tableau 2.1 : Classification des ATB selon leurs sites d'action	13
Tableau 2.2 : Principales enzymes inactivant les ATB	17
Tableau 2.3 : Différents modes d'antibiorésistance par imperméabilité	18
Tableau 2.4 : Mécanismes traditionnels de lutte contre l'antibiorésistance	21
Tableau 3.1 : Teneurs du miel en vitamines	28
Tableau 4.1 : ATB testés vis-à-vis des souches d'<i>Escherichia coli</i> isolées	44
Tableau 4.2 : Résultats des antibiogrammes pour les 10 souches d'<i>E. coli</i> isolées	51
Tableau 4.3 : Profils de résistance et de sensibilité en pourcentages des souches d'<i>E. coli</i> isolées vis-à-vis des différents ATB testés	55

Liste des abréviations

AAC : Acétyltransférase

ADN : Acide désoxyribonucléique

ANT : Nucléotidyltransférase

APH : Phosphotransférase

ATB : Antibiotique

BLSE : β -Lactamase à Spectre Etendu

BMR : Bactérie Multi-Résistante

BU : Bandelette Urinaire

C₁₂H₂₂O₁₁ : Saccharose

C₆H₁₂O₆ : Glucose ou Fructose

CAPA : Capsular Acidic Polysaccharide Antigen

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice

DO : Densité Optique

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines

GN : Gélose Nutritive

H₂O : Eau

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène

IL-1 β : Interleukine-1 β

IL-6 : Interleukine-6

IU : Infection Urinaire

MCO : micro-organisme

MF : McFarland

MH : Mueller-Hinton

MMP-9 : Matrix Metalloproteinase-9

OMS : Organisation Mondiale de la Santé

ONPG : Ortho-Nitrophényl-bêta-D-Galactopyranoside

pH : Potentiel d'Hydrogène

PLP : Protéine de Liaison aux Pénicillines

RM : Rouge de Méthyle

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

TDA : Tryptophane Désaminase

TGF- β : Facteur de Croissance Transformant β

TNF- α : Facteur de Nécrose Tumorale α

VP : Voges-Proskauer

VP1 : α -naphthol

VP2 : Hydroxyde de potassium = potasse caustique (KOH) ou Hydroxyde de sodium = soude caustique (NaOH)

WA : Water Activity (activité de l'eau)

Introduction

Introduction

L'infection urinaire (IU) est une des infections bactériennes les plus fréquentes et constitue un problème majeur de santé publique (**Zahir et al., 2019**). La fréquence des IU est estimée à 150 millions de cas par année dans le monde (**Bertholom, 2016**). La prévalence est beaucoup plus élevée chez la femme que chez l'homme, un tiers des femmes a une IU au cours de leur vie. Chez la femme, la fréquence augmente avec l'âge avec 2 pics, l'un au début de la vie sexuelle et l'autre après la ménopause. La grossesse est un facteur favorisant. Chez l'homme, la fréquence augmente après 50 ans du fait de la pathologie prostatique (**CMIT, 2020**).

Escherichia coli est de loin le germe le plus fréquemment retrouvé, surtout lors de cystite simple (**Emonet et al., 2011**), il représente 70 à 80 % des bactéries isolées dans les IU (**Debre et al., 2004 ; Philippon et Arlet, 2005 ; Etienne et al., 2014**). L'infection à *E. coli* est l'une des principaux motifs de consultation, d'explorations microbiologiques et de prescription d'antibiotiques (ATB), avec leurs conséquences sur le coût des soins et du développement de résistances bactériennes (**Zahir et al., 2019**).

L'examen cyto bactériologique des urines reste l'examen clé pour le diagnostic positif de cette infection, il permet d'identifier le germe responsable et d'étudier sa sensibilité aux ATB (**Pavese, 2003**).

L'émergence et la diffusion des mécanismes de résistance acquise au sein des espèces bactériennes limitent maintenant les indications d'un certain nombre d'ATB de première intention. La surveillance de ces mécanismes de résistance est nécessaire pour vérifier la validité des protocoles de traitement de première intention et de proposer d'éventuelles mesures susceptibles de contrôler cette évolution (**Elkharrat et al., 2007**). Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent généralement pas des effets secondaires. Le miel compte parmi ces produits les plus convoités. En raison de ses propriétés thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées au miel (**Badawy et al., 2005 ; Baltrušaitytė et al., 2007**). Plus un miel inhibe la croissance des bactéries, plus son efficacité est élevée (**Bogdanov et Blumer, 2001**).

Introduction

A la lumière de ces données, l'objectif de notre travail est d'isoler des souches d'*Escherichia coli* responsables d'IU, et de comparer entre l'efficacité des traitements conventionnels classiques (ATB) et des traitements alternatifs naturels (2 types de miel d'origine botanique différente) vis-à-vis de ces souches bactériennes isolées.

Synthèse bibliographique

Chapitre I : Infections urinaires (IU)

1.1. Rappels anatomiques et physiologiques sur l'appareil urinaire :

L'appareil urinaire est un appareil complexe qui implique plusieurs organes : les reins, les uretères, la vessie, la prostate, l'urètre et le méat urinaire (figure 1.1) (**Kamina, 2005**).

L'urine est fabriquée par les reins puis est transportée par les uretères dans la vessie où elle est stockée. La miction permet l'évacuation de l'urine en passant par l'urètre qui débouche sur le méat urinaire (**Hordé et al., 2014**).

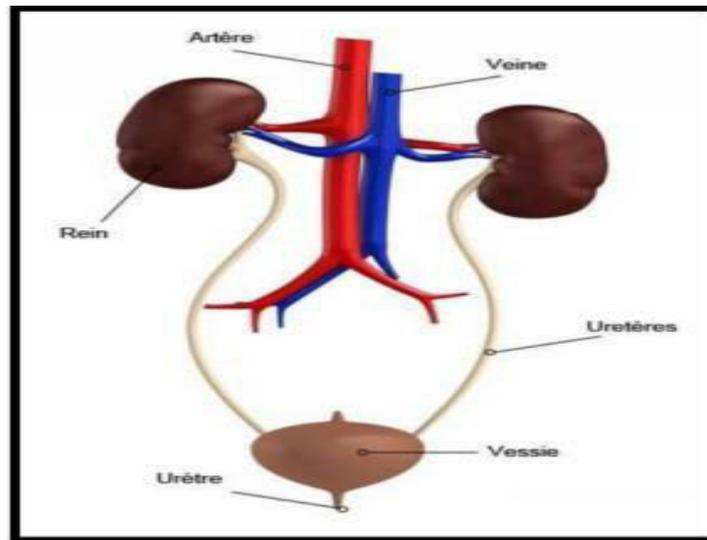


Figure 1.1 : Anatomie de l'appareil urinaire (Ellatifi, 2011).

1.1.1. Haut appareil urinaire :

1.1.1.1. Rein :

Le rein est un organe stérile glandulaire pair situé dans la région lombaire dont la fonction importante est la filtration du plasma sanguin et la sécrétion de l'urine (**Kamina, 2005**). C'est un organe rétropéritonéal qui synthétise l'érythropoïétine qui stimule l'érythropoïèse au niveau de la moelle osseuse, et la rénine qui participe à la régulation de la pression artérielle (**Kohler, 2011**).

Synthèse bibliographique

1.1.1.2. Uretères :

Les uretères sont les conduits amenant l'urine du rein à la vessie. Ils sont pairs, symétriques, longs et s'étendent de l'étage lombaire à la partie basse du pelvis (**Olivier et Freiss, 2011**).

Ce sont des conduits musculo-membraneux, doués de mobilité permettant de faire progresser l'urine des lombes jusqu'à la vessie. Ils sont originaires d'un diverticule du canal de Wolff (cloaque primitif) (**Olivier et Freiss, 2011**).

1.1.2. Bas appareil urinaire :

1.1.2.1. Vessie :

La vessie est une structure stérile en forme de sac composé de fibres musculo-membraneuses. Située dans le bassin, elle sert à stocker l'urine entre deux mictions. Elle est sous-péritonéale et est située dans la partie antérieure du pelvis, derrière le pubis (**Desgrandchamps et al., 2008**).

1.1.2.2. Urètre :

L'urètre est le conduit qui achemine l'urine de la vessie vers l'extérieur (**Nguyen et Bourouina, 2008**). Son aspect est différent dans les deux sexes (**Lacombe, 2005**).

Il est bref chez la femme, environ 3 cm, ce qui rend plus difficile la continence urinaire et l'expose à des épisodes de fuite urinaire lorsque les tissus du pelvis ont été distendus (grossesse, vieillissement, ...). Chez l'homme, il est beaucoup plus long, et son trajet comprend plusieurs coudures. Par conséquent, la continence est moins menacée, mais en contrepartie, l'évacuation est rendue plus difficile par la présence d'obstacles le long du trajet, notamment de la prostate (**Olivier et Freiss, 2011**).

L'urètre masculin a une double fonction faisant partie à la fois du système urinaire et du système génital : transporter l'urine ou le sperme hors de l'organisme (**Marieb, 2008**).

1.1.2.3. Prostate :

C'est une glande qui n'a aucune fonction hormonale, elle tient pourtant une place prépondérante tout au long de la vie de l'homme. Les problèmes de la prostate ne touchent

Synthèse bibliographique

que les hommes du troisième âge. En effet, le contrôle qu'exerce la prostate en régulant la cadence mictionnelle ainsi qu'en s'intégrant à la vie sexuelle et reproductrice (notamment par la production d'une grande partie du liquide spermatique) montre son importance chez le jeune adulte (**Bitton, 2007**).

1.1.2.4. Méat urinaire :

Le méat urinaire, ou méat urétral, fait partie du système urinaire. Il s'agit de l'orifice externe de l'urètre par lequel passent les urines au moment de la miction. Le méat urinaire permet également l'éjection d'autres substances, telles que le sperme lors de l'éjaculation masculine ou le liquide expulsé lors de l'éjaculation féminine. Chez l'homme comme chez la femme, le méat urinaire est une zone sensible (**Anonyme 1**).

1.1.3. Constitution physiologique des urines :

L'urine est composée de 95 % d'eau dans laquelle les déchets du métabolisme sont dissous. Les principaux constituants de l'urine sont mentionnés dans le tableau ci-dessous (**Schaffler et Menche, 2004**).

Tableau 1.1 : Principaux constituants de l'urine (**Chouba et al., 2006**).

Principaux constituants de l'urine	Volumes habituels
Eau	950 g/l
Urée	20 à 30 g/l
Chlorure	6 à 10 g/l
Sodium	5 à 6,5 g/l
Phosphates	1,5 à 3 g/l
Sulfate	2 g/l
Créatinine	1 à 1,5 g/l
Ammoniaque	0,5 à 1 g/l
Acide hippurique	0,5 g/l
Acide urique	0,4 à 0,8 g/l
Calcium	0,008 à 0,3 g/l

La présence d'urochromes est responsable de la coloration jaune des urines (**Schaffler et Menche, 2004**).

Synthèse bibliographique

L'urine est normalement stérile, elle ne contient ni microbes, ni virus, ni champignons (**Chibane, 2010**). Son odeur est légèrement aromatique et dégage une odeur d'ammoniac attribuable à l'action des bactéries sur ses solutés. Certains médicaments, certains légumes et quelques maladies (tel que le diabète sucré) modifient son odeur (**Marieb, 2008**).

1.2. Infections urinaires (IU) :

On parle d'IU en présence d'un germe pathogène dans l'urine et en présence d'une symptomatologie compatible : fièvre, pollakiurie, impériosité et brûlure mictionnelle (**Schmiemann et al., 2010 ; Pourcine, 2010**).

Les IU sont une des plus fréquentes infections bactériennes (**Foxman et al., 2000**). Elles peuvent être localisées dans les voies urinaires basses (cystite, urétrite, ou prostatite) ou hautes (pyélite ou pyélonéphrite) (**Foxman, 2002**).

1.2.1. Cystite :

Etat inflammatoire aigu ou chronique d'origine infectieuse, atteignant la vessie. Les cystites sont très fréquentes et se caractérisent par la triade : brûlures mictionnelles (brûlures lors des mictions), pollakiurie (envie fréquente d'uriner) et pyurie (**Flam et al., 1998 ; Lumbroso et al., 2016**).

1.2.1.1. Cystite aiguë simple :

Elle touche surtout les femmes entre 15 et 65 ans, c'est un épisode isolé sans facteurs de risque : sujet non immunodéprimé, en dehors de la grossesse, en l'absence de diabète, sans insuffisance rénale, sans anomalie de l'appareil urinaire, sans résidu vésical, sans vessie neurologique, sans calcul, sans sonde à demeure, sans intervention endoscopique récente (**Flam et al., 1998**).

1.2.1.2. Cystite aiguë compliquée :

Elle peut survenir à tous les âges en fonction des situations et facteurs de risque suivant : uropathie malformative ou obstructive, sondage urinaire, immunosuppression, diabète, insuffisance rénale, grossesse, cystites à répétition (> 4 épisodes/an) et résidu vésical > 100 ml (**Bitton, 2007**).

Synthèse bibliographique

1.2.2. Urétrite :

L'urétrite touche uniquement l'urètre. Il s'agit d'une infection sexuellement transmissible courante chez les hommes, mais les femmes peuvent aussi en souffrir. Les principaux signes et symptômes sont : dysurie avec brûlures mictionnelles, écoulement urétral et parfois une hématurie typiquement initiale (Guy Albert, 2008).

1.2.3. Prostatite :

C'est une inflammation de la prostate causée par des agents infectieux (bactéries, champignons, mycoplasmes) ou par une affection (par exemple rétrécissement de l'urètre ou hyperplasie de la prostate) (Moreddu, 2015).

1.2.4. Pyélite ou pyélonéphrite :

C'est une inflammation microbienne du bassinet associée à l'envahissement de l'interstitium rénal par des traînées de néphrite interstitielle suppurative. Le terme de pyélite ne devrait pas être utilisé, car lorsqu'il existe une infection du bassinet on trouve toujours une infection des zones adjacentes du tissu rénal (Meyrier, 1993).

Une pyonéphrite est un abcès du rein. Il s'agit en fait le plus souvent d'un aspect évolutif de la pyélonéphrite, dans lequel les lésions ont fini par s'excaver (Meyrier, 1993).

Une pyonéphrose est l'infection des cavités et du parenchyme rénal en amont d'un obstacle. Il s'agit d'une affection chirurgicale, nécessitant un drainage de la voie excrétrice dans les délais les plus brefs (Meyrier, 1993).

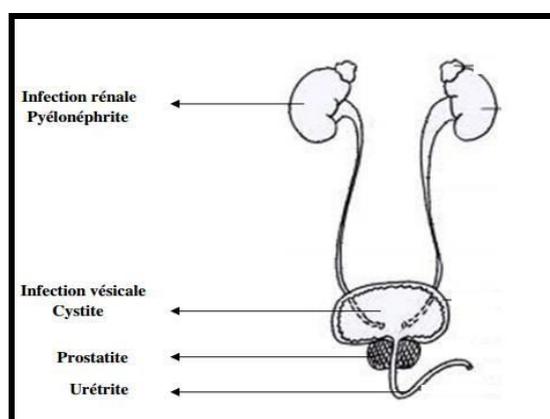


Figure 1.2 : Formes topographiques des types d'IU (Moreddu, 2015).

Synthèse bibliographique

1.3. Étiologie des IU :

Les IU sont principalement causées par des bactéries, bien que des champignons et certains virus aient également été impliqués. Parmi les bactéries, on y trouve les bactéries Gram-négatives de la famille des *Enterobacteriaceae*, notamment *E. coli* et les espèces du genre *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Proteus*, etc. Cependant, certains organismes à Gram positif sont également incriminés, principalement *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus saprophyticus* et *Streptococcus agalactica* qui joue un rôle surtout chez les jeunes femmes (Foxman et Brown, 2003).

Ce sont des germes uropathogènes, ayant la capacité d'adhérer aux cellules de l'urothélium, grâce à la présence d'adhésines reconnaissant certains récepteurs des membranes cellulaires de l'urothélium (Chartier, 2002). Ils possèdent des pili communs (fimbriae) qui sont des facteurs d'adhésion (Guiraud et Rosec, 2004).

Les germes les plus principalement incriminés sont des entérobactéries, dont en premier lieu *E. coli*, qui représente 70 à 80 % des bactéries isolées en cas de prélèvement urinaire (Baerheim et al., 1999).

Les entérobactéries appartiennent à la famille des *Enterobacteriaceae*. Cette famille est composée de bactéries rassemblées en raison de leurs caractères communs : bacilles à Gram négatif de dimensions 0,5 µm sur 3 µm, mobiles grâce à une ciliature péritriche, se développent aisément sur milieux ordinaires, aérobies facultatifs faisant fermenter le glucose avec ou sans gaz, ne possèdent pas d'oxydase et réduisent les nitrates en nitrites (Pilet et al., 1983).

E. coli est un hôte normal de l'homme et est souvent retrouvé en petit nombre dans les urines saines (Pilet et al., 1983). C'est une bactérie asporulée, fine et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche. Elle se développe en 24 heures à 37 °C sur les milieux gélosés en donnant des colonies rondes, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre et non pigmentées. Sur les milieux lactosés, les colonies sont généralement lactose-positives et sur gélose au sang elles peuvent être hémolytiques. Les principaux caractères positifs sont indole, ONPG et mannitol (Avril et al., 2000).

Synthèse bibliographique

1.4. Epidémiologie des IU :

Pour des raisons anatomiques, les femmes sont plus souvent touchées par ces IU qui prolifèrent au niveau de la vessie (**Lumbroso *et al.*, 2016**).

Les IU touchent six principaux groupes à risque, chez qui elles sont récidivantes : les fillettes et les adolescentes, les femmes (en période d'activité génitale, en grossesse, en ménopause), les hommes atteints d'hypertrophie prostatique, les sujets âgés, les hospitalisés (infections nosocomiales) et les enfants présentant des malformations du haut et bas appareil urinaire (**Smith *et al.*, 1997**).

1.5. Facteurs favorisants des IU :

1.5.1. Facteurs liés aux bactéries :

1.5.1.1. Facteurs de virulence bactérienne :

Toutes les souches d'*E. coli* ne sont pas uropathogènes. Il semble nécessaire pour qu'une souche devienne pathogène, qu'elle soit du groupe O, qu'elle produise une hémolysine et une colicine et enfin qu'elle soit porteuse de l'antigène CAPA (Capsular Acidic Polysaccharide Antigen) (**Desgrandchamps *et al.*, 2008**).

1.5.1.2. Adhérences bactériennes et colonisation :

Les souches d'*E. coli* pathogènes adhèrent aux cellules de l'épithélium du bas appareil urinaire par l'intermédiaire de pili (**Desgrandchamps *et al.*, 2008**).

1.5.2. Facteurs liés à l'homme :

Ces facteurs sont surtout représentés par :

Les modifications hormonales chez la femme (ménopause, période pré-menstruelle et période post-menstruelle) ;

Les infections gynécologiques à *Chlamydia* ou à mycoplasmes, qui fragilisent la muqueuse vaginale et modifient la flore bactérienne vaginale ;

L'insuffisance ou surtout les excès d'hygiène périnéale ;

Synthèse bibliographique

Les anomalies anatomiques ou fonctionnelles de l'appareil urinaire (tumeurs, lithiases, reflux vésico-urétéral, diverticules vésicaux) ;

La stase urinaire par compression extrinsèque (grossesse, prolapsus génital, hypertrophie prostatique) ;

Les corps étrangers (sondage ou endoscopie) ;

Certains terrains (diabète, immunodépression) (**Bouvenot, 2012**).

1.6. Physiopathologie des IU :

Une IU correspond à l'agression d'un tissu par un ou plusieurs micro-organismes (MCO), générant une réponse inflammatoire et des signes et symptômes de nature et d'intensité variables selon le terrain (**Bruyère et al., 2008**).

L'arbre urinaire est normalement stérile, à l'exception de la flore des derniers centimètres de l'urètre distal. Cette flore est diverse et reflète à la fois la flore digestive (entérobactéries, streptocoques, anaérobies), la flore cutanée (staphylocoques à coagulase négative, corynébactéries) et la flore génitale (lactobacilles chez la femme) (**Bruyère et al., 2008**).

Les MCO atteignent l'appareil urinaire par différentes voies : ascendante essentiellement, mais aussi hématogène, ou lymphatique (**Bruyère et al., 2008**).

Le mécanisme principal est la voie ascendante, spécialement pour les bactéries d'origine intestinale (*Escherichia coli* et autres entérobactéries) (**Bruyère et al., 2008**).

La voie hématogène est plus rare et limitée à quelques rares germes, tels que *Staphylococcus aureus*, *Candida spp.* et *Mycobacterium tuberculosis*. Toutes les espèces de bactéries ne sont pas identiques sur leur capacité d'induire l'infection (variable selon l'hôte et la bactérie) (**Bruyère et al., 2008**).

Synthèse bibliographique

1.7. Diagnostic des IU :

1.7.1. Examen à la bandelette urinaire (BU) :

Les BU ne sont utiles que chez les patients non sondés. Elles peuvent être suffisantes dans la prise en charge des cystites simples chez la femme non enceinte (CMIT, 2014).

Elles sont utiles aussi pour le débrouillage en cas de symptômes atypiques (CMIT, 2014), mais elles ne remplacent ni l'examen microscopique ni les cultures (Borghini *et al.*, 2002).

Le test se compose d'une bandelette présentant des zones réactives de chimie sèche permettant de rechercher dans l'urine la présence qualitative et/ou semi-quantitative de différents paramètres tels que les leucocytes, les nitrites, le pH, les protéines, le glucose, les corps cétoniques, l'urobilinogène, la bilirubine, les érythrocytes (ou le sang) et le poids spécifique (densité) (Borghini *et al.*, 2002).

Pour ce faire, l'urine est correctement homogénéisée en tournant lentement, à plusieurs reprises, le gobelet. La BU est immergée une seconde (au maximum) dans l'urine en humectant entièrement toutes les zones réactives (CMIT, 2014).

1.7.2. Examen cytbactériologique des urines (ECBU) :

C'est l'examen le plus utilisé pour détecter une IU. Après le prélèvement, l'échantillon sera examiné au microscope sans et avec une coloration de Gram. L'urine est ensuite mise en culture pour la numération des germes et l'identification bactérienne. L'ECBU doit être pratiqué avant toute antibiothérapie. Il est réalisé en présence de symptômes urinaires, pour confirmer ou infirmer le diagnostic d'une IU. Il peut être indiqué en absence de symptômes dans le cas d'une immunodépression, geste urologique programmé, grossesse, ... L'ECBU est plus sensible que les BU pour diagnostiquer les IU (CMIT, 2014).

Synthèse bibliographique

Chapitre II : Traitements conventionnels des IU : ATB

2.1. Historique :

Les ATB sont des substances naturelles, hémi-synthétiques ou synthétiques qui sont capables d'inhiber la croissance bactérienne ou de tuer les bactéries. Le tout premier d'entre eux fut la pénicilline, découverte en 1928, par Alexander Fleming, médecin, biologiste et pharmacologue britannique qui a découvert, par hasard, qu'une ou des substances produites par un champignon, *Penicillium notatum*, avaient la faculté d'inhiber la croissance bactérienne (**Anonyme 2**).

Il faut ensuite attendre 1932 pour voir apparaître sur le marché le premier ATB de l'histoire commercialisé par les laboratoires Bayer, le Prontosil[®], un sulfamide utilisé comme antibactérien contre certaines infections à streptocoque (**Anonyme 2**).

Ce n'est qu'en 1954, à la fin de la seconde guerre mondiale que la pénicilline est fabriquée industriellement en grande quantité et commercialisé (**Anonyme 2**).

Quelques années plus tard en 1942, la première résistance aux sulfamides est décrite, suivie en 1946 de la résistance à la pénicilline G mais c'est le japonais Watanabe T. qui démontre pour la première fois l'origine génétique de l'antibiorésistance en montrant que le gène responsable est porté par un plasmide bactérien (**Anonyme 3**).

Depuis Alexander Fleming et la commercialisation du Prontosil[®], de nombreuses autres molécules produites par des souches bactériennes ou fongiques ont été isolées telles que l'actinomycine en 1940 et la streptomycine en 1943 (toutes deux découvertes par Selman A. Waksman), puis ce fut la tétracycline en 1949 (**Torok et al., 2009**).

A la suite de la première mise en évidence de résistance comme vu précédemment, les ATB semi-synthétiques ont été développés à partir de 1965. Entre 1990 et 2000 peu de molécules ont été commercialisées, et il faudra attendre les années 2000 pour voir apparaître une nouvelle classe d'ATB (**Veyssiere, 2019**).

Synthèse bibliographique

2.2. Définition d'un ATB :

Un ATB se définit comme une substance, d'origine naturelle ou synthétique, utilisée contre les infections causées par les bactéries (**Battraud, 2017**).

Afin de pouvoir exercer son activité antibactérienne, un ATB doit : atteindre sa cible, et donc pénétrer la membrane externe, la paroi et la membrane cytoplasmique ; persister à des concentrations suffisantes ; et reconnaître la cible (**Sophie, 2014**).

Les bactéries développent des mécanismes afin d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, et ainsi permettre l'émergence de l'antibiorésistance (résistance aux ATB) (**Sophie, 2014**).

2.3. Mécanismes d'action des ATB :

Les ATB agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie de la bactérie. Ils agissent par :

Toxicité sélective : au niveau de la synthèse de la paroi bactérienne, la membrane cytoplasmique, des protéines et des acides nucléiques ;

Inhibition compétitive : dans ce cas, l'ATB est un analogue structural, il interfère avec une fonction essentielle à la bactérie (**Archambaud, 2009**).

Le tableau ci-après regroupe les principaux modes d'action des ATB :

Tableau 2.1 : Classification des ATB selon leurs sites d'action (**Prescott *et al.*, 2010**).

Modes d'action	ATB
Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire	Lactamines ; Glycopeptides
Modification de la perméabilité de la membrane cytoplasmique	Polymyxines
Inhibition de la synthèse protéique	Aminosides ; Macrolides ; Tétracyclines ; Chloramphénicol
Inhibition de la synthèse des acides nucléiques	Rifampicine ; Quinolones
Inhibition des voies métaboliques de l'acide folique	Sulfamides ; Triméthoprim

Synthèse bibliographique

2.4. Antibiorésistance :

2.4.1. Définition de l'antibiorésistance :

L'antibiorésistance ou résistance bactérienne est définie comme la capacité des bactéries à résister aux effets des ATB ou des biocides censés de les contrôler ou de les tuer (Sophie, 2014).

On distingue trois types d'antibiorésistance, génétique, microbiologique et clinique :

La résistance génétique peut être définie comme un changement dans le code génétique du MCO, codant ainsi un gène altéré ;

La résistance microbiologique se traduit par la croissance ou l'absence de croissance d'une souche bactérienne en présence d'un ATB ;

La résistance clinique est la plus pertinente dans le cadre de la pratique médicale courante, puisqu'elle se traduit par l'échec clinique d'une antibiothérapie. Dans la majorité des infections, un échec clinique se traduit par l'absence d'amélioration (fièvre, état général, etc.) après environ 72 heures de traitement et de prescription d'un deuxième ATB (Weiss, 2002).

L'émergence de l'antibiorésistance est la conséquence d'une guerre permanente de survie où les MCO, sans cesse, attaqués par des ATB, essaient de trouver une contre-mesure (Sophie, 2014).

2.4.2. Support de l'antibiorésistance :

Le support génétique de l'antibiorésistance est porté sur le chromosome bactérien, ou sur le plasmide. Les gènes de résistance sont utiles aux bactéries et sont facilement transférables et fréquemment portés par des éléments génétiques mobiles (Ourvalin, 2008).

Il existe deux grands types d'antibiorésistance, la résistance intrinsèque (naturelle) et la résistance acquise (figure 2.1) (Ourvalin, 2008).

Synthèse bibliographique

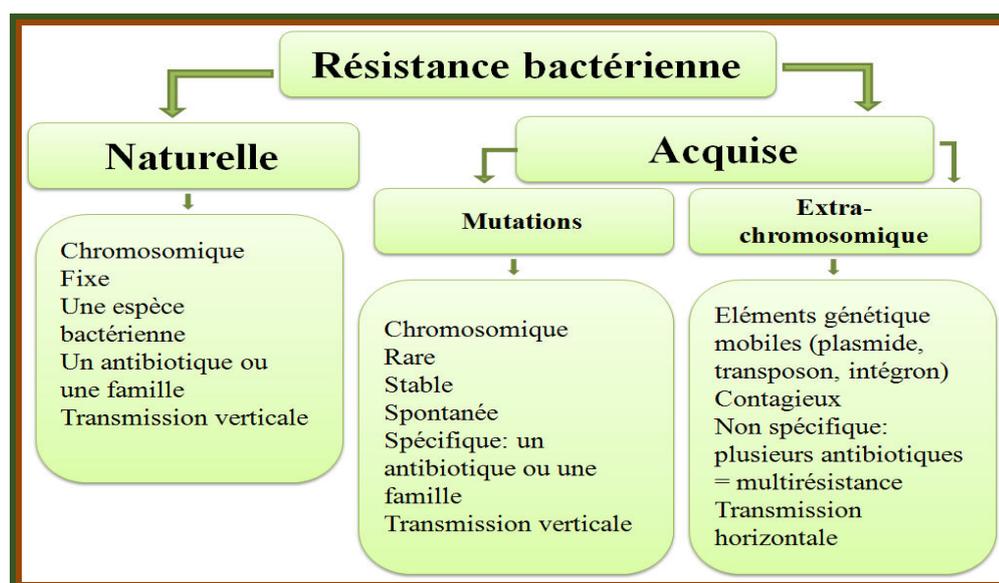


Figure 2.1 : Types de l'antibiorésistance (Ourvalin, 2008).

2.4.2.1. Résistance naturelle :

La résistance naturelle, appelée aussi résistance intrinsèque, est une caractéristique propre d'un genre ou d'une espèce bactérienne. Portée par les chromosomes, elle est stable et transmise à la descendance. Elle constitue un caractère d'identification des bactéries et détermine le phénotype « sauvage » des bactéries (Kumar *et al.*, 2006).

Par exemple, la présence d'une membrane externe chez les bacilles à Gram négatif entraîne la résistance à diverses classes de molécules par imperméabilité (glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, etc.) (Galimand *et al.*, 2005).

2.4.2.2. Résistance acquise :

Sur le plan génétique, la résistance peut être acquise par deux voies totalement distinctes (Ourvalin, 2008) :

2.4.2.2.1. Résistance par mutation chromosomique :

On parlera alors de transmission verticale à la descendance, c'est un phénomène rare, spécifique qui affecte un ATB ou une famille d'ATB qui ont le même mécanisme d'action (Ourvalin, 2008).

La résistance par mutation est peu répandue en clinique. Elle concerne en effet moins de 20 % des résistances acquises (Calgagno *et al.*, 2011).

Synthèse bibliographique

2.4.2.2. Résistance par acquisition de gènes :

La résistance peut survenir également suite à l'acquisition d'une information génétique étrangère, en provenance d'autres bactéries (transmission horizontale). Il s'agit d'une acquisition d'ADN extra-chromosomique le plus souvent un plasmide, et qui peut porter un ou plusieurs gènes de résistance (**Ourvalin, 2008**).

Ce transfert horizontal de la résistance peut se faire entre les bactéries de la même espèce ou des espèces différentes selon trois mécanismes différents à savoir la transduction (avec un bactériophage comme vecteur), la transformation (capture d'ADN nu par la bactérie) et la conjugaison (transfert d'un plasmide d'une bactérie à une autre de la même espèce ou d'espèces différentes) (**Ourvalin, 2008**).

2.4.3. Mécanismes de l'antibiorésistance :

Pour agir, un ATB devra dans un premier temps pénétrer la bactérie, il devra ensuite arriver à sa cible, via un transporteur ou par diffusion passive, puis s'y fixer pour produire son effet : bactéricide ou bactériostatique (**Battraud, 2017**).

Chacune de ces étapes, pour la bactérie, constituerait une barrière qui empêche la pénétration d'ATB, ce qui engendre différents mécanismes d'antibiorésistance (figure 2.2) (**Bevilacqua, 2011**).

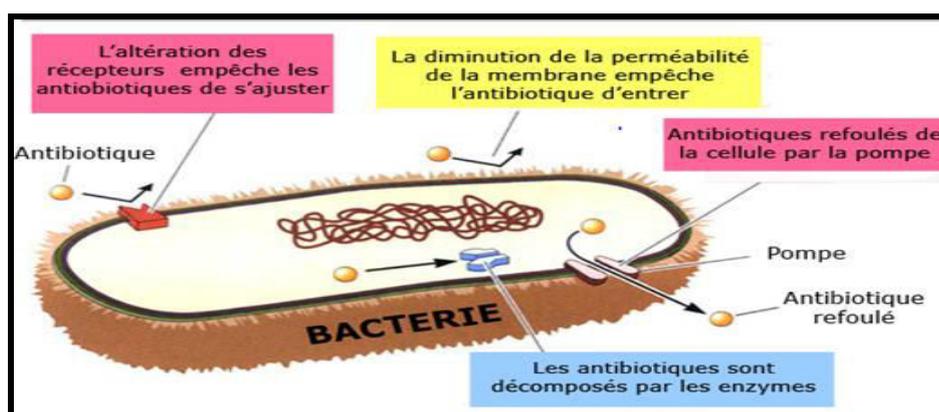


Figure 2.2 : Mécanismes de l'antibiorésistance (**Bevilacqua, 2011**).

2.4.3.1. Résistance par inactivation enzymatique :

Certaines bactéries produisent des enzymes qui inactivent l'ATB en le modifiant ou en l'hydrolysant. Ce mécanisme est le plus fréquent et concerne toutes les classes majeures

Synthèse bibliographique

d'ATB (Delaporte, 1956 ; Mammedi, 2007-2008). Le tableau ci-après résume la liste des enzymes impliquées dans cette inactivation.

Tableau 2.2 : Principales enzymes inactivant les ATB (Bevilacqua, 2011 ; Sophie, 2014 ; Battraud, 2017).

Enzymes		Action	ATB cible	Origine	Bactéries sécrétrices
β -lactamases	Pénicillinasés	Sensibles aux inhibiteurs (acide clavulanique et tazobactam)	Pénicillines ; Céphalosporines (la plupart sauf 1 ^{ère} génération) ; Monobactames ; Carbapénèmes	Chromosomique (produite en permanence)	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
				Plasmidique (inductible)	<i>S. aureus</i>
	Céphalosporines	β -lactamases produites à bas niveau (localisation périplasmique)	Aminopénicillines ; Céphalosporines 1 ^{ère} génération	Chromosomique	<i>Enterobacter</i> ; <i>Citrobacter</i> ; <i>Proteus</i> ; <i>Pseudomonas</i> ; <i>Acinetobacter</i>
	β -lactamases à spectre étendu	Correspondent à la mutation de certaines pénicillinasés sensibles aux inhibiteurs enzymatiques	Toutes les β -lactamines jusqu'aux céphalosporines 1 ^{ère} génération sauf l'imipénem	Plasmidique	<i>Klebsiella pneumoniae</i> ; <i>Enterobacter</i> (rarement) ; <i>E. coli</i> (rarement)
	Carbapénémases		Carbapénèmes	Plasmidique	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	Variants enzymatiques	Des modifications dans la structure d'une β -lactamase, intervenant à la suite d'une ou de plusieurs mutations affectant le gène codant pour l'enzyme, peuvent conduire à un élargissement du spectre d'hydrolyse			
Aminosidase	Phosphotransférase (APH) ; Nucléotidyltransférases (ANT) ; Acétyltransférases (AAC)	Aminosides	Plasmidique	Certaines entérobactéries	
Enzymes inactivant les composés phénicolés	Agissent par acétylation par un chloramphénicol acétyltransférase du groupement hydroxyle de la molécule	Chloramphénicol ; Thiamphénicol	Plasmidique	3 enzymes identifiées chez les bacilles Gram-négatifs et 5 chez les bacilles Gram-positifs	

Synthèse bibliographique

2.4.3.2. Résistance par imperméabilité :

Pour agir, les ATB doivent pénétrer dans la cellule bactérienne, en utilisant les systèmes de transport propres à la bactérie. Pour résister, la bactérie contrecarre cette entrée en diminuant la perméabilité de sa membrane par plusieurs mécanismes comme le montre le tableau ci-dessous (Marchou *et al.*, 1987).

Tableau 2.3 : Différents modes d'antibiorésistance par imperméabilité (Delaporte, 1956 ; Pages, 2004).

Mécanisme de résistance	Modes
Diminution de la perméabilité	Altération des porines ; Absence de passage ou l'augmentation du temps de passage ; Inhibition du transport actif ; Inhibition de la pénétration à travers les peptidoglycanes recouvrant la membrane plasmique chez les bacilles Gram-positifs ; Modification de la composition du lipopolysaccharide

Ce mécanisme n'est cependant pas très performant, car il suffit d'augmenter les doses d'ATB pour faire face à cette baisse de la perméabilité membranaire. Néanmoins, ce système, lorsqu'il est associé à d'autres systèmes de résistance, peut protéger de façon efficace la bactérie même à des doses importantes d'ATB (Pages, 2004).

2.4.3.3. Résistance par efflux actif :

Il s'agit d'un système d'exportation de l'ATB en dehors de la bactérie. Il s'agit d'un mécanisme actif, la bactérie synthétise des protéines d'export qui vont emporter l'ATB à l'extérieur de la bactérie. Ainsi il ne peut pas se fixer à sa cible et donc sera inefficace. Ce mécanisme est connu notamment pour les tétracyclines (Poole, 2005).

2.4.3.4. Résistance par modification de la cible :

Il existe différents mécanismes de modification de la cible de l'ATB, à noter :

La modification structurale de la cible entraînant une perte d'affinité dans le couple cible-ATB : l'ATB ne peut plus se fixer correctement à sa cible, et son action sera limitée. L'exemple le plus frappant concerne la résistance à la pénicilline G de *Streptococcus pneumoniae* (Batraud, 2017) ;

Synthèse bibliographique

La synthèse d'une cible modifiée additionnelle via l'apport d'un gène : c'est le cas de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) qui peut exprimer une protéine supplémentaire liant les pénicillines (PLP) dite la PLP2a identifiée dans les souches résistantes par la présence du gène mec A apporté sur une cassette chromosomique (figure 2.3) (Courvalin *et al.*, 2006) ;

L'hyperproduction de la cible : il s'agit d'un phénomène très fréquent qui touche les tétracyclines, les macrolides, les quinolones, les β -lactamines, les aminosides, la rifampicine et l'association sulfaméthoxazole/triméthoprime. L'ATB se retrouve dilué dans ses concentrations normales d'utilisation puisque les cibles sont augmentées quantitativement (Ruppé, 2010).

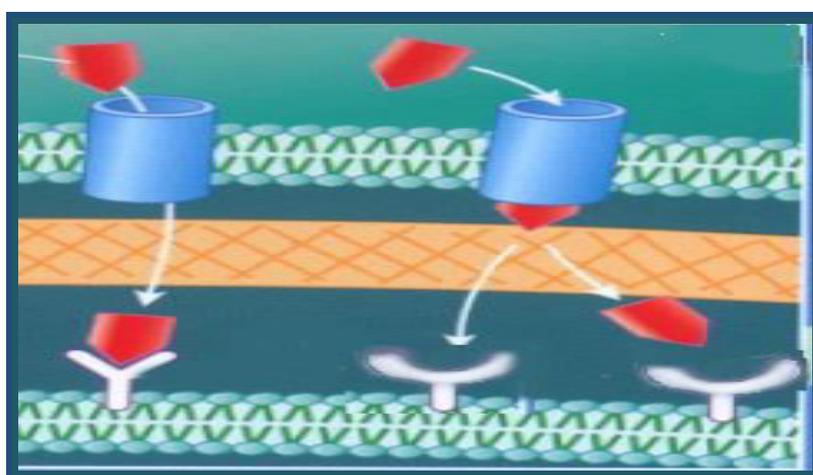


Figure 2.3 : Antibiorésistance par modification de la cible (synthèse d'une PLP modifiée) (Anonyme 4).

2.4.3.5. Résistance par formation de biofilms :

Un biofilm est une communauté structurée de MCO, se fixant à une surface inerte ou vivante au sein d'une matrice d'exo-polysaccharides adhésive et protectrice qu'ils secrètent (figure 2.4). C'est une structure vivante en perpétuel remaniement (Jain *et al.*, 2011).

Un biofilm peut être constitué d'une ou plusieurs espèces de MCO, et tolèrent les ATB à des concentrations 10 à 1000 fois plus importantes que les bactéries planctoniques (Ceri *et al.*, 1999 ; Behlou et Gilmore, 2008).

Synthèse bibliographique

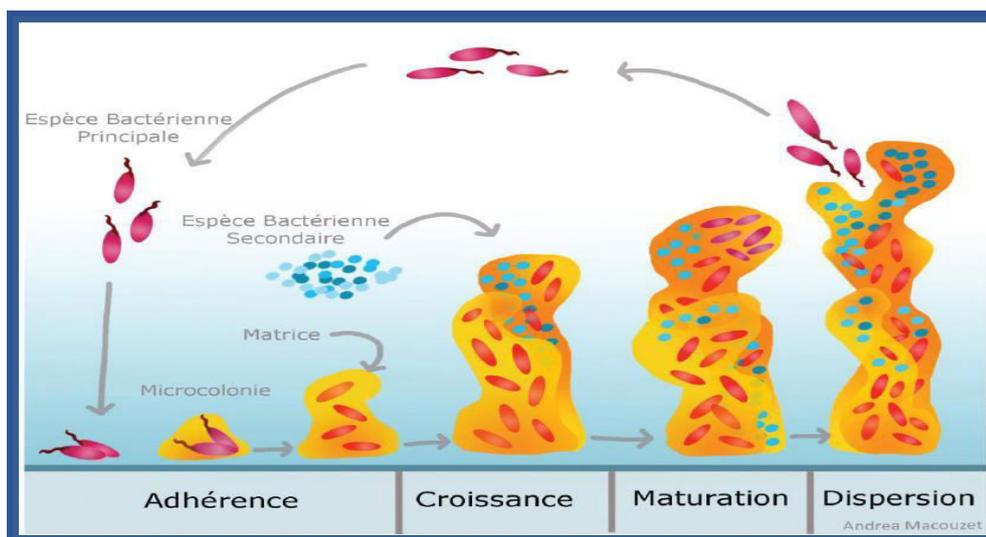


Figure 2.4 : Schéma présentant les étapes du développement du biofilm (Yannick *et al.*, 2014).

2.4.4. Bactéries multirésistantes (BMR) :

Les bactéries multirésistantes sont des bactéries qui sont résistantes à au moins trois d'ATB, réduisant ainsi les possibilités thérapeutiques. On y trouve :

Les souches de SARM ;

Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) qui peuvent être résistantes à d'autres familles d'ATB mais restent sensibles aux carbapénèmes ;

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* résistantes à toutes les β -lactamines et/ou à l'imipénèm ;

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à la ticarcilline, la ceftazidime et l'imipénèm (Mrich, 2018).

2.4.5. Lutte contre l'antibiorésistance :

Le 30 avril 2014, l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) a publié un rapport où l'antibiorésistance était qualifiée de grave menace pour la santé publique. Les résultats de ce rapport sont très préoccupants car ils témoignent de la résistance à tous les ATB, même à ceux de derniers recours, et ce dans toutes les régions du monde (OMS, 2014).

Synthèse bibliographique

Dans ce contexte, la lutte contre l'antibiorésistance apparaît essentielle. Cette résistance ne peut pas être totalement éliminée, mais il est impératif de prendre des mesures afin de limiter ce phénomène. Différentes perspectives et méthodes (tableau 2.4) sont étudiées pour minimiser l'antibiorésistance (Sophie, 2014).

Tableau 2.4 : Mécanismes traditionnels de lutte contre l'antibiorésistance (Sophie, 2014 ; Anonyme 5).

Mécanismes	Méthodes
Surveillance de la consommation d'ATB et de l'antibiorésistance	Surveillance de la consommation des ATB ; Surveillance des antibiorésistances
Rationalisation des prescriptions et bon usage des ATB	Prévention et éducation du public ; Formation et information des professionnels de santé ; Amélioration de la pertinence de la prescription des ATB
Hygiène, prévention des infections, et lutte contre les infections nosocomiales	Vaccination ; Respect des règles d'hygiène

2.4.5.1. Réduction de la consommation d'ATB :

La surconsommation d'ATB est un des principaux facteurs responsables de l'émergence et de l'extension de l'antibiorésistance. Pour cela, réduire la consommation des ATB est nécessaire (Sophie, 2014).

2.4.5.2. Recherche de nouvelles perspectives thérapeutiques :

Afin de lutter contre l'antibiorésistance, la découverte de nouveaux ATB est nécessaire ; et pourquoi ne pas ouvrir la recherche des molécules bioactives alternatives aux ATB synthétiques (Sophie, 2014).

Synthèse bibliographique

Chapitre III : Traitement alternatif : miel

3.1. Aperçu historique :

La connaissance et l'utilisation du miel remontent aux temps les plus reculés de l'histoire de l'homme et il fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité. On sait que le miel est un aliment connu depuis fort longtemps, cela apparaît sur une peinture rupestre retrouvée sur les parois d'une grotte espagnole de la région de Valence (grottes de l'Araignée), datant de 5000 à 10000 ans av. J.-C. Elle montre une silhouette humaine pratiquant la récolte du miel à l'aide d'un panier (**Merah et al., 2010 ; Ballot-Flurin, 2013**).

Le miel était une source d'immortalité dans l'Égypte antique, il présentait une grande valeur religieuse durant l'Antiquité et reste important dans certains rituels de naissance et de mort en Afrique. Hippocrate et d'autres médecins de l'époque le recommandaient dans certaines pathologies, comme fortifiant de la vue et des organes sexuels, dans le traitement de la toux, des plaies, des angines, ... et ceci au fur et à mesure des différentes époques traversées (le Moyen Âge, la Renaissance, ...) (**Domerego, 2001 ; Ceyhan et Ugur, 2001**).

Le miel est longtemps resté une des principales sources de glucides alimentaires jusqu'à ce que l'industrie du sucre prenne son essor en Europe au début des années 1800 avec la betterave. Actuellement la production mondiale du miel est évaluée à 1,2 million de tonnes, ce qui représente moins de 1% de la totalité de la production des sucres rapides. Quant à son utilisation en thérapeutique, elle a peu à peu été abandonnée après la 2^{ème} guerre mondiale en faveur des produits plus innovants et de l'émergence de l'industrie pharmaceutique (**Balas, 2015**).

3.2. Définition :

3.2.1. Miel :

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les

Synthèse bibliographique

abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée. Cette définition est extraite de la norme européenne recommandée pour le miel (Décret n° 2003-587 du 30 juin 2003), et permet d'exclure toute fabrication à partir de produits non naturels, comme l'ajout de sucre en tant qu'aliment pour les abeilles (**Codex Alimentarius, 2001**).

3.2.2. Abeille :

L'abeille est un insecte appartenant à l'ordre des hyménoptères, elle a la particularité de produire du miel et de la cire. L'ensemble des abeilles constitue une colonie, cette dernière se compose d'une reine unique, de nombreuses ouvrières (femelles), de faux bourdons (mâles) et de couvain (œufs + larves + nymphes). De nombreux rôles sont impartis aux abeilles à l'intérieur de la ruche comme gardiennes, ouvrières ou butineuses. Les abeilles mènent donc une vie type "communautaire" (**Biri, 2002**).

3.2.3. *Apis mellifera* :

Apis mellifera ou l'abeille occidentale. Cette espèce est la plus largement utilisée en apiculture. Originaires d'Europe, elles s'est imposée un peu partout sur la planète essentiellement parce qu'elle est l'espèce la plus adaptée à l'élevage. Il existe un très grand nombre de sous-espèces interfécondes entre elles qui ont évolué en grandes lignées géographiquement isolées sur les cinq continents (**Biri, 2002**).



Figure 3.1 : L'abeille *Apis mellifera* (Agatha, 2017).

Synthèse bibliographique

3.3. Elaboration et fabrication :

La butineuse prélève le nectar secrété par des glandes dites nectarifères ou le miellat qu'elle stocke dans son jabot, l'élaboration du miel commence dès lors. Dès son passage dans le tube digestif, le nectar (ou le miellat) subit ses premières transformations sous l'action d'enzymes, dont l'invertase qui hydrolyse les polysaccharides en sucres simples (transformation du saccharose en glucose et fructose) (**Bruneau, 2009**).



De retour à la ruche, l'abeille butineuse transfère sa récolte à l'abeille ouvrière, qui l'absorbe puis la régurgite à son tour pour la transmettre à une autre ouvrière, et ainsi de suite. Ce phénomène s'appelle la trophallaxie. Progressivement, cette matière se déshydrate, s'enrichit en sucs gastriques et en substances salivaires, et sa concentration en sucre augmente (**Bruneau, 2009**).

La solution sucrée ainsi transformée, contient encore environ 50 % d'eau et va donc subir une nouvelle concentration par évaporation. Le liquide est étalé en couches minces dans des cellules formées de cire appelées alvéoles. Cette déshumidification est la résultante de deux phénomènes : d'une part, de la chaleur régnant dans la ruche qui est de l'ordre de 36 à 37 °C, et d'autre part, par la ventilation qui est assurée par les abeilles ventileuses, en créant un puissant courant d'air ascendant dans la ruche par un mouvement très rapide des ailes. Au bout de quelques jours, cette solution contiendra en moyenne 18 % d'eau et 80 % de sucres. Cette solution représente le miel stocké dans les cellules. Ces dernières, une fois remplies, sont colmatées par un mince opercule de cire, permettant une excellente conservation (**Gonnet, 1982 ; Donadieu, 1984**).

C'est au terme de ces différentes étapes que le miel, nourriture principale des abeilles, est synthétisé. Ce processus permet à la colonie de disposer d'une réserve importante d'aliment hautement énergétique, stable, de longue conservation et peu sensible à la fermentation (**Gonnet, 1982 ; Donadieu, 1984**).

3.4. Classification :

Les différents types du miel sont définis par leurs caractéristiques sensorielles : la couleur, l'arôme, la saveur, la viscosité et la tendance plus ou moins marquée à cristalliser au

Synthèse bibliographique

cours du processus de conditionnement et de l'entreposage. Les miels diffèrent également entre eux du point de vue de leur composition chimique : acidité, contenu d'hydrates de carbone, rapport quantitatif entre les différents sucres, teneur en acides organiques, en minéraux et en composés azotés (**Ramirez et al., 2000**).

Selon leur origine botanique, les miels sont séparés en deux catégories distinctes :

3.4.1. Miel de nectar :

Le nectar est une substance douce et parfumée, souvent liquide, il est produit par les nectaires des fleurs. Ses différents degrés de densité sont en fonction de l'espèce végétale et du climat (**Marchenay, 1984 ; Biri, 2002**).

3.4.1.1. Miels monofloraux :

Les miels monofloraux ou unifloraux, aussi appelés « miels de cru », proviennent de façon prédominante d'une seule espèce florale. Cela nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. Il est à noter qu'un miel est considéré comme monofloral lorsque le nombre de pollens dominants provenant d'une espèce de fleur est supérieur ou égal à 45 % (**Clément, 2009 ; Fournier, 2009**).

3.4.1.2. Miels multifloraux :

Les miels multifloraux ou « miels toutes fleurs » ou « miels mille fleurs » résultent de la récolte des abeilles sur plusieurs espèces florales. Sa texture et sa composition chimique dépendent de la source florale à partir de laquelle il a été recueilli (**Clément, 2009 ; Zerrouk et al., 2014**).

3.4.2. Miel du miellat :

Le miel de miellat est une solution aqueuse concentrée de sucres et est produit par plusieurs espèces d'insectes, il est moins riche en sucre que le miel de nectar, mais plus riche en azote, acides organiques, minéraux et oligo-éléments, donnant naissance à un miel généralement moins humide donc plus dense, plus sombre et un goût plutôt prononcé (**Biri, 2002 ; Fournier, 2009 ; Siluana et al., 2019**).

Synthèse bibliographique

3.5. Récolte :

Pour conserver au mieux tout son arôme et pour éviter que certains éléments biologiques et les enzymes ne soient pas détruits, le miel doit être récolté en prenant certaines précautions indispensables. Il doit en outre être exempt de corps étrangers et d'impuretés. Pour cela, la récolte du miel s'effectue selon deux méthodes principales : traditionnelle et moderne. La première implique l'utilisation des flammes nues pour éliminer ou même détruire les abeilles mellifères, tandis que la seconde implique l'utilisation de la fumée pour supprimer l'agressivité des abeilles. La récolte du miel par l'apiculteur a lieu en général après une miellée (qui correspond à la période saisonnière intense de production du nectar par les fleurs et qui est butiné par les abeilles) et lorsque les 3/4 des alvéoles des rayons de cire sont operculés (Louveaux, 1985 ; Babarinde *et al.*, 2011).

3.6. Composition :

La composition du miel est variable et dépend de l'origine botanique des plantes butinées ou des miellats ingérés par les abeilles. Les sucres sont les principaux constituants et représentent à eux seuls environ 95 % de la matière sèche du miel. Le miel contient également de nombreux autres composants : protéines, enzymes, acides aminés, vitamines, minéraux, polyphénols, etc. (Olaitan *et al.*, 2007).

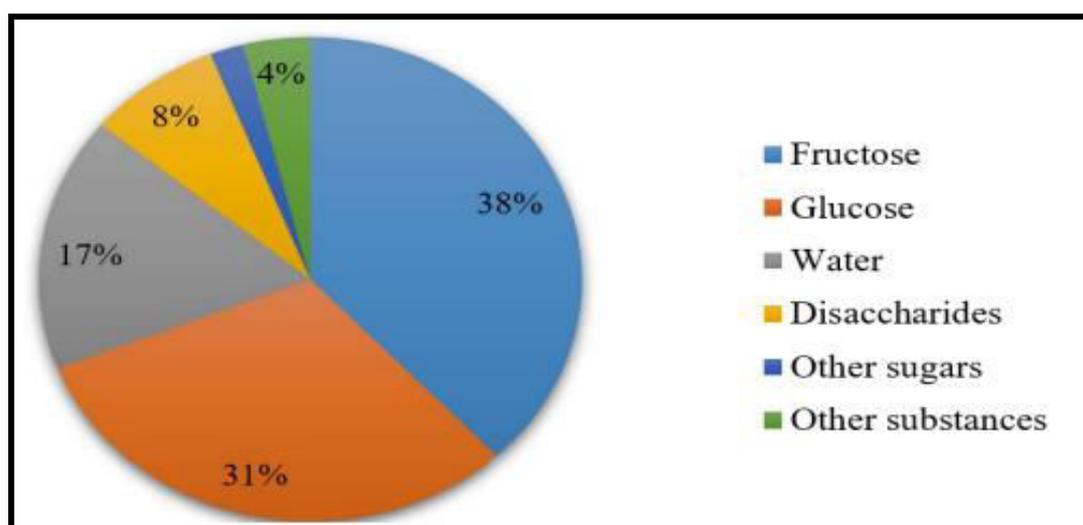


Figure 3.2 : Composition moyenne du miel (Chirsanova *et al.*, 2021).

Synthèse bibliographique

3.6.1. Sucres :

Les sucres constituent la partie la plus importante du miel. Il s'agit majoritairement de fructose (environ 40 %), puis de glucose (environ 35 %). Viennent ensuite des disaccharides comme le maltose, l'isomaltose et le saccharose, ainsi que des oligosides comme la raffinose, l'erlose, le mélézitose. La grande diversité des sucres provient de la diversité florale dont est issu le miel mais également des isomérisations provoquées par les enzymes apportées par l'abeille lors du processus de trophallaxie. Cette très forte teneur en sucre permet une très bonne conservation du miel, empêchant la prolifération bactérienne et fongique (**Lobreau-Callen *et al.*, 2000**).

3.6.2. Eau :

En plus de la forte concentration en sucre, la teneur en eau est un élément clé de la conservation du miel. Elle ne doit idéalement pas dépasser 20 %, sous peine de fermenter, sauf dans le cas particulier de certains miels monofloraux comme le miel de bruyère callune par exemple qui peut atteindre jusqu'à 22 % d'eau. Exception faite de ce miel, on trouve une teneur en eau généralement située entre 15 et 20 % selon les essences florales et les conditions climatiques au moment de la récolte puis de l'operculation des alvéoles par les abeilles (**Lobreau-Callen *et al.*, 2000**).

3.6.3. Acides organiques :

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille. C'est l'acide gluconique dérivé du glucose qui prédomine. On y trouve également une vingtaine d'acides organiques comme l'acide acétique, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, pyroglutamique et succinique. Des traces d'acide formique (un des constituants du venin), d'acide chlorhydrique et d'acide phosphorique sont aussi présentes (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

3.6.4. Protéines :

Le miel contient une proportion de protides inférieure à 1 % et la teneur en azote est négligeable (de l'ordre de 0,041 %). Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante, soit de l'abeille. On y trouve également des acides aminés libres dont la proline qui provient des sécrétions salivaires de l'abeille. La proline est un des acides aminés les plus abondants dans le miel et

Synthèse bibliographique

est donc généralement choisie comme étalon pour la quantification de la teneur en acides aminés (Lobreau-Callen *et al.*, 2000 ; Moniruzzaman *et al.*, 2014).

3.6.5. Lipides :

Les lipides sont présents en très petite quantité dans le miel. Il s'agit principalement de stérols, triglycérides et acides gras (acides palmitique, oléique et linoléique). Leur présence varie d'un miel à l'autre en fonction des fleurs butinées (Lobreau-Callen *et al.*, 2000).

3.6.6. Vitamines :

Le miel est une source de vitamines hydrosolubles : B1 (la thiamine), B2 (la riboflavine), B3 (l'acide nicotinique), B5 (l'acide pantothénique), B6 (la pyridoxine), B8 (la biotine), B9 (l'acide folique) et C (acide ascorbique). Les vitamines liposolubles A, D et K peuvent, selon les fleurs butinées, être présentes (Lobreau-Callen *et al.*, 2000).

Tableau 3.1 : Teneurs du miel en vitamines (Bogdanov et Matzke, 2003).

Vitamine	Teneur (mg/100 g)
B1	0.00 - 0.01
B2	0.01 - 0.02
B6	0.01 - 0.32
B5	0.02 - 0.11
Vit C	2.2 - 2.5
Vit K	environ 0.025

3.6.7. Enzymes :

Elles proviennent soit des nectars, soit des sécrétions salivaires de l'abeille. Parmi les enzymes les plus connues dans le miel sont :

- l'invertase est une enzyme capable d'hydrolyser les polysaccharides, elle transforme le saccharose en glucose et en fructose ;
- les alpha- et bêta-amylases sont des glycosidases, c'est-à-dire des enzymes qui hydrolysent les polysaccharides, elles transforment l'amidon en glucose ;

Synthèse bibliographique

- la glucose-oxydase catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène (**Lobreau-Callen *et al.*, 2000 ; Bonté et Desmoulière, 2013**).

3.6.8. Sels minéraux :

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,1 % dans les miels courants, mais sont plus abondantes dans les miels foncés. Les sels de potassium représentent près de la moitié des matières minérales, mais on trouve également du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du soufre, du silicium, du fer ainsi que plus de trente oligo-éléments. Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

3.7. Propriétés :

3.7.1. Propriétés organoleptiques :

3.7.1.1. Couleur :

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. Les miels sont divisés en sept catégories de couleur, elle va du jaune très pâle au brun très foncé en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts (**Donadieu, 2008 ; Alvarez, 2010**).

3.7.1.2. Odeur et goût :

L'odeur du miel est variable. L'arôme et le goût du miel dépendent des plantes butinées. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée, le miel clair a une saveur plus délicate (**Bradbear, 2005**).

3.7.1.3. Consistance :

Le miel peut être fluide ou solide et peut varier au cours du temps. Cela est en fonction de la variété du miel et donc de sa composition (sa teneur en glucose, en fructose et en eau) et de la température (**Delcourt, 2010**).

Synthèse bibliographique

3.7.1.4. Cristallisation :

Le miel est un produit naturel vivant saturé en sucres et est donc instable. La cristallisation est un phénomène naturel qui repose sur la tendance des sucres (en particulier le glucose) à se transformer en petits cristaux solides sous l'influence d'agents déclencheurs (grains de pollen, poussières ou cristaux de glucose). La vitesse de cristallisation dépend de la composition en sucres (elle augmente avec le rapport glucose/fructose), de la teneur en eau, de la température et de la viscosité. Plus elle est rapide, plus les cristaux seront fins et meilleure sera la structure du miel. Pour obtenir un produit de qualité, les apiculteurs ont mis au point la technique « d'ensemencement » : ils utilisent un miel à très fine cristallisation qui servira alors d'amorce. Un chauffage doux permet par ailleurs de faire refondre les cristaux (Apimondia, 2001 ; Clément, 2011).



Figure 3.3 : Phénomène de cristallisation du miel (Bogdanov, 1999).

3.7.2. Propriétés physico-chimiques :

3.7.2.1. Densité :

La densité du miel varie entre 1,40 et 1,45 (Jean-Prost et Le Conte, 2005).

3.7.2.2. Viscosité :

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé ; par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs

Synthèse bibliographique

(température, agitation, composition chimique), entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (**Donadieu, 2008**).

3.7.2.3. pH et acidité :

Tous les miels sont acides avec un pH généralement compris entre 3,5 et 5,5, en raison de la présence d'acides organiques qui contribuent à la saveur du miel et à sa stabilité contre les microbes de détérioration (**Bogdanov et al., 2004**).

3.7.3. Propriétés nutritionnelles :

Le miel apporte 310 calories pour 100 g, et 1 kg de miel équivaut à 3 litres de lait, 30 bananes, 50 œufs ou 12 kg de viande. C'est un produit naturel sans additifs et conservateurs et ses qualités aromatiques et gustatives pouvaient se conserver longtemps (**Chirsanova et al., 2021**).

3.8. Miel en thérapeutique :

En santé, le miel est l'objet de nombreuses attentions depuis des siècles. Dès l'Antiquité, l'homme lui prête des propriétés curatives et préventives. Les propriétés thérapeutiques du miel d'abeille sont différentes et dépendent du type de miel utilisé dans différentes maladies. Le miel est utilisé à des fins thérapeutiques par application topique, par voie orale ou sous forme d'aérosols. Si certains de ses usages et certaines de ses propriétés ont été démontrés, d'autres, au contraire, font l'objet de démentis par différentes études. Voici un tour d'horizon des utilisations actuelles du miel (**Chirsanova et al., 2021**).

3.8.1. Activité cicatrisante :

Au cours de la cicatrisation, le miel stimule la formation du tissu de granulation et facilite l'épithélialisation. Il a été démontré que le miel stimule les monocytes pour produire des cytokines inflammatoires (TNF- α , IL-1 β et IL-6), ayant un rôle important et favorable dans la phase inflammatoire du processus de cicatrisation. Une autre étude a montré que le miel est capable d'activer la prolifération des kératinocytes (notamment lors du processus d'épithélialisation), en régulant de façon positive l'expression de certaines cytokines (TNF- α , IL-1 β et TGF- β) et MMP-9 (matrix metalloproteinase-9). Cependant, des études complémentaires seraient nécessaires pour révéler les mécanismes exacts par lesquels le miel

Synthèse bibliographique

agit sur la modulation de l'inflammation, et pour préciser les mécanismes moléculaires qui participent à l'activation des kératinocytes (Tonks *et al.*, 2003 ; Majtan *et al.*, 2010).

3.8.2. Activité antimicrobienne :

Les principaux facteurs de l'activité antimicrobienne du miel sont la réaction enzymatique d'oxydation du glucose et certains de ses aspects physiques, mais les autres facteurs qui peuvent montrer l'activité antimicrobienne du miel comprennent une pression osmotique élevée/une faible WA, un faible pH/un environnement acide, une faible teneur en protéines, un rapport carbone/azote élevé, un faible potentiel de réaction d'oxydoréduction dû au niveau élevé de sucres réducteurs, une viscosité qui limite l'oxygène dissous et d'autres agents chimiques/phytochimiques. En raison des propriétés du miel telles que la faible WA, l'acidité, le glucose oxydase et le peroxyde d'hydrogène, le miel ne favorise pas la croissance des levures et des bactéries. La peroxydase n'est pas la seule origine du niveau antibactérien du miel, mais de nombreux produits à faible niveau antibactérien ont été découverts dans le miel, notamment les terpènes, la pinocembrine, l'alcool benzylique, l'acide 4-hydroxy-3,5-diméthoxybenzoïque (acide syringique), le méthyl-3,5-diméthoxy-4-hydroxybenzoïque (syringate de méthyle), l'acide 2-hydroxy-3-phénylpropionique, l'acide 2-hydroxybenzoïque, l'acide 3,4,5- triméthoxybenzoïque et le 1,4-dihydroxybenzène (Samarghandian *et al.*, 2017).

De nombreuses enquêtes ont indiqué que l'activité antibactérienne du miel est la concentration minimale inhibitrice (CMI) ; par conséquent, le miel possède la concentration minimale nécessaire pour une inhibition complète de la croissance. Parmi les nombreux types de miel, le miel de manuka a le plus haut niveau d'activité non peroxydique. Des enquêtes ont indiqué qu'*Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus* peuvent être empêchés de manière significative par le miel de manuka. Il a été illustré que l'activité antibactérienne du miel est efficace sur de nombreux pathogènes bactériens et champignons (Samarghandian *et al.*, 2017).

3.8.3. Activité antioxydante :

Le stress oxydant, défini comme le déséquilibre entre la production de radicaux libres et le système de défense antioxydant, joue un rôle significatif dans l'apparition de nombreuses maladies. En effet, l'agression de l'ADN cellulaire par les radicaux libres peut générer des

Synthèse bibliographique

cancers, des perturbations métaboliques, mais aussi accélérer le vieillissement tissulaire et cérébral (Couquet *et al.*, 2013).

Il a été prouvé que le miel contenait une importante activité antioxydante, incluant le glucose oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les acides organiques, les acides aminés, les protéines et les carotènes (Couquet *et al.*, 2013).

De nombreuses recherches ont confirmé que la composition du miel et ses capacités antioxydantes dépendent de nombreux facteurs, comme la source florale du nectar butiné, la saison, et les facteurs environnementaux comme le type de sol, le climat, certains facteurs génétiques et la méthode employée (Couquet *et al.*, 2013).

3.8.4. Activité immunostimulante :

Outre son action antibactérienne directe, le miel permet de combattre l'infection en stimulant le système immunitaire. Il a été rapporté que le miel stimule la multiplication des lymphocytes T et des lymphocytes B en culture, il active aussi les polynucléaires neutrophiles. Il a également été rapporté que la stimulation des monocytes en culture libère les cytokines TNF- α , IL-1et IL-6 impliquées comme messagers cellulaires activant la réponse immunitaire face à l'infection. En plus de la stimulation de ces leucocytes, le miel fournit un apport en sucre aux macrophages leur permettant la production du peroxyde d'hydrogène, principale composante de leur activité antibactérienne. Le miel est un substrat pour la glycolyse qui est la principale réaction productrice d'énergie dans le macrophage et permet ainsi son fonctionnement dans les tissus lésés et les exsudats. L'acidité du miel favorise l'action antibactérienne des macrophages comme les vacuoles de phagocytose impliquées dans la destruction des bactéries ingérées car elles ont un pH acide. Ces propriétés de stimulation de la croissance cellulaire sont confirmées histologiquement dans de nombreuses études de blessures animales. Il est également observé histologiquement une stimulation du développement d'un lit capillaire de néovaisseaux qui est habituellement le facteur limitant de la formation du tissu de granulation (Al-Waili *et al.*, 2011).

3.8.5. Activité antitumorale et anti-inflammatoire :

Les antioxydants confèrent au miel une activité antioxydante et potentiellement une action antimittotique (Khalil et Sulaiman, 2010 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2013).

Synthèse bibliographique

Plusieurs études ont prouvé que l'application du miel sur site tumoral inhibait de manière largement significative la croissance tumorale chez la souris et certaines lignées cellulaires cancéreuses *in vitro*. Aucun essai clinique chez l'homme n'a encore été conduit afin de confirmer ce potentiel d'action (**Bogdanov et al., 2008**).

La réduction de l'inflammation a également été démontrée chez le rat après ingestion de miel dans le cadre de maladies inflammatoires chroniques de l'intestin. Le mécanisme supposé serait une action sur la production de radicaux libres agissant sur l'inflammation des tissus. On observe cliniquement que lors de l'application du miel sur les plaies, il se produit une diminution visible de l'inflammation avec réduction de l'œdème et des exsudats. La douleur, une autre composante de l'inflammation, peut aussi être atténuée par le miel (**Molan, 2001 ; Viuda-Martos et al., 2008**).

Une étude histologique sur des biopsies de blessures d'animaux sans infection impliquée montre qu'il y a moins de leucocytes associés à l'inflammation du tissu lors de l'application du miel : ce n'est donc pas une résultante secondaire de l'action antibactérienne (qui élimine l'inflammation générée par les bactéries), mais bien un effet anti-inflammatoire direct du miel (**Molan, 2001 ; Bittmann et al., 2010**).

L'action anti-inflammatoire du miel joue un rôle thérapeutique important. L'inflammation peut devenir délétère et empêcher la guérison lorsqu'elle est excessive et prolongée, surtout avec la production de radicaux libres dans les tissus. Même si les antioxydants n'agissent pas directement sur l'inflammation, ils éliminent les radicaux libres et évitent leurs effets néfastes. (**Bergman et al., 1983 ; Burdon, 1995**).

En plus d'éliminer les radicaux libres formés, le miel possède une activité antioxydante, par le biais du peroxyde d'hydrogène qui génère la séquestration des ions métalliques, tels le fer et le cuivre, et constitue un important système antioxydant (**Benhanifia et al., 2011**).

Partie expérimentale

Chapitre IV : Partie pratique

4.1. Objectif du travail :

L'objectif de notre travail est d'isoler des souches d'*Escherichia coli* responsables d'IU chez l'homme, et de comparer l'efficacité des ATB et 2 types de miel contre ces souches isolées.

4.2. Lieu et période du travail :

Notre expérimentation a été effectuée au niveau du laboratoire d'analyses médicales "ZIBOUCHE" situé dans la Wilaya d'Aïn Defla, pendant la période s'écoulant du 27/02/2022 au 10/03/2022.

4.3. Matériel et produits :

4.3.1. Matériel :

- Tubes à essai stériles ;
- Pipettes Pasteur ;
- Portoir ;
- Boîtes de Petri ;
- Bec Bunsen ;
- Etuve ;
- Bain-marie ;
- Seringues ;
- Microscope optique ;
- Lames porte-objets et lamelles ;
- Ecouvillons ;
- Anse de platine ;
- Vortex.

Partie expérimentale

4.3.2. Milieux de culture :

- Gélose Hektoen ;
- Gélose nutritive (GN) ;
- Gélose Mueller-Hinton (MH) ;
- Milieu de Ferguson (milieu urée-tryptophane ou milieu urée-indole)
- Bouillon Clark Lubs ;
- Galerie API.

4.3.3. Réactifs :

- Eau physiologique ;
- Fuchsine ;
- Violet de gentiane ;
- Solution de Lugol ;
- Alcool ;
- Huile à immersion ;
- Disques d'oxydase ;
- Réactif d'oxydase ;
- Eau oxygénée (H₂O₂) ;
- Réactif de Kovacs ;
- Chlorure de fer III ;
- Réactifs VP1 et VP2
- Rouge de méthyle ;
- Réactif TDA ;
- Disques d'ATB.

4.3.4. Matériel biologique :

- Souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 ;
- Urine ;
- Miel de jujubier de Palestine "السدر" (miel A) ;
- Miel de montagne multifloral : mûrier blanc "التوت الأبيض", eucalyptus "الكاليتوس", figuier "التين", pistachier lentisque "الضرو", ... (miel B).

Partie expérimentale

4.4. Méthodes :

4.4.1. Prélèvement :

Avant le prélèvement, une hygiène personnelle avec du savon ou un antiseptique est requise. L'urine doit être recueillie lors de la première miction du matin, et il est nécessaire d'éliminer le premier jet d'urine puis recueillir le deuxième jet dans un pot stérile. L'acheminement de l'échantillon au laboratoire doit être rapide (moins de 2 heures).

Au laboratoire, les échantillons reçus sont soigneusement identifiés en leur attribuant une étiquette. Chaque étiquette doit contenir le nom, le prénom et l'âge du patient, un numéro d'identification et la date du prélèvement.

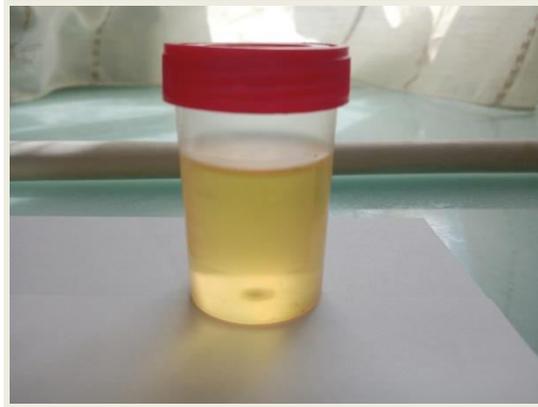


Figure 4.1 : Echantillon d'urine (Photo personnelle).

4.4.2. Isolement d'*Escherichia coli* et observation macroscopique :

Principe :

Cette étape permet d'isoler *E. coli* présent dans l'échantillon d'urine à examiner, pour ce faire, nous utilisons un milieu de culture sélectif solide, la gélose Hektoen, qui permet d'inhiber la croissance des bactéries à Gram positif.

L'observation macroscopique permet de constater la morphologie des colonies obtenues ; ainsi, de déterminer leur forme, taille, couleur et aspect (**Johnson *et al.*, 1980**).

Partie expérimentale

Protocole :

Pour l'enfant : Dans un tube stérile, on met 5 ml d'eau physiologie stérile, on y ajoute 2 gouttes d'urine et on mélange bien. Ensuite, on étale, à l'aide d'une pipette Pasteur, une goutte de ce mélange dans une boîte de Petri contenant le milieu Hektoen. La boîte de Petri est ensuite incubée dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures.

Pour l'adulte : On ensemence directement 2 gouttes d'urine, à l'aide d'une anse de platine, dans une boîte de Petri contenant le milieu Hektoen en réalisant 4 stries parallèles et de même longueur. La boîte de Petri est ensuite incubée dans une étuve à 37 °C pendant 24 heures.

4.4.3. Purification des colonies suspectes :

Une colonie suspecte bien isolée sur le milieu Hektoen est sélectionnée et repiquée sur une gélose GN.

4.4.4. Identification bactérienne :

L'identification bactérienne est basée sur la détermination des caractères morphologiques et biochimiques (Cassel *et al.*, 1997).

4.4.4.1. Observation microscopique après coloration :

Principe :

L'observation microscopique est basée sur la morphologie des cellules bactériennes et leur mode d'association, observés par microscope optique. La coloration mise en œuvre est la coloration de Gram qui est la coloration de base la plus utilisée en bactériologie. C'est une coloration "double", qui permet de différencier les bactéries d'après leur forme et leur affinité pour les colorants. Le processus permet de séparer la plupart des bactéries en 2 groupes par rapport à la proportion du peptidoglycane contenu dans les membranes :

Les bactéries à Gram positif qui sont riches en peptidoglycane et pauvres en lipides ;

Les bactéries à Gram négatif qui sont pauvres en peptidoglycane et plus riches en lipides.

Protocole :

Une goutte d'eau physiologique et une colonie sont étalées sur une lame ;

Ce frottis est fixé en le faisant passer dans la flamme 3 fois ;

Partie expérimentale

Recouvrir la lame de violet de gentiane pendant 1 minute, puis jeter ;

Recouvrir de Lugol pendant 1 minute, puis jeter ;

Décolorer à l'alcool, la lame est tenue inclinée, puis stopper la décoloration par un nouveau lavage à l'eau ;

Recouvrir la lame de fuchsine diluée pendant 30 secondes à 1 minute, puis laver à l'eau ;

Sécher entre deux feuilles de papier filtre, puis à la chaleur ;

Examiner à l'immersion (**François *et al.*, 2016**).

4.4.4.2. Identification biochimique :

4.4.4.2.1. Test d'oxydase :

Principe :

Le test d'oxydase est basé sur une éventuelle production bactérienne de l'enzyme oxydase intracellulaire en présence d'oxygène atmosphérique et de cytochrome C (**Vézina et Lacroix, 2000**).

Protocole :

Sur une lame, on place un disque d'oxydase ou une goutte de réactif d'oxydase, puis une colonie ou deux sont déposées dessus avec une pipette Pasteur. La bactérie est oxydase-positif et elle possède le cytochrome oxydase, s'il y a apparition d'une tache violette sur le disque ou un virage de réactif au noir. En l'absence de coloration, la bactérie est dite oxydase-négative et elle ne possède pas l'enzyme respiratoire cytochrome oxydase (**Delarras, 2007**).



Figure 4.2: Réalisation du test d'oxydase avec le disque et le réactif (**Photos personnelles**).

Partie expérimentale

4.4.4.2.2. Test de catalase :

Principe :

La catalase est une enzyme produite en abondance par les bactéries ayant un métabolisme respiratoire qui détruit le peroxyde d'hydrogène et libère de l'oxygène (**Vézina et Lacroix, 2000**).

Protocole :

La technique consiste à prélever une partie de la colonie et à l'émulsionner dans une goutte d'eau oxygénée. Le dégagement des bulles de gaz signifie qu'il y a production de catalase (**Prescott *et al.*, 2003**).



Figure 4.3 : Réalisation du test de catalase (**Photo personnelle**).

4.4.4.2.3. Test urée-indole :

Principe :

A partir du milieu de Ferguson (dénommé aussi milieu urée-tryptophane ou urée-indole) contenant du tryptophane, du rouge de phénol et de l'urée, il est possible de mettre en évidence une activité uréase, une activité tryptophanase et une activité tryptophane désaminase (TDA).

Protocole :

Une suspension bactérienne dense dans un milieu Ferguson après incubation à 37 °C pendant 18 heures permet de mettre en évidence une coloration rouge du milieu (virage du rouge de phénol au rose) si la bactérie est uréase-positif, un anneau superficiel rouge (après

Partie expérimentale

avoir ajouté le réactif de Kovacs ou le réactif de James) si la bactérie est indole-positive, et une coloration brune ou marron foncé (après avoir ajouté le perchlorure de fer à 30 % ou le chlorure de fer III) si la bactérie est TDA-positive (François *et al.*, 2016).

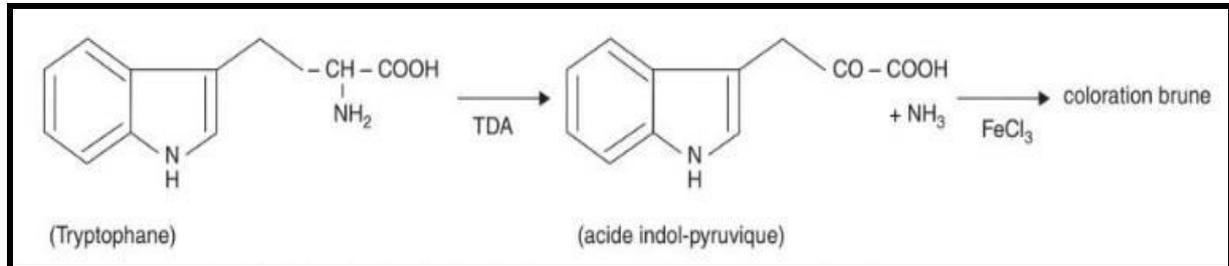


Figure 4.4 : Mise en évidence de la dégradation du tryptophane par une tryptophane désaminase (François *et al.*, 2016).

4.4.4.2.4. Test Clark et Lubs :

Principe :

Le bouillon Clark Lubs permet de différencier les *Enterobacteriaceae* en mettant en évidence leurs voies fermentaires : la voie du butan-2,3-diol ou réaction de Voges-Proskauer (VP) et la voie des acides mixtes ou réaction au rouge de méthyle (RM).

Protocole :

Ensemencer un tube contenant 5 ml du milieu Clark et Lubs à partir d'une culture pure fraîche (18 à 24 heures). Laisser incuber pendant au moins 3 jours et au maximum 5 jours à 30 ou 37 °C avec un bouchon dévissé.

Réaction au RM : après incubation, transvaser 2 ml du milieu dans un autre tube et ajouter 1 à 2 gouttes d'une solution à 0,5 % de RM dans l'alcool à 60°, agiter et lire immédiatement. Le RM différencie le processus de fermentation, il est jaune au-dessus d'un pH de 6,3 (réaction négative) et rouge en-dessous de 4,2 (réaction positive).

Réaction de VP : après incubation, transvaser 1 ml du milieu dans un autre tube et ajouter 0,5 ml d'une solution d' α -naphthol à 6 % dans l'alcool à 90° (réactif VP1) et 0,5 ml d'une solution aqueuse de soude NaOH à 16 % (réactif VP2), agiter fortement et attendre 10 à 15 minutes. La fermentation du glucose par la voie du butan-2,3-diol se traduit par une faible acidification du milieu ainsi que par la formation d'acétoïne (3-hydroxy-butanone) au cours de la

Partie expérimentale

fermentation de 2-3-butylène glycolique. En présence de α -naphthol en milieu basique, l'acétoïne forme un composé rose ou rouge en surface, indiquant la production d'acéthylméthylcarbinol (réaction positive).

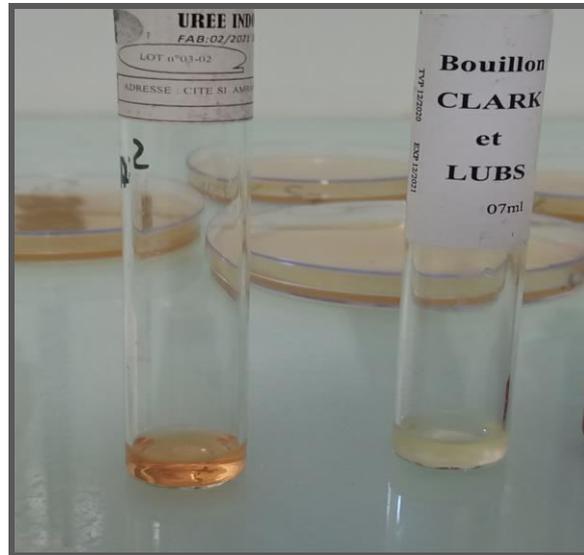


Figure 4.5 : Réalisation du test urée-indole et du test Clark et Lubs (**Photo personnelle**).

4.4.4.2.5. Galerie API 20E :

Principe :

L'utilisation d'une galerie API (Analytical Profile Index ou Appareils et Procédés d'Identification) permet l'identification de MCO par la réalisation rapide et facile de tests biochimiques miniaturisés. La galerie API 20E est constituée de 20 microtubes, contenant des milieux de culture déshydratés, permettant d'identifier des bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*.

Protocole :

L'ensemencement de la galerie se fait en introduisant la suspension bactérienne dans chaque microtube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles.

Pour les tests encadrés, on remplit le tube et la capsule de suspension bactérienne. Pour les tests soulignés, on remplit le tube de suspension bactérienne et la capsule d'huile de paraffine. Alors que pour les tests qui ne sont ni encadrés ni soulignés, on remplit uniquement le tube de suspension bactérienne.

Partie expérimentale

Après incubation de 24 heures à 37 °C, on ajoute les réactifs de Kovacs pour le test d'indole, TDA pour le test TDA, VP1 et VP2 pour le test VP.



Figure 4.6 : Réactifs utilisés pour la lecture de la galerie API 20E (**Photo personnelle**).



Figure 4.7 : Réalisation de la galerie API 20E (**Photo personnelle**).

4.4.5. Antibiogramme par diffusion des disques :

Principe :

Après isolement et identification d'*Escherichia coli*, un antibiogramme est réalisé sur un milieu adéquat, la gélose MH ; l'antibiogramme a pour objectif de déterminer la sensibilité de la bactérie aux différents ATB (AARN, 2014).

Protocole :

Préparation de l'inoculum :

Prendre une culture pure de 18 à 24 heures sur milieu d'isolement approprié ;

Partie expérimentale

Racler quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, à l'aide d'une anse de platine ou d'un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes ;

Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 % ;

Bien homogénéiser la suspension bactérienne qui doit avoir une turbidité équivalente à 0,5 MF (McFarland) ou une densité optique (DO) de 0,08 à 0,1 lue à une longueur d'onde de 625 nm sur un spectrophotomètre (standard MF) ;

A noter que l'utilisation d'un densitomètre est fortement souhaitable (**AARN, 2014**).

Ensemencement :

Le milieu MH doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm ;

Les géloses doivent être séchées avant l'emploi ;

Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum ;

L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum ;

Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche, de haut en bas, en stries serrées ;

Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;

Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose ;

Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**AARN, 2014**).

Disques d'ATB :

Nous avons testé 11 ATB différents (tableau 4.1), les disques sont déposés sur la surface de la gélose sans dépasser 6 disques par boîte. Après avoir déposé les disques, les boîtes de Pétri sont incubées en à 37 °C pendant environ 24 heures.

Partie expérimentale

Tableau 4.1 : ATB testés vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* isolées.

ATB	Abréviation	Charge (µg)
Amoxicilline	AMX	30
Amoxicilline + acide clavulanique	AMC	25
Céfixime	CFM	5
Céfotaxime	CTX	30
Gentamicine	GNE	10
Amikacine	AK	30
Fosfomicyne	FF	50
Ciprofloxacine	CIP	5
Acide nalidixique	NA	30
Furane	NIT	300
Triméthoprim + Sulfaméthoxazole	COT	25

4.4.6. Test de sensibilité au miel :

4.4.6.1. Miels testés :

Nous avons testé 2 miels d'origine botanique différente : un miel unifloral de jujubier de Palestine "السدر" (miel A) originaire de la région de Mechria, Wilaya de Naama ; et un miel de montagne multifloral : mûrier blanc "التوت الأبيض", eucalyptus "الكاليتوس", figuier "التين", pistachier lentisque "الضرو", ... (miel B) de la région de Bougara, Wilaya de Blida. Les miels ont été récoltés en 2021 et étaient stockés dans des flacons sombres à l'abri de la lumière.

4.4.6.2. Détermination de la CMI :

La sensibilité d'*E. coli* au miel est testée en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) de ce dernier, pour ce faire, on met en œuvre la méthode d'incorporation. Un inoculum bactérien standard est préparé à partir d'une souche d'*Escherichia coli* de référence ATCC 25922 selon les normes MF. Plusieurs dilutions de 10 à 20 % pour chaque miel sont réalisées dans une gélose MH. Ces géloses sont ensuiteensemencées par la suspension bactérienne standard par écouvillonnage (même méthode que pour l'antibiogramme). La CMI est la concentration du miel la plus faible à laquelle la croissance bactérienne est totalement inhibée.

Partie expérimentale



Figure 4.8 : Miels (A et B) testés vis-à-vis d'*E. coli* (Photo personnelle).

4.4.6.3. Test de sensibilité des souches d'*E. coli* isolées aux miels :

La sensibilité des souches d'*E. coli* isolées est testée vis-à-vis des 2 miels, chaque miel à la CMI qui lui est associée.

4.5. Résultats :

4.5.1. Prélèvement :

Etant donné que l'accès au laboratoire d'analyses médicales était limité en durée (2 semaines), 10 souches d'*E. coli* ont pu être isolées.

4.5.2. Isolement d'*Escherichia coli* et observation macroscopique :

Sur le milieu Hektoen, *Escherichia coli* donne des colonies de grande taille, jaune orangé à saumon, tout en étant légèrement bombées et à bords réguliers ou irréguliers.

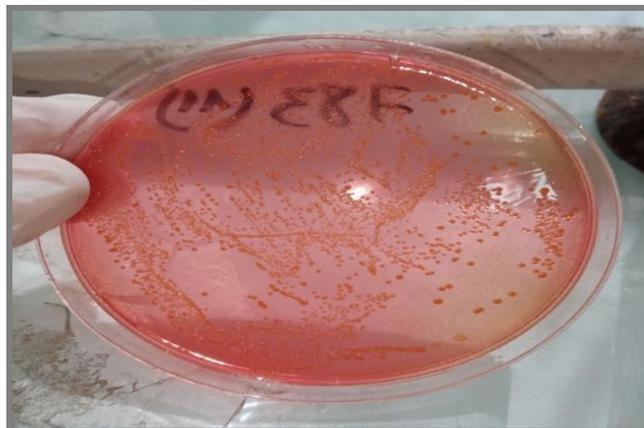


Figure 4.9 : *E. coli* sur le milieu Hektoen après 24 heures d'incubation (Photo personnelle).

Partie expérimentale

4.5.3. Purification des colonies suspectes :

Sur la gélose GN, *Escherichia coli* donne des colonies rondes, bombées et lisses, de grande taille (2 à 3 mm de diamètre), et de couleur blanc grisâtre.



Figure 4.10 : *E. coli* sur le milieu GN après 24 heures d'incubation (**Photo personnelle**).

4.5.4. Identification bactérienne :

4.5.4.1. Observation microscopique après coloration de Gram :

En microscopie photonique, les *E. coli* sont des coccobacilles, isolés, regroupés en amas ou en petites chaînettes. Ils sont de couleur rose, il s'agit donc de bactéries à Gram (-).

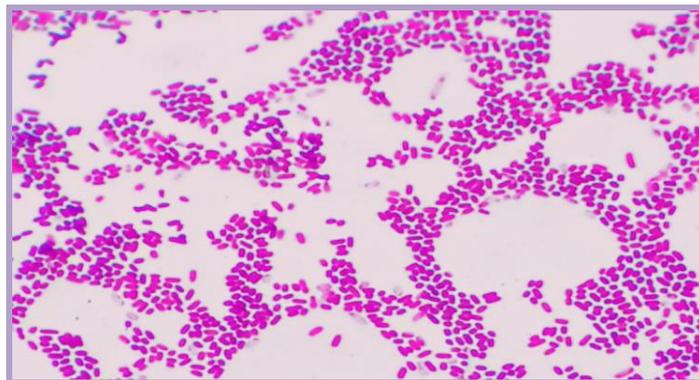


Figure 4.11 : Observatoire microscopique d'*E. coli* après coloration de Gram (**Photo personnelle**).

Partie expérimentale

4.5.4.2. Identification biochimique :

4.5.4.2.1. Test d'oxydase :

Aucune tache violette n'a été observée sur le disque d'oxydase, et même la coloration du réactif d'oxydase est restée inchangée, *E. coli* est donc une bactérie à oxydase (-).

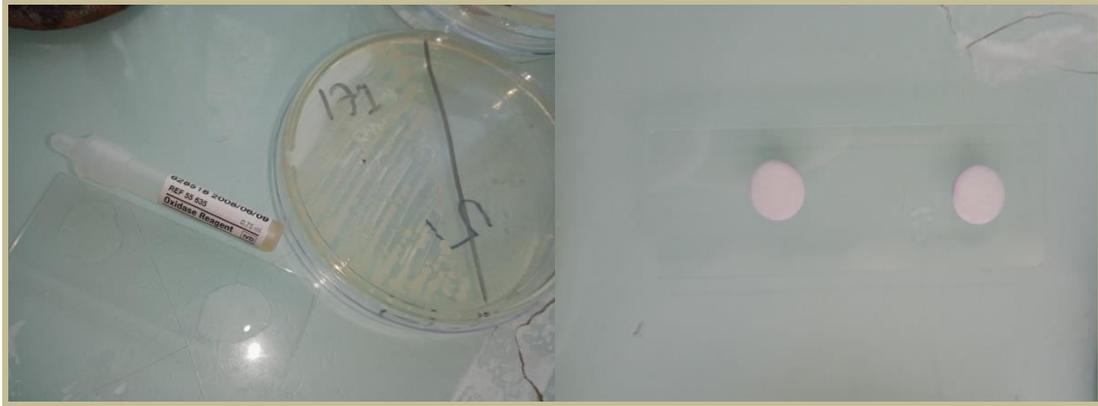


Figure 4.12 : Résultats du test d'oxydase pour *E. coli* avec le disque et le réactif (**Photo personnelle**).

4.5.4.2.2. Test de catalase :

Une formation de bulles de gaz a été observée, *E. coli* est une bactérie à catalase (+).



Figure 4.13 : Résultat du test de catalase pour *E. coli* (**Photo personnelle**).

4.5.4.2.3. Test urée-indole :

La couleur du milieu urée-indole n'a pas viré après l'incubation (uréase négative), une formation d'un anneau rouge à la surface du milieu a été constatée après l'ajout du réactif du

Partie expérimentale

Kovacs (indole positif), avec l'absence d'une coloration brune ou marron foncé après l'ajout du chlorure de fer III (TDA négative).

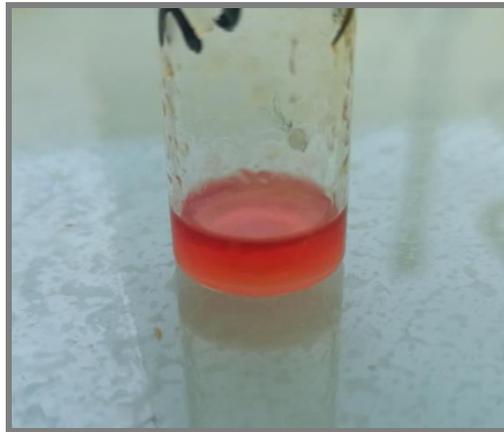


Figure 4.14 : Résultats du test urée-indole pour *E. coli* après avoir ajouté le réactif de Kovacs (Photo personnelle).

4.5.4.2.4. Test de Clark et Lubs :

Après avoir ajouté le RM, le milieu prend la coloration de celui-ci. Le RM demeure rouge renseignant sur la présence d'un milieu acide, ce qui correspond à une réaction RM (+), *E. coli* fermente alors le glucose par la voie des acides mixtes.

Après avoir ajouté les réactifs VP1 et VP2, il y a l'apparition d'une coloration rouge en surface du milieu, *E. coli* est donc VP (+).



Figure 4.15 : Résultat de la réaction RM pour *E. coli* après avoir ajouté le RM (Photo personnelle).

Partie expérimentale

4.5.4.2.5. Galerie API 20E :

Après avoir incubé la galerie API et après avoir ajouté les réactifs qui lui sont propres, nous avons obtenu un profil précis propre à la bactérie testée.



Figure 4.16 : Profil de galerie API 20E pour *E. coli* (souche 1) (Photo personnelle).

La lecture de la galerie API se fait par deux méthodes : méthode manuelle en remplissant un gabarit de lecture dédié, servant d'une fiche technique, selon les résultats trouvés et qui sera lue en la confrontant à un tableau fourni par le fabricant ; ou bien lecture par un logiciel dédié en y communiquant les résultats trouvés.



Figure 4.17 : Profil d'*E. coli* (souche 1) sur le gabarit de lecture (fiche technique) dédié à la galerie API 20E (Photo personnelle).

Partie expérimentale

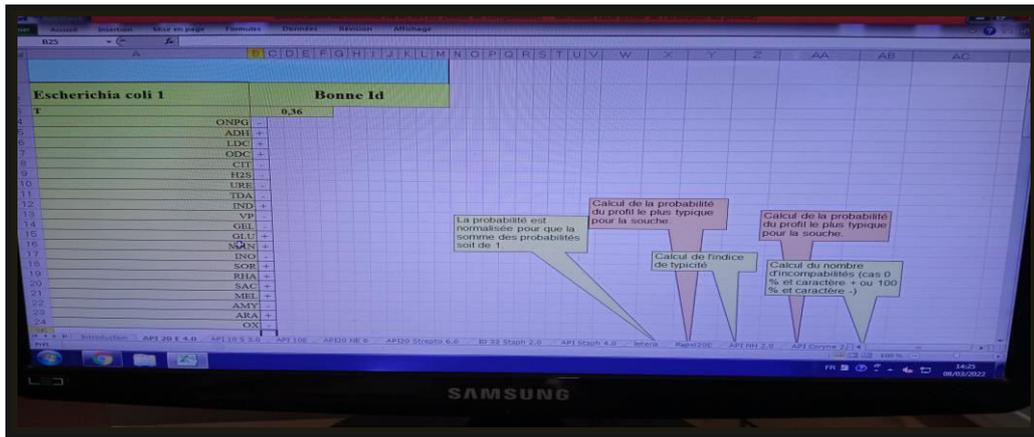


Figure 4.18 : Profil d'*E. coli* (souche 1) sur le logiciel de lecture dédié à la galerie API 20E (Photo personnelle).

4.5.5. Antibiogramme :

Les sensibilités et les résistances des souches d'*E. coli* isolées vis-à-vis des ATB sont illustrées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 4.2 : Résultats des antibiogrammes pour les 10 souches d'*E. coli* isolées.

	Souche 1	Souche 2	Souche 3	Souche 4	Souche 5	Souche 6	Souche 7	Souche 8	Souche 9	Souche 10
AMX	R	R	S	S	R	R	R	S	R	S
AMC	R	R	S	S	R	R	S	S	R	S
CFM	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CTX	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
GNE	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
AK	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
FF	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S
CIP	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
NA	S	R	S	S	R	S	S	S	S	S
NIT	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S
COT	R	R	S	S	S	R	S	S	S	S

Partie expérimentale

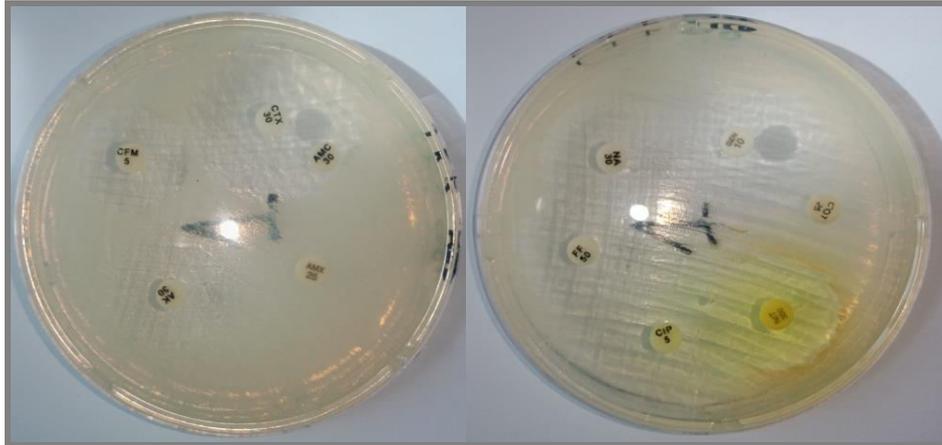


Figure 4.19 : Profil d'antibiogramme d'*E. coli* (souche 1) (Photo personnelle)

4.5.6. Test de sensibilité au miel :

4.5.6.1. Détermination de la CMI :

Pour le miel A, la souche d'*E. coli* de référence était totalement inhibée à partir de la concentration de 15 % ; tandis qu'aucune croissance bactérienne n'a été constatée à la concentration de 11 % pour le miel B.

4.5.6.2. Test de sensibilité des souches d'*E. coli* isolées aux miels :

La croissance bactérienne de toutes les souches d'*E. coli* isolées étaient bien inhibée à la concentration de 15 % du miel A et de 11 % du miel B.

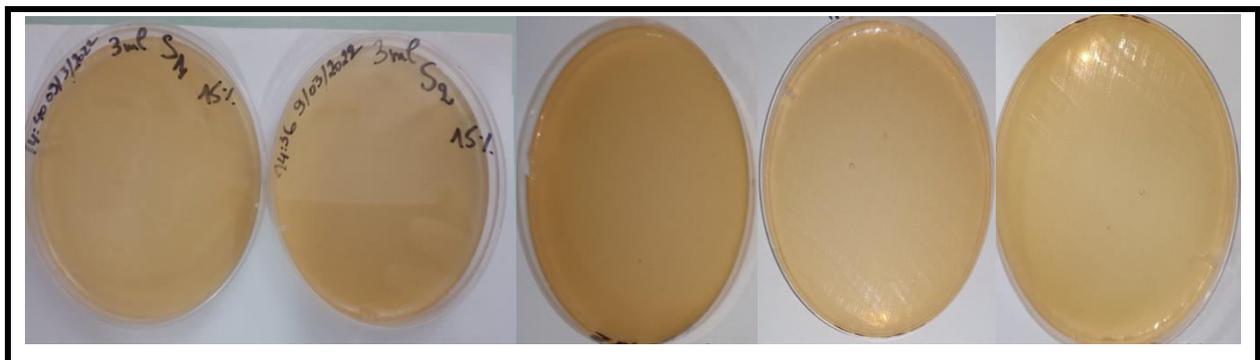


Figure 4.20 : Résultats du test de sensibilité au miel A à 15 % des souches d'*E. coli* isolées (Photo personnelle).

Partie expérimentale



Figure 4.21 : Résultats du test de sensibilité au miel B à 11 % des souches d'*E. coli* isolées
(Photo personnelle).

4.6. Discussion :

Escherichia coli est le germe le plus responsable des IU (**Emonet et al., 2011**), et qui touche généralement les femmes plus que les hommes (**CMIT, 2020**) ; dont 100 % de nos échantillons d'urine montrent la présence de cette bactérie.

D'après l'étude menée par **Benyagoub et al., 2013** à Bechar, la présence d'*E. coli* dans les IU a été enregistrée dans 82.8 % des échantillons. Une autre étude a été menée par **Malki et Berriche, 2019** au laboratoire de microbiologie au centre hospitalier universitaire Nadir Mohammed à Tizi Ouzou, elle a montré qu'*E. coli* a été toujours en tête des causes des IU avec un taux de 48,76 %.

Cette prévalence d'*E. coli* trouvée dans notre étude (100 %) est différente de celles trouvées par **Benyagoub et al., 2013** et **Malki et Berriche, 2019**, ce qui serait dû à l'effectif limité des échantillons d'urine sur lesquels nous avons travaillé (10 échantillons), tandis que les études précédentes ont travaillé sur 490 et 588 échantillons, respectivement.

L'étude de la sensibilité des souches d'*E. coli* aux ATB a montré des niveaux très élevés de résistance pour l'amoxicilline (60 %) et l'association amoxicilline/acide clavulanique (50 %). Le résultat pour la résistance à l'amoxicilline est en accord avec celui de **Benyagoub et al., 2013** (59.5 %). Par contre le résultat pour la résistance à l'association amoxicilline/acide clavulanique est plus ou moins en accord avec celui de **Bentroki et al., 2012** à Guelma (45 %), mais pas avec celui de **Benyagoub et al., 2013** (69.23 %).

Partie expérimentale

La résistance accrue à l'amoxicilline et amoxicilline/acide clavulanique pourrait être expliquée par le fait qu'ils sont les ATB les plus utilisés pour le traitement des maladies infectieuses (**Ait-Mimoune et al., 2022**).

Les souches d'*E. coli* ont aussi montré une résistance plus ou moins élevée contre l'association sulfaméthoxazole/triméthoprim, l'acide nalidixique et la fosfomycine. Elle était de 30 %, 20 % et 10 %, respectivement. Ces taux d'antibiorésistance enregistrés sont différents de ceux rapportés par d'autres études réalisées en Algérie : **Yahiaoui et al., 2015** ont rapporté une résistance de 36,7 % pour l'association sulfaméthoxazole/triméthoprim, de 34,7 % pour l'acide nalidixique, mais aucune résistance pour la fosfomycine ; tandis que **Ait-Mimoune et al., 2022** à Tizi-Ouzou ont trouvé une résistance de 53 % au sulfaméthoxazole/triméthoprim et de 32,5 % à l'acide nalidixique.

Par contre les souches d'*E. coli* étaient totalement sensibles (100 %) vis-à-vis du céfixime, du céfotaxime, de la gentamicine, de l'amikacine, de la ciprofloxacine et du furane. Ces résultats se rapprochent plus ou moins de ceux obtenus par **Bentroki et al., 2012** et **Yahiaoui et al., 2015**, qui ont trouvé une sensibilité de 95 % et 93 % pour le céfotaxime, 90 % et 92 % pour la gentamicine, 96 % et 98 % pour l'amikacine, respectivement ; en revanche ils s'éloignent de ceux trouvés pour la ciprofloxacine (82 % et 75,3 %, respectivement) et pour le furane (82 %, rapporté par **Bentroki et al., 2012**).

La similitude de nos résultats avec ceux des autres auteurs s'expliquerait par le fait que ces études ont été réalisées dans le même terrain (Algérie) et le même contexte d'utilisation des ATB pour traiter les IU chez l'homme, il s'agirait donc des mêmes souches bactériennes circulantes. Néanmoins la différence des résultats pourrait aussi s'expliquer par la différence de l'effectif des souches d'*E. coli* testées : notre étude (10 souches) ; **Bentroki et al., 2012** (680 souches) ; **Benyagoub et al., 2013** (405 souches) ; **Yahiaoui et al., 2015** (150 souches) et **Ait-Mimoune et al., 2022** (120 souches).

Partie expérimentale

Tableau 4.3 : Profils de résistance et de sensibilité en pourcentages des souches d'*E. coli* isolées vis-à-vis des différents ATB testés.

ATB	Résistance aux ATB (%)	Sensibilité aux ATB (%)
AMX	60	40
AMC	50	50
CFM	0	100
CTX	0	100
GNE	0	100
AK	0	100
FF	10	90
CIP	0	100
NA	20	80
NIT	0	100
COT	30	70

L'étude de la sensibilité des souches d'*E. coli* aux miels s'est effectuée par la recherche de la CMI des miels testés en se servant d'une souche d'*Escherichia coli* de référence.

Nous avons trouvé une CMI de 15 % pour le miel A (miel unifloral de jujubier de Palestine "السدرة") et une CMI de 11 % pour le miel B (miel multifloral de montagne), dont toutes les souches d'*E. coli* en étaient bien sensibles.

Les bienfaits médicaux du miel ont été reconnus par la communauté médicale depuis l'Antiquité comme remède à des nombreuses maladies, en particulier sa propriété antibactérienne, et cela a été prouvé par de nombreux scientifiques (**Manisha et Shyamapada, 2011 ; Bouacha et al., 2018 ; Bucekova et al., 2018**).

Cette activité antimicrobienne du miel pourrait être due à son contenu important en peroxyde d'hydrogène et puissants antioxydants, également à un pH naturellement bas qui ne convient pas à la croissance des bactéries, et à la présence d'acides phénoliques, de lysozymes et de flavonoïdes (**Taormina et al., 2001**).

L'activité antibactérienne des miels testés dans notre étude est plus significative que celles d'autres miels testés en Algérie, dont les CMI signalées étaient largement supérieures à la nôtre. En effet, les CMI rapportées par **Yabrir et al., 2021** sur 4 échantillons de miels

Partie expérimentale

originaires d'un milieu steppique au sud de la Wilaya de Djelfa étaient de 12.5 % à 25 %. Tandis que l'étude menée par **Ahmed et al., 2012** sur 4 échantillons de miels d'origine botanique différente a rapporté des CMI beaucoup plus élevées et qui variaient entre 56 % et 96 %.

D'autre part, l'activité antibactérienne de nos miels reste moins efficace que celles d'autres miels algériens. **Ahmed et al., 2011** ont testé 5 miels d'origine botanique différente (miel d'agrumes, miel d'eucalyptus, miel de jujube, miel d'orange et un miel multifloral), les CMI trouvées variaient entre 3 et 15 %. Les CMI enregistrées par **Yabrir et al., 2021**, en testant 6 échantillons de miels originaires d'un milieu semi-aride nord de la Wilaya de Djelfa, étaient de 7,5 % à 20 %.

Comparativement aux résultats de **Ahmed et al., 2011** ; **Ahmed et al., 2012** et **Yabrir et al., 2021**, il s'avère clairement que le miel algérien présente un effet antibactérien sur les souches d'*Escherichia coli* quelle que soit leur origine botanique.

Conclusion

Conclusion

Les IU présentent un motif très fréquent de consultation et de prescription médicale dans le monde, les ATB ont été les seuls traitements utilisés pendant de nombreuses années contre les infections d'origine bactérienne ; mais au fil de temps, et suite aux utilisations irrationnelles et abusives des ATB dans le domaine médical, les ATB ont développé plusieurs effets indésirables pour la santé humaine l'antibiorésistances. Pour cette raison de nouvelles études se sont intéressées à la recherche des produit médicinaux naturels alternatifs efficaces contre les agents infectieux sans effets secondaires, particulièrement le miel.

Dans notre étude, les souches d'*Escherichia coli* isolées des IU chez l'être humain ont présenté des antibiorésistances importantes contre au moins 2 ou 3 ATB, alors qu'elles étaient totalement inhibées à une CMI de 11 % et 15 % d'un miel multifloral et un miel monofloral, respectivement.

Les ATB constituent un bon traitement contre les maladies infectieuses mais présentent beaucoup d'effets indésirables croissants avec le temps, à savoir l'émergence des antibiorésistances. Contrairement au miel, il présente généralement peu voire aucun effet secondaire, les bactéries ne peuvent conséquemment pas en développer une résistance ; il pourrait donc constituer une alternative naturelle très intéressante efficace vis-à-vis d'*Escherichia coli*, qui est à la fois sûre et peu coûteuse.

A l'issue de notre étude, nous nous permettons d'émettre quelques recommandations suscitant de réaliser des expérimentations *in vitro* sur un plus grand nombre d'échantillons pour pouvoir extrapoler l'effet antimicrobien du miel sur toutes les souches bactériennes de l'espèce en question, et des études sur d'autres espèces bactériennes d'intérêt médical. Il est également pertinent de mener ultérieurement d'autres travaux expérimentaux sur des êtres vivants (homme et animaux) afin de prouver l'efficacité du miel *in vivo*. Enfin, l'une des études les plus importantes que nous recommandons est la recherche des composants du miel responsables de ses propriétés antibactériennes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

AARN (Réseau Algérien de surveillance de la résistance des bactéries aux antibiotiques), Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale (médecine humaine et vétérinaire), 2014, 7^{ème} édition, Algérie.

Agatha P., Bee honey production in Romania, 2007-2015 and 2016-2020 forecast, 2017, Scientific Papers Series Management, Economic Engineering in Agriculture and Rural Development, 17(1), p342-345.

Ahmed M., Aissat S., Djebli N., Boulkaboul A., Abdelmalek M. et Khiati B., The influence of starch of ginger on the antibacterial activity of honey of different types from Algeria against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, 2011, International Journal of Microbiological Research, 2(3), p258-268.

Ahmed M., Djebli N., Meslem A. et Aissat S., Antibacterial activity of various honey types of Alegria against pathogenic Gram-negative bacilli: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*, 2012, Asian Pacific Journal of Tropical Disease, 2(3), p211-214.

Ait-Mimoune N., Hassaine H. et Boulanoir M., Bacteriological profile of urinary tract infections and antibiotic susceptibility of *Escherichia coli* in Algeria, 2022, Iranian Journal of Microbiology, 14(2), p156-160.

Alvarez L. M., Honey proteins and their interaction with polyphenols, 2010, Thesis for Degree of Master of Science, Faculty of Mathematic and Sciences, Brock University, Canada.

Alvarez-Suarez J. M., Giamperi F. et Battino M., Honey as a source of dietary antioxydants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases, 2013, Current. Med. Chem., 20(5).

Al-Waili N., Salom K. et Al-Ghamdi A. A., Honey for wound healing, ulcers, and burns; data supporting its use in clinical practice, 2011, The Scientific World Journal, 11, p778.

Références bibliographiques

Apimondia, La médecine par les abeilles : traité d'apithérapie, 2001, Standing Commission of Apitherapy-Apimondia, Brussels.

Archambaud M., Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques *in vitro*, 2009, Laboratoire Bactériologie-Hygiène, CHU Rangueil, Toulouse.

Avril J. L., Dabernat H., Denis F. et Monteil H., Bactériologie clinique, 2000, 3^{ème} édition, Editions Ellipses, France, p602.

Babarinde G. O., Babarinde S. A., Adegbola D. O. et Agayeoba S. I., Effects of harvesting methods on physicochemical and microbial qualities of honey, 2011, Journal of Food Science and Technology, 48(5), p628-634.

Badawy O. F. H., Shafii S. S. A., Tharwat E. et Kamal A. M., Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* O157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection, 2005, Office International des Épizooties, 23(3), p1011-1022.

Baerheim A., Digranes A. et Hunskaar S., Are resistance patterns in uropathogens published by microbiological laboratories valid for general practice?, 1999, APMIS, 107(7), p676-680.

Balas F., Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : Revue de la littérature, 2015, Thèse pour le Diplôme d'Etat de Docteur en Médecine, Université de Nice-Sophia Antipolis, France.

Ballot-Flurin C., L'apithérapie, 2013, 2^{ème} édition, Editions Eyrolles, France.

Baltrušaitytė V., Venskutonis P. R. et Čeksterytė V., Radical scavenging activity of different floral origin honey and bee bread phenolic extracts, 2007, Food Chemistry, 101(2), p502-514.

Battraud P., La résistance aux antibiotiques ; un mythe ou une réalité, 2017, Thèse de Doctorat, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille, France.

Behlou I. et Gilmore M. S., Microbiol biofilms in ophthalmology and infectious diseases, 2008, Arch. Ophthalmol, 126(11), p1572-1581.

Références bibliographiques

Benhanifia M. B., Boukraâ L., Hammoudi S. M., Sulaiman S. A. et Manivannan L., Recent patents on topical application of honey in wound and burn management, 2011, *Recent Pat. Inflamm. Allergy Drug Discov.*, 5(1), p81-86.

Bentroki A. A., Gouri A., Yakhlef A., Touaref A., Gueroudj A. et Bensouilah T., Résistance aux antibiotiques de souches isolées d'infections urinaires communautaires entre 2007 et 2011 à Guelma (Algérie), 2012, *Ann. Biol. Clin.*, 70(6), p666-668.

Benyagoub E., Benyagoub E., Berbaoui H., Rahmani C. et Benyoussef L., Identification and study of the emergence of antibiotic resistance of microorganisms responsible for urinary tract infections in Bechar (Algeria), 2013, *ScienceLib Editions Mersenne*, 5(131201).

Bergman A., Yanai J., Weiss J., Bell D. et David M. P., Acceleration of wound healing by topical application of honey, 1983, *American Journal of Surgery*, 145(3), p374-376.

Bertholom C., Épidémiologie des infections urinaires communautaires et nosocomiales, 2016, *Option Bio*, 27(541-542), p23-24.

Bevilacqua S., Évaluation de l'impact d'une équipe opérationnelle en infectiologie sur la consommation et le coût des antibiotiques au CHU de Nancy (essai d'intervention contrôlé), 2011, Thèse de Doctorat, Université de Lorraine, France.

Biri M., *Le grand livre des abeilles*, 2002, Editions de Vecchi SA, Paris, p13,75,82.

Bittmann S., Luchter E., Thiel M., Kameda G., Hanano R. et Längler A., Does honey have a role in paediatric wound management?, 2010, *Br. J. Nurs.*, 19(15).

Bitton A., *La cystite chez la femme*, 2007,

www.andrologue.com/articles/infectiologie/cystite.pdf, Consulté le 5 mai 2022.

Bogdanov S. et Blumer P., Propriétés antibiotiques naturelles du miel, 2001, *Revue Suisse d'Apiculture*, 98(3), p107-114.

Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R. et Gallmann P., Honey for nutrition and health: A review, 2008, *J. Am. Coll. Nutr.*, 27(6).

Références bibliographiques

Bogdanov S., Ruoff K. et Oddo L., Physico-chemical methods for the characterization of unifloral honeys: A review, 2004, *Apidologie*, Editions Springer, 35 (Suppl. 1), p6.

Bogdanov S., Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel, 1999, Centre Suisse de Recherches Apicoles, Station de Recherches laitières, Liebefeld, CH-3003, Berne.

Bogdanov V. S. et Matzke A., La propolis : un antibiotique naturel, 2003, Editions VDB, Winikon, p72.

Bonté F. et Desmoulière A., Le miel : origine et composition, 2013, *Actualités Pharmaceutiques*, 52(531), p18-21.

Borghini E., Cardinale D., Sandri M. T., Martinoni A. et Civelli M., Breast cancer, 2002, *Annals of Oncology*, 13(5), p710-715.

Bouacha M., Ayed H. et Grara N., Honey bee as alternative medicine to treat eleven multidrug-resistant bacteria causing urinary tract infection during pregnancy, 2018, *Sci. Pharm.*, 86(14), p2-11.

Bouvenot C., Guide du bon usage du médicament, 2012, 2^{ème} édition, Editions Médecine Sciences Publications, France, p12-73.

Bradbear N., Apiculture et moyens d'existence durables, 2005, Organisation des Nations Unies pour L'alimentation et L'agriculture, ISSN 1813-6001, Rome, p64.

Bruneau E., Les produits de la ruche, 2009, Editions Rustica, Paris.

Bruyère F., Cariou G., Boiteux J. P., Hoznek A., Mignard J. P., Escaravage L., Bernard L., Sotto A., Soussy C. J., Coloby P. et le CIAFU, Généralités sur l'urologie, 2008, *Progrès en Urologie*, 18 Suppl. 1, S4-S8, Editions Elsevier Masson, France, p4-8.

Bucekova M., Buriova M., Pekarik L., Majtan V. et Majtan J., Phytochemicals-mediated production of hydrogen peroxide is crucial for high antibacterial activity of honeydew honey, 2018, *Scientific Reports*, 8(9061).

Burdon R. H, Superoxide and hydrogen peroxide in relation to mammalian cell proliferation, 1995, *Free Radical Biology and Medicine*, 18(4).

Références bibliographiques

Calgagno F., Sophie E. et Véronique H., Pharma-mémo infectiologie, 2011, Editions Vernazobres-Greggo, France, p246.

Cassel-Béraud A. M., Peghini M., Mouden J. C. et Rajaonarison P., Prevalence of *Helicobacter pylori* infection in Tananarive, Madagascar, 1997, Bull. Soc. Pathol. Exot., 90(1), p6-9.

Ceri H., Olson M. E., Stremick C., Read R. R., Morck D. et Buret A., The Calgary biofilm device: New technology for rapid determination of antibiotic susceptibilities of bacterial biofilms, 1999, J. Clin. Microbiol., 37(6), p1771-1776.

Ceyhan N. et Ugur A., Investigation of *in vitro* antimicrobial activity of honey, 2001, Rivista di Biologia, 94(2), p363-371.

Chartier E., Urologie, 2002, 4^{ème} édition, Editions ESTEM, France, p290.

Chibane A., Les infections urinaires, 2010, Service d'urologie CHU Mustapha, 6^{ème} Forum National de l'Omnipraticien, Alger, p1-15.

Chirsanova A., Capcanari T., Boisteanl A. et Khanchel I., Bee honey: History, characteristics, properties, benefits and adulteration in the beekeeping sector, 2021, Journal of Social Sciences, 4(3), p106-107.

Chouba M., Djaballah C. et Louadfel A., Les infections urinaires, 2006, Rapport de stage, Université de Constantine 1, Algérie.

Clément H., L'abeille : sentinelle de l'environnement, 2009, Editions Alternatives, France.

Clément H., Le traité Rustica de l'apiculture, 2011, Editions Rustica, Paris.

CMIT (Collège des universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales), E.PILLY - Maladies infectieuses et tropicales, 2014, 24^{ème} édition, Editions Alinéa Plus, France, p24.

CMIT (Collège des universitaires des Maladies Infectieuses et Tropicales), ECN.PILLY - Maladies infectieuses et tropicales, 2020, 6^{ème} édition, Editions Alinéa Plus, France, p153.

Codex Alimentarius, Revised codex standard for honey, 2001.

Références bibliographiques

Couquet Y., Desmouliere A. et Laurerigal M., Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel, 2013, Actualités Pharmaceutiques, 52(531), p22-25.

Courvalin P., Leclercq R. et Bingen E., Antibiogramme, 2006, 2^{ème} édition, Editions Eska, France.

Debre B., Saigh D. et Peyromaure M., Abrégé d'urologie, 2004, 3^{ème} édition, Editions Elsevier Masson, Paris, p80-82.

Delaporte B., Etat actuel de nos connaissances sur la structure des bactéries, 1956, Bulletin de la Société Botanique de France, 103(7-8), p521-548.

Delcourt L. A, Le miel malin, 2010, Leduc.s Editions, Paris, p176.

Dellarras C., Practical microbiology for analysis laboratory, sanitary control techniques and documentation, 2007, Editions Lavoisier Tec et Doc, France, p462.

Desgrandchamps F., De Gouvello A., Meria P. et Simon P., Urologie, 2008, Editions Vernazobres-Greggo, France, p256.

Domerego R., Ces abeilles qui nous guérissent, 2001, Editions Jean-Claude Lattès, Paris.

Donadiou Y., La propolis, 2008, 5^{ème} édition, Editions Dangles SA, Paris, p31.

Donadiou Y., Toutes les thérapeutiques de ma pharmacie naturelle : les produits de la ruche, 1984, Editions Lavoisier Tec et Doc, France.

Elkharrat D., Arrouy A., Benhamou F., Dray A., Grenet J. et Le Corre A., Epidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France, *In*: Lobel B. et Soussy C. J., Les infections urinaires, 2007, Editions Springer, p1-20.

Ellatifi O., Place des fluoroquinolones dans le traitement des infections urinaires dans les établissements de santé lorrains, 2011, Thèse de Fin d'Etude, Université Henri-Poincaré, Nancy 1, France.

Emonet S., Harbarth S. et Van Delden C., Infection urinaire de l'adulte, 2011, Rev. Med. Suisse, 7(292), p912-916.

Références bibliographiques

Etienne M., Lefebvre E., Frebourg N., Hamel H., Pestel-Caron M., Caron F. et Bacyst Study Group, Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: Lessons from a primary care series, 2014, BMC Infect. Dis., 14(137).

Flam T., Amsellem D. et Husson E., Urologie, 1998, 2^{ème} édition, Editions Maloine, France p407.

Fournier R., ABC de l'apithérapie : se soigner grâce aux abeilles, 2009, Editions Grancher, Paris, p139.

Foxman B. et Brown P., Epidemiology of urinary tract infections: Transmission and risk factors, incidence, and costs, 2003, Infectious Disease Clinics of North America, 17(2).

Foxman B., Barlow R., D'Arcy H., Gillespie B. et Sobel J. D., Urinary tract infection: Self-reported incidence and associated costs, 2000, Ann. Epidemiol., 10(8), p509-515.

Foxman B., Epidemiology of urinary tract infections: Incidence, morbidity and economic costs, 2002, American Journal of Medicine, Suppl. 1A, 5S-13S, p113-135.

François D., Marie-Cécile P., Christian M. et Vincent C., Bactériologie médicale - Techniques usuelles, 2016, 3^{ème} édition, Editions Elsevier Masson, France, p33.

Galimand M., Sabtcheva S., Courvalin P. et Lambert T., Worldwide disseminated *armA* aminoglycoside resistance methylase gene is borne by composite transposon Tn1548, 2005, Antimicrob. Agents Chemother., 49(7), p2949-2953.

Gonnet M., Le miel : composition, propriétés, conservation, 1982, 2^{ème} édition, Editions OPIDA, France.

Guiraud J. P. et Rosec J. P., Pratique des normes en microbiologie alimentaire, 2004, 4^{ème} édition, Editions AFNOR, p304.

Guy Albert K., Etude bactériologique des infections urinaires, 2008, Rapport de stage, Centre Pasteur, Cameroun.

Hordé P. et des professionnels de la santé et de la médecine, 2014, santemedecine.commentcamarche.net, Consulté le 4 mai 2022.

Références bibliographiques

Jain A., Marsili E. et Bhosle N. B., The biofilm returns: Microbial life at the interface, *In*: Ahmad I., Ahmad F., Pichtel J. (eds.), *Microbes and microbial technology*, 2011, Editions Springer, New York, p59-85.

Jean-Prost P. et Le Conte Y., *Apiculture (connaître l'abeille-conduire le rucher)*, 2005, 7^{ème} édition, Editions Lavoisier Tec et Doc, France.

Johnson J. L., Phelps C. F., Cummins C. S., London J. et Gasser F., Taxonomy of the *Lactobacillus acidophilus* group, 1980, *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 30(1), p53-68.

Kamina P., *Précis d'anatomie clinique*, 2005, 4^{ème} édition, Editions Maloine, France, p394.

Khalil M. I. et Sulaiman S. A., The potential role of honey and its polyphenols in preventing heart diseases: A review, 2010, *Afr. J. Tradit. Complement. Altern. Med.*, 7(4), p315-321.

Kohler C., *L'appareil urinaire*, 2011, Université Médicale Virtuelle Francophone, <http://campus.cerimes.fr/histologie-et-embryologie/medicales/enseignement/histologie6/site/html/cours>, Consulté le 4 mai 2022.

Kumar M. S., Lakshmi V. et Rajagopalan R., Occurrence of extended spectrum beta-lactamases among *Enterobacteriaceae spp.* isolated at a tertiary care institute, 2006, *Indian J. Med. Microbiol.*, 24(3), p208-211.

Lacombe M., *Précis d'anatomie et de physiologie humaine*, 2005, 28^{ème} édition, Editions Lamarre, France.

Lobreau-Callen D., Clément M. C. et Marmion V., *Les miels*, 2000, Editions Techniques de l'ingénieur, Paris.

Louveaux J., *Les abeilles et leur élevage*, 1985, 2^{ème} édition, Editions OPIDA, p237.

Lumbroso R. J., Rossant L. et Cardenas J., *Infection urinaire*, 2016, Doctissimo, http://www.doctissimo.fr/html/sante/encyclopedie/sa_520_infection_urinaire.htm, Consulté le 04 mai 2022.

Références bibliographiques

Majtan J., Kumar P., Majtan T., Walls A. F. et Klauding J., Effect of honey and its major royal jelly protein 1 on cytokine and MMP-9 mRNA transcripts in human keratinocytes, 2010, *Experimental Dermatology*, 19(8), p73-79.

Malki L. et Berriche A., Les infections urinaires : contribution à la recherche des espèces multi-résistantes (CHU - Nadir Mohamed - Tizi-Ouzou), 2019, Mémoire de Master, Université de Bouira, Algérie.

Mammedi H., Mode d'action des antibiotiques, 2007-2008, <http://www.upicardie.fr/servlet/com.univ.utils.LectureFichierJoint?CODE=1253972874925&LANGUE=0>, Consulté le 15 janvier 2022.

Manisha D. M. et Shyamapada M., Honey: Its medicinal property and antibacterial activity, 2011, *Asian. Pac. J. Trop. Biomed.*, 1(2), p154-160.

Marchenay P., L'homme et l'abeille, 1984, Editions Berger-Levrault, Paris.

Marchou B., Bellido F., Charnas R., Lucain C. et Pechere J. C., Contribution of beta-lactamase hydrolysis and outer membrane permeability to ceftriaxone resistance in *Enterobacter cloacae*, 1987, *Antimicrob. Agents Chemother.*, 31(10), p1589-1595.

Marieb E. N., Biologie humaine - Principes d'anatomie et de physiologie, 2008, 8^{ème} édition, Editions Pearson, France.

Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A., Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien, 2010, *Annales des Sciences et Technologie*, 2(2), p115.

Meyrier A., Infections de l'appareil urinaire de l'adulte, 1993, *In* Meyrier A., Affre J., Beaufils M., Becquemont L., Buchet P., Callard P., Chawki M., Chevet D., Delahousse M., Desassis J. F., Dhib M., Esnault V., Fillaste J. P., Glotz D., Godin M., Kleinknecht D. et Kourilsky O., Leroux -Robert C., Michel C., Mignon F., Montseny J. J., Mougnot B., Paillard F., Raynaud A., Rince M., Saint-Hillier Y., Salama J., Teyssier P., Viron B. et Weiss L., *Maladies rénales de l'adulte*, 1993, Editions Ellipses, Paris, p327-366.

Références bibliographiques

Molan P. C., Potential of honey in the treatment of wounds and burn, 2001, Am. J. Clin. Dermatol., 2(1).

Moniruzzaman M., Chua-Yung A., Rao P. V., Hawlader M. N., Amirah S., Bintimohd A., Sulaiman S. A. et Gan S. H., Identification of phenolic acids and flavonoids in monofloral honey from Bangladesh by high performance liquid chromatography: Determination of antioxidant capacity, 2014, Biomed. Res. Int. (Hindawi Publishing Corporation), Volume 2014, p1-13.

Moreddu F., Le conseil associé à une demande spontanée, 2015, 4^{ème} édition, Editions Le Moniteur des pharmacies, France, p144.

Mrich H., Profil de l'antibiorésistance de l'infection urinaire nosocomiale en urologie : expérience du service d'urologie CHU Mohammed VI, 2018, Thèse pour l'obtention du Doctorat en Médecine, Université Cadi Ayyad, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Marrakech, p111.

Nguyen S. H. et Bourouina R., Manuel d'anatomie et de physiologie, 2008, 4^{ème} édition, Editions Lamarre, France, p283-285.

Olaitan P. B., Adeleke O. E. et Ola I. O., Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes, 2007, African Health Sciences, 7(3), p159-169.

Olivier J. et Freiss S., Uretères, 2011, ANAT NUG 3 et 4, p1-14.

OMS, Rapport mondial de l'OMS sur la résistance aux antimicrobiens, 2014, <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2014/amr-report/fr/>, Consulté le 09 janvier 2022.

Ourvalin P., La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaisons de mécanismes biochimiques et génétiques, 2008, Bull. Acad. Vét., 161(1), France.

Pages J. M., Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques, 2004, Med. Sci., 20(3), p346-351.

Références bibliographiques

Pavese P., Infections urinaires nosocomiales : définition, diagnostic, physiopathologie, prévention, traitement), 2003, Médecine et Maladies Infectieuses, 33(S4), p266-274.

Philippon A. et Arlet G., Les bêta-lactamases chez les bacilles à Gram négatif : que de nouveautés en 15 ans !, 2005, Antibiotiques, 7(4), p247-259.

Pilet C., Bourdon J. L., Toma B., Marchal N. et Balbastre C., Bactériologie médicale et vétérinaire : systématique bactérienne, 1983, 2^{ème} édition, Editions Doin, France, p437.

Poole K., Efflux-mediated antimicrobial resistance, 2005, J. Antimicrob. Chemother., 56(1), p20-51.

Pourcine F., Néphrologie, 2010, 8^{ème} édition, Editions Vernazobres-Gregg, France, p256.

Prescott L. M., Harley J. P. et Klein A., Microbiology, 2003, Editions De Boeck, Paris, p28-29.

Prescott L. M., Klein D. A. et Harley J. P., Microbiologie, les infections urinaires et l'antibiorésistance des espèces *Escherichia coli* et *Klebsiella*, 2010, 3^{ème} édition, Editions De Boeck, Belgique, p1088.

Ramirez C. M. A., Gonzalez S. E. et Sauri Duch E., Les effet du traitement thermique sur la quantité du miel pendant l'entreposage - Mexique, 2000, Apiacta, 35(4), p162-170.

Ruppé E., Epidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M, 2010, Antibiotiques, 12(1), p3-16.

Samarghandian S., Farkhondeh T. et Samini F., Honey and health: A review of recent clinical research, 2017, Pharmacognosy Research, 9(2), p121-127.

Schaffler A. et Menche N., Anatomie-physiologie-biologie, 2004, 2^{ème} édition, Editions Maloine, France.

Schmiemann G., Kniehl E., Gebhardt K., Matejczyk M. et Hummers-Pradier M., The diagnosis of urinary tract infection: A systematic review, 2010, Dtsch. Ärzteblatt Int., 107(21), p361-367.

Références bibliographiques

Silvana K. T. S., Bibiana S., Greici B., Patricia B., Luciano V. G., Roseane F. et Ana Carolina O.C., An overview of physicochemical characteristics and health-promoting properties of honeydew honey, 2019, Food Research International, 119, p44-66.

Smith H. S., Hugues J. P., Hooton T. M., Roberts P., Scholes D., Stergachis A., Stapleton A. et Stamm W. E., Antecedent antimicrobial use increases the risk of uncomplicated cystitis in young women, 1997, Clin. Infect. Dis., 25(1), p63-68.

Sophie Z., La Résistance bactérienne aux antibiotiques : apparition et stratégies de lutte, 2014, Thèse de Doctorat en Pharmacie, Université de Limoges, France.

Taormina P. J., Niemira B. A. et Bauchat L. R., Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power, 2001, Int. J. Food Microbiol., 69(3), p217-225.

Tonks A. J., Cooper R. A., Jones K. P., Blair S., Parton J. et Tonks A., Honey stimulates inflammatory cytokine production from monocytes, 2003, Cytokine, 21(5), p242-247.

Torok E., Moran E. et Cooke F., Oxford handbook of infectious diseases and microbiology, 2009, Oxford University Press, United Kingdom.

Veyssiere A. J., La résistance aux antibiotiques des bactéries les plus communément rencontrées dans les infections communautaires : état des lieux en 2019, 2019, Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de Docteur en Pharmacie, Université de Bordeaux, France.

Vézina L. et Lacroix M., Tests biochimiques classiques pour l'identification des *Pectobacterium* (*Erwinia* pectinolytiques) et des *Pseudomonans fluorescens*, 2000, Laboratoire d'expertise et de diagnostic en phytoprotection (Ministère de l'agriculture, des pêcheries et de l'alimentation du Québec), Canada, p9.

Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernandez-lopez J. et Perez-Alvarez J. A., Functional properties of honey, propolis, and royal jelly, 2008, J. Food Sci, 73(9), p117-124.

Weiss K., La résistance bactérienne : la nouvelle guerre froide, 2002, Le Médecin du Québec, 37 (3), p41-42.

Références bibliographiques

Yabrir B., Touati M., Hamidi M., Hachi M., Adli B., Bezinie E. et Toumatia O., Effet de l'étage bioclimatique sur la qualité et activité antibactérienne du miel récolté dans la région de Djelfa (milieu steppique), 2021, Revue Agrobiologia, 11(2), p2744-2751.

Yahiaoui M., Robin F., Bakour R., Hamidi M., Bonnet R. et Messai Y., Antibiotic resistance, virulence, and genetic background of community-acquired uropathogenic *Escherichia coli* from Algeria, 2015, Microbial. Drug Resistance, 21(5), p516-526.

Yannick D. N., Skander T. et Mario Jacques H., Les biofilms bactériens : leur importance en santé animale et en santé publique, 2014, Can. J. Veterinary Res., 78(2), p110-116.

Zahir H., Draiss G., Rada N., Abourrahouat A., Ait Sab I., Sbihi M., Bouskraoui M. et Soraa N., Écologie microbienne et sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées d'infections urinaires chez l'enfant au Maroc, 2019, Revue Francophone des Laboratoires, 2019(511), p65-70.

Zerrouk S., Seijo M. K., Boughediri L., Escuredo O. et Rodríguez-Flores M. C., Palynological characterization of Algerian honeys according to their geographical and botanical origin, 2014, Grana, 53(2), p147-158.

Anonyme 1 : <https://sante.journaldesfemmes.fr/fiches-anatomie-et-examens/2634711-meat-urinaire-femme-homme-inflammation-douleur-couleur-diametre-irritation-rouge-schema/>, Consulté le 26 avril 2022.

Anonyme 2 : <http://www.universalis.fr/encyclopedie/antibiotiques-reperes-chronologiques/>, Consulté le 16 mai 2022.

Anonyme 3 : Acadpharm "Dictionnaire médicale et pharmaceutique" : <http://dictionnaire.acadpharm.org/w/Acadpharm:Accueil> , Consulté le 16 mai 2022.

Anonyme 4 : <http://www.futura-sciences.com>, Consulté le 19 janvier 2022.

Anonyme 5 : http://www.sante.gouv.fr/IMG/pdf/plan_antibiotiques_2011-2016_DEFINITIF.pdf, Consulté le 08 janvier 2022.