

République Algérienne Démocratique Et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur Et De La Recherche Scientifique
Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou
Faculté des Sciences Biologiques et Des Sciences Agronomiques
Département de Biochimie et Microbiologie



Mémoire de fin d'études

En vue d'obtention du diplôme de Master en sciences biologiques

Spécialité : **Microbiologie appliquée**

Thème

Etude de l'activité antibactérienne de l'huile essentielle et du miel d'*Eucalyptus globulus* contre les bactéries multi résistantes isolées de la sphère ORL

Réalisé par :

M^{lle} GAOUA Cilia

M^{lle} HADJIMI Lydia

M^{lle} KHALDI Yasmine

Soutenu publiquement le 11/07/2023 à 13h devant les membres de jury :

M^r BOUACEM K.

MCA

UMMTO

Président

M^{me} ASMANI K.

MCA

UMMTO

Examinatrice

M^{me} AFIF CHAOUCHE T.

MCA

UMMTO

Promotrice

M^r BARIZ K.

MCB

UMMTO

Co-Promoteur



Remerciements

Avant tout propos nous remercions Dieu le tout puissant qui nous a donné la santé, courage et la volonté pour achever ce modeste travail.

Nos remerciements pour notre promotrice AFIF CHAOUICHE T., maître de conférences classe A à l'UMMTO, d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa patience tout au long de ce travail, ainsi que Mr BARIZ K. d'avoir accepté de nous Co encadrer.

Nos remerciements aussi pour toute l'équipe du laboratoire de Microbiologie au CHU NEDIR MOHAMMED de nous avoir donné l'avis favorable pour effectuer notre stage, ainsi que ceux du laboratoire de Microbiologie de l'université de Tizi-Ouzou surtout le doctorant Mr SAOUDI B. qui nous a beaucoup aider et orienter durant la période du stage à l'université, le professeur HOUALI K. qu'aucun mot ne suffira pour exprimer notre gratitude pour son amour pour ses étudiants, sa gentillesse, sa patience et pour ses conseils qui nous ont beaucoup servi.

Nos remerciements aussi pour les membres de jury d'avoir accepté de juger notre travail

Un grand merci pour toute personne qui a participé, de près ou de loin, pour la réalisation de ce mémoire et à tout ceux qui nous en apporté leur soutien.

Dédicaces

Louange à Dieu ; le tout puissant et miséricordieux qui ma guider durant ma formation et de m'avoir donné le courage d'achevé ce travail, je tiens à exprimer ma plus profonde gratitude et reconnaissance pour les innombrables bénédictions que vous avez généreusement répandues sur moi.

Du plus profond de mon cœur, je dédie ce modeste travail :

A la mémoire de mon cher père qui est partie si tôt à qui je lui rends hommage en poursuivant mes études avec détermination et persévérance. Je t'aime papa et je sais que tu serais fier de moi si tu étais présent avec nous. Que dieu l'accueille dans son vaste paradis.

A ma chère mère, elle qui ma donner la vie et a été une source d'amour inconditionnelle, de soutien et de motivation et son assistance tout au long de mon cursus d'études, je ne la remercierai jamais assez pour tous les sacrifices qu'elle a consentis pour nous, pour notre bien et pour son courage. Je suis consciente que mes accomplissements et mes progrès ne sont pas seulement le fruit de mon travail mais aussi le reflet de l'amour et du dévouement que tu as toujours manifeste à mon égard, ta présence et ta bienveillance m'ont donné la force de surmonter les difficultés et de poursuivre mes études.

Que ce travail soit un témoignage de ma gratitude la plus profonde et de mon amour éternel pour toi. Je t'aime du plus profond de mon cœur, que Dieu te garde et te préserve à mes côtés et qu'il me donne la force et les moyens de te rendre tout ce que tu as fait pour moi.

A mon frère **FARES**, ma sœur **SONIA**, que malgré les disputes sachez que je vous aime et je serai toujours à vos coté à vous guider et à vous conseiller.

A tous mes oncles maternels, ma tante maternelle **FARIDA** et tantes paternelles surtout **OUIZA** ainsi que son mari **OMAR**.

Pour mes chères copines et sœurs du cœur, **CILIA, NORA, LOUIZA, SABRINA, ANIA, MANEL, LYNA, MELISSA, SARAH** ; Vous qui m'avez appris la chose la chose la plus précieuse 'l'amitié' .A tous les moments que nous avons partagé ensemble qu'ils sois remplies de rires ou des énervements ont tissé des liens indestructibles entre nous, à nos conversations profondes, nos confidences et nos éclats de rire qui ont rapporté une richesse inestimable à mon existence, amitié est un pilier sur le quelle je peux m'appuyer, sachez que je suis fière de vous avoir dans ma vie, que je vous aime du plus profond de mon cœur et sachez que je serais toujours la a vos coté, je souhaite que nous continuerons à créer des souvenirs inoubliables et à vivre des aventures qui seront gravés dans nos cœur pour toujours.

A mes chers cousins, **LYES, ANIA, YASMINE, LYNDA, AMINE, MOHEND, LIZA, MANEL, MINA, MAROUA, BOUCHRA, LYNA** je vous aime de tout mon cœur, vous êtes les meilleurs.

Spéciale dédicace pour ma chère binôme **CILIA**, il y a eu des hauts et des bas comme tout le monde mais malgré ça on a passé des moments remplis de fous rires tout au long de ce travail, je te dis merci de m'avoir supporté, et je tiens à te dire je t'aime trop ma chère amie, je te souhaite la réussite dans ce que tu entreprennes dans ta vie.

A mes chers amis ; **SID ALI, AMAYES, NABIL, AMARA, MOHEND, MAHREZ, DJAHID, DYHIA, CHAHINEZ, SILINA, LYZA, LYDIA**.

A toute La section Microbiologie appliquée promo 2023.

Mes sincères excuses à tous ceux que je n'ai pas cité ici mais ils sont toujours dans mon cœur.

Je vous remercie et je vous aime tous.

Lydia

Dédicaces

À toi, mon Dieu, je te suis reconnaissante pour ta présence constante dans ma vie, pour ta grâce et ta miséricorde infinies. Tu es ma force intérieure, qui éclaire mon esprit et guide mes pas et t'es mon abri dans les moments de tempêtes. Gloire à toi, mon Dieu pour toutes tes bénédictions.

A mes parents, mes plus grands soutiens et sources d'inspiration,

Papa, tu m'as enseigné la valeur de travail charné, de la détermination et de l'ambition. Ton engagement envers l'excellence été pour moi une source de motivation.

Maman, ta tendresse ton amour inconditionnel et ta sagesse infinie m'ont guidé à travers les hauts et les bas, en toi je trouve la force de persévérer.

Ce travail est le fruit de vous sacrifices, ensemble vous êtes mes piliers, mes guides. Votre amour et confiance ont fait de moi la personne que je suis aujourd'hui. Je ne pourrais jamais assez vous remercier pour tout ce que vous avez sacrifié pour mon éducation et mon bonheur.

A ma sœur bien-aimée MANEL, tu as toujours été ma confidente ma complice et ma meilleure amie.

A mes frères chéris, JUBA et ZAKARIA vous m'avez montré la valeur de partage et de persévérance.

A mes amis : KAMELIA, LYDIA, LIZA, SABRINA, MELISSA, ANIA, LINA, FAIZA...

A ma binôme LYDIA, je suis reconnaissante pour ta collaboration et ta passion partagée et je suis convaincue que notre amitié perdurera bien au-delà de cette réalisation collective.

A une personne spéciale mon confident et meilleur ami DAHMANE, merci pour ta présence aimante et ton soutien inconditionnel.

A toutes personnes que je n'ai pas pu citer nommément, mes amis et ma famille élargie, merci pour votre soutien et encouragement à surmonter les moments difficiles.

Ce modeste travail est dédié à vous tous qui ont fait partie de cette aventure. Je vous remercie tous du fond du cœur.

Cilia



Dédicaces

Grace à Dieu le tout puissant, j'ai achevé la réalisation de ce modeste travail que je tiens très chaleureusement à le dédier à :

Mes chers parents que j'aime beaucoup... mes parents qui ont cru en moi, qui m'ont toujours soutenu et encouragé tout au long de mes études, qu'**ALLAH** les protègent et les gardent pour moi.

Mon petit frère bien aimé, je te souhaite d'atteindre ce jour là toi aussi, et sache que je serai toujours à tes cotés pour t'aider et t'encourager.

Mes très chères tantes maternelles, qui ont toujours été là pour moi : **Fariza, Hassina, Nadia, Ouerdia** et ma chère tante **Saliha** qui veille sur moi et que je n'oublierai jamais... Repose en paix ma tante adorée.

Ma chère tante paternelle : **Nacera**

Mes chers cousins et ma chère cousine « **Amina** » qui à toujours été là pour moi et qui m'a beaucoup aidé dans la réalisation de ce travail.

Mes petits neveux adorés : **Alice, Axel et Elyane**.

Mes chers grands parents qui veillent sur moi depuis là-haut, qu'ils reposent en paix.

Mes chers amis et camarades, pour tous nos moments passés ensemble durant ces années.

Toute personne qui a contribué dans la réalisation de ce modeste travail, de près ou de loin.



Tables des matières

Remerciements

Dédicaces

Listes des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Introduction 01

Chapitre I : Sphère ORL

1	Définition	3
2	Anatomie et physiologie	3
2.1	Oreille	3
2.1.1	Oreille interne.....	3
2.1.2	Oreille moyenne	3
2.1.3	Oreille externe	3
2.2	Nez et sinus.....	4
2.3	Gorge et oropharynx	5
3	Infections touchant la sphère ORL	5
3.1	Infections touchant les oreilles	5
3.1.1	Otites	5
3.1.1.1	Otite externe	5
3.1.1.2	Otite moyenne.....	5
3.1.1.3	Otite interne	5
3.2	Infections touchant le nez et le sinus	5
3.3	Infections touchant la gorge et l'oropharynx.....	6
3.3.1	Amygdalite aiguë	6
3.3.2	Supra glottite (épiglottite)	6
4	Aperçu sur les souches bactériennes impliquées dans les infections ORL	6
4.1	<i>Haemophilus influenzae</i>	6
4.1.1	Pouvoir pathogène.....	6
4.2	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	6
4.2.1	Pouvoir pathogène.....	6
4.3	<i>Streptococcus pyogenes</i>	6
4.3.1	Pouvoir pathogène.....	7

4.4	<i>Staphylococcus aureus</i>	7
4.4.1	Pouvoir pathogène.....	7
4.5	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	7
4.5.1	Pouvoir pathogène.....	7
4.6	<i>Acinetobacter baumannii</i>	7
4.6.1	Habitat	7
4.6.2	Morphologie et caractères cultureux	8
4.6.3	Caractères biochimiques	8
4.6.4	Pouvoir pathogène.....	8
4.7	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8
4.7.1	Pathogénicité	8

Chapitre II : Antibiotiques et antibiorésistance

1	Antibiotiques	9
1.1	Définition.....	9
1.2	Classification	9
1.3	Mode d'action.....	9
1.3.1	Antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne	9
1.3.2	Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique	10
1.3.3	Antibiotiques agissant sur la synthèse des protéines.....	10
1.3.4	Antibiotiques agissant sur des acides nucléiques.....	10
2	Antibiorésistance.....	11
2.1	Définition.....	11
2.2	Résistance naturelle	11
2.3	Résistance acquise	11
2.4	Mécanismes de résistance.....	11
2.4.1	Inactivation enzymatique	11
2.4.2	Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	12
2.4.3	Pompe à efflux	12
2.4.4	Perméabilité réduite.....	12
2.5	Bactéries multi-résistantes (BMR)	13
2.5.1	Définition	13
2.5.2	Type de bactéries multi-résistantes	13
2.5.2.1	<i>Acinetobacter baumannii</i>	13
2.5.2.1.1	Aux bêta lactamines.....	14
2.5.2.1.2	Résistance acquise aux aminosides.....	14

2.5.2.1.3	Résistance acquise aux fluoroquinolones	14
-----------	---	----

Chapitre III : Huile essentielle et miel d'*Eucalyptus globulus*

1	Huiles essentielles	15
1.1	Définition.....	15
1.2	Localisation des huiles essentielles	15
1.3	Composition des huiles essentielles	15
1.3.1	Terpènes et terpénoïdes.....	15
1.3.2	Composés aromatiques.....	16
1.3.3	Autres composés	16
1.4	Procédés d'extraction des huiles essentielles	16
1.4.1	Entraînement à la vapeur d'eau.....	16
1.4.2	Expression à froid.....	16
1.4.3	Extraction par hydrodistillation.....	17
1.5	Activité antibactérienne des huiles essentielles.....	17
1.5.1	Mécanismes de l'effet antibactérien des huiles essentielles.....	18
1.6	Huiles essentielles et les infections ORL	18
1.6.1	Principales huiles essentielles utilisées en infectiologie ORL	19
2	<i>Eucalyptus</i>	19
2.1	<i>Eucalyptus globulus</i>	20
2.1.1	Huile essentielle de l' <i>Eucalyptus globulus</i>	20
3	Miel.....	21
3.1	Définition.....	21
3.2	Composition du miel	21
3.3	Miel de l' <i>Eucalyptus</i>	21

Matériel et méthodes

1	Matériel.....	23
1.1	Souches bactériennes	23
1.2	Matériel végétal	23
1.3	Miel.....	23
1.4	Milieux de culture.....	23
1.5	Antibiotiques	23
1.6	Autres.....	23
2	Méthodes.....	24
2.1	Réception et traitement des prélèvements	24
2.2	Traitement des prélèvements	24

2.2.1	Prélèvements des crachats	24
2.2.1.1	Conditions de prélèvement du crachat.....	24
2.2.1.1.1	Examen direct	24
2.2.1.1.1.1	Préparation du frottis	24
2.2.1.1.1.2	Coloration au bleu de méthylène	24
2.2.1.1.1.3	Mise en culture des prélèvements.....	24
2.2.2	Prélèvements de gorge, des narines, des bronches et des oreilles.....	25
2.2.2.1	Conditions de prélèvement pour la gorge.....	25
2.2.2.2	Conditions de prélèvement pour les narines.....	25
2.2.2.3	Condition de prélèvement pour les oreilles	25
2.2.2.4	Isolement et ensemencement.....	25
2.2.3	Prélèvement distal protégé	25
2.3	Identification des souches microbiennes	26
2.3.1	Identification microscopique.....	26
2.3.1.1	Etat frais.....	26
2.3.1.2	Coloration de Gram	26
2.3.2	Galerie biochimique	26
2.3.2.1	Test oxydase	26
2.3.2.2	Test de catalase	26
2.3.2.3	Test coagulase.....	27
2.3.2.4	Identification par système API (Analytical Profil Index).....	27
2.3.2.5	Identification par la galerie classique	27
2.3.2.5.1	Urée indole	27
2.3.2.5.2	Milieu TSI.....	27
2.3.2.5.3	Milieu Citrate de Simmons	28
2.3.2.6	Identification par VITEK.....	28
2.4	Antibiogramme	28
2.4.1	Préparation de la suspension	28
2.4.2	Ensemencement sur MH	29
2.4.3	Application des disques.....	29
2.5	Préparation de la plante	29
2.5.1	Extraction de l'huile essentielle	29
2.5.1.1	Principe.....	30
2.5.1.2	Rendement de l'extraction de l'huile.....	30
2.5.1.3	Calcul de la densité de l'huile.....	30

2.5.1.4	Calcul de la densité du miel.....	30
2.6	Evaluation de l'activité antibactérienne.....	31
2.6.1	Vérification de la pureté des souches.....	31
2.6.1.1	Préparation des dilutions de l'huile et du miel.....	31
2.6.1.2	Préparation des suspensions bactériennes.....	31
2.6.2	Application des disques.....	32
2.6.3	Etude de l'activité antibactérienne de l'huile et du miel avec la technique des puits	32
2.6.4	Association entre l'huile et le miel.....	32
2.6.4.1	Préparation du mélange huile/miel.....	32

Résultats et discussion

1	Etude prospective.....	34
1.1.	Répartition globale.....	34
1.2.	Répartition des prélèvements selon leur type.....	34
1.3.	Répartition des prélèvements selon les services.....	35
1.4.	Répartition des prélèvements selon le sexe.....	36
1.5.	Répartition des germes isolés.....	36
1.6.	Profil de résistance des bactéries identifiées.....	38
1.6.1.	Profil d'antibiorésistance des entérobactéries.....	38
1.6.2.	Profil d'antibiorésistance de <i>P. aeruginosa</i>	38
1.6.3.	Profil d'antibiorésistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	39
1.6.4.	Profil d'antibiorésistance de <i>Streptococcus</i> bêta hémolytique.....	40
1.6.5.	Profil d'antibiorésistance de <i>P. putida</i> et <i>Aeromonas hydrophila</i>	42
2	Activité antibactérienne de l'huile essentielle et du miel.....	43
2.1	Activité antibactérienne de l'huile essentielle d' <i>Eucalyptus</i>	43
2.2	Evaluation de l'activité du miel.....	44
2.3	Activité antibactérienne de l'association huile/miel.....	45
	Conclusion.....	47
	Références bibliographiques.....	48

Annexes

Résumé

Liste des abréviations

ADN	Acide désoxyribonucléique
AFNOR	Association française de normalisation
ARNt	Acide ribonucléique de transfert
ARNm	Acide ribonucléique messager
ATP	Adénosine triphosphate
ATB	Antibiotique
BHIB	Brain heart infusion broth
BMR	Bactéries multi-résistantes
CMI	Concentration minimale inhibitrice
DMSO	Diméthylsulfoxyde
DO	Densité optique
GSF	Gélose au sang frais
GSC	Gélose au sang cuit
HE	Huile essentielle
HP	Huile pure
MH	Mueller Hinton
MP	Miel pure
ORL	Oto-rhino-laryngologie
OMA	Otite moyenne aigue
OMC	Otite moyenne chronique
OMS	Organisation mondiale de la santé
PDP	Prélèvement distal protégé
PLP	Protéines liant à la pénicilline
PNN	Polynucléaires neutrophiles
R (%)	Rendement
SM	Solution mère
TSB	Bouillon tryptone-soja
TSI	Triple sugar iron
UFC	Unité formant colonie

Liste des figures

Figure 1 : Oreille interne mettant en évidence le labyrinthe osseux et membraneux	4
Figure 2 : Anatomie de la sphère ORL	4
Figure 3 :Cibles des antibiotiques	11
Figure 4 : Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques	13
Figure 5 : Principe d'extraction des huiles essentielles par entraînement à la vapeur	16
Figure 6 : Extraction des huiles essentielles par l'expression à froid	17
Figure 7 : Principe de l'extraction des huiles essentielles par hydrodistillation	17
Figure 8 : Feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	20
Figure 9 : Séchage des feuilles d' <i>Eucalyptus globulus</i>	29
Figure 10 : Répartition global des prélèvements.....	34
Figure 11 : Répartition selon les types de prélèvements.....	35
Figure 12 : Répartition des prélèvements selon les services.....	35
Figure 13 : Répartition des prélèvements selon le sexe	36
Figure 14 : Répartition des germes isolés	37
Figure 15 : Profil d'antibiorésistance des entérobactéries	38
Figure 16 : Profil d'antibiorésistance de <i>P. aeruginosa</i>	39
Figure 17 : Profil d'antibiorésistance de <i>Staphylococcus aureus</i>	40
Figure 18 : Profil d'antibiorésistance de <i>Streptococcus</i> bêta hémolytique	41
Figure 19 : Profil d'antibiorésistance d' <i>A. baumannii</i>	41
Figure 20 : Résultat du témoin positif et témoin négatif.....	44
Figure 21 : Aromatogramme d' <i>Acinetobacter baumannii</i>	44
Figure 22 : Activité antimicrobienne du miel	45
Figure 23 : Résultat du témoin négatif et témoins positif.....	46
Figure 24 : Résultat de l'association huile essentielle/miel	46

Liste des tableaux

Tableau I: Parties des plantes où se localisent les HE	15
Tableau II: Mécanismes d'action des HE.....	18
Tableau III: HE utilisées en cas d'infections ORL	19
Tableau IV: la composition chimique de miel d'Eucalyptus	22
Tableau V: Espèces isolées et leur fréquence	37
Tableau VI: Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'huile	43
Tableau VII: Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'association huile/miel	46

La sphère ORL constitue le carrefour d'un large éventail de pathologies, touchant aussi bien les enfants que les adultes. En effet, lorsque des microorganismes pénètrent dans les tissus de la tête et du cou, cela peut entraîner une réaction locale, qui entraîne des infections superficielles qui guérissent spontanément. Néanmoins, certaines de ces infections peuvent avoir des symptômes ou des signes d'alertes nécessitant des consultations médicales qui se terminent dans la majorité des cas par une prescription et traitement avec des antibiotiques. Cette prescription a engendré l'apparition et l'émergence de la résistance des bactéries aux antibiotiques et donc l'échec de l'antibiothérapie **(Sacko, 2002 ; Omeiri, 2015 ; Kullar, 2016)**. En effet, la résistance aux antimicrobiens est un problème majeur, et l'une des menaces les plus inquiétantes de santé publique, et elle est en augmentation depuis quelques décennies conduisant à des impasses thérapeutiques et au décès dans certains cas surtout depuis l'apparition des bactéries multi résistantes comme c'est le cas du germe *Acinetobacter baumannii*, qui est un pathogène particulièrement redoutables et les plus problématiques au sein des établissements de soins.

Il se distingue par sa capacité de survivre longtemps dans les milieux hospitaliers, de développer des résistances et de provoquer un large éventail d'infections à la fois communautaires et nosocomiales qui ne peuvent être guéries par les traitements conventionnels.

Cette situation a conduit à une recherche intensive et à l'exploration de nouvelles molécules et approches thérapeutiques antimicrobiennes **(Opatowski et al., 2021 ; Thabet, 2021)**.

Ces dernières années, la recherche se base sur l'exploration des agents moins coûteux et moins dangereux qui peuvent soigner les différentes infections provoquées par les bactéries multi résistantes. Parmi ces agents antibactériens, la plupart des chercheurs se sont tournés vers les produits naturels dont les huiles essentielles, le miel etc.

Les huiles essentielles sont des molécules naturelles retrouvées dans différentes parties des plantes et extraites par de différentes méthodes à savoir la distillation par entraînement à la vapeur. Ces huiles possèdent plusieurs propriétés biologiques très puissantes contre l'émergence de différents agents microbiens notamment les bactéries **(Bouyahya et al., 2017)**.

Le miel naturel est aussi considéré comme l'un des remèdes les plus anciens qui, plusieurs chercheurs ont démontré son activité antibactérienne notamment sur les bactéries pathogènes multi résistantes **(Mandal et al., 2011 ; Assaggaf et al., 2022)**.

Le présent mémoire a été réalisé dans ce contexte. Il consiste à l'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections ORL au niveau du CHU, l'étude de leur profil d'antibiorésistance afin de sélectionner les bactéries multi résistantes (BMR) et de tester l'efficacité de l'utilisation de l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* et du miel issu du même

Introduction

arbre, comme alternatives aux antibiotiques pour soigner et traiter ces différentes infections. L'objectif principal de cette étude est d'évaluer l'activité inhibitrice de ces deux produits naturels contre des souches d'*Acinetobacter baumannii* multi résistantes issues de la sphère ORL.

Ce mémoire est composé de trois principales parties :

La première est une synthèse bibliographique, où il y a trois chapitres qui traitent dans un premier temps, l'anatomie, les différentes infections touchant la sphère ORL ainsi que les agents bactériens responsables de ces pathologies.

Dans un deuxième temps ; des généralités sur les antibiotiques ainsi que le phénomène de l'antibiorésistance et les bactéries multi résistantes (BMR) notamment *A. baumannii* et les différents mécanismes de résistance qu'elle développe aux différentes familles d'antibiotiques.

Dans un dernier temps, ce travail porte intérêt sur les huiles essentielles en général, leurs compositions ainsi que leurs bienfaits sur les infections ORL, et particulièrement sur l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* ainsi que le miel dérivant de cette plante.

La seconde partie représente tout le matériel utilisé ainsi que la méthode suivie pour réaliser chaque partie du travail allant de la réception des prélèvements, à l'évaluation de l'activité antimicrobienne de l'huile et du miel contre les bactéries multi résistantes identifiés.

La dernière partie est dédiée aux résultats obtenus et à la discussion de chacun ainsi qu'une conclusion.

1 Définition

L'oto-rhino-laryngologie est une spécialité médicale consacrée à l'étude de l'anatomie, la physiologie et les maladies touchant la sphère ORL, autrement dit, les voies aérodigestives supérieures. Cette dernière constitue une partie du corps humain, comprenant :

L'oreille (externe, moyenne, interne), le nez et le sinus, la gorge et le cou (le palais, langue, larynx et la trachée) (Sacko, 2004).

2 Anatomie et physiologie

2.1 Oreille

Est un organe neurosensoriel à double fonction : l'audition et l'équilibre. L'oreille doit être capable de capter le son, de le transmettre à l'organe récepteur afin de le traduire en signaux électriques vers le cerveau (Guillaume, 2021).

L'oreille comporte trois parties :

2.1.1 Oreille interne

Est l'organe de l'équilibre et de l'audition ; c'est un espace labyrinthique qui comprend deux parties ; les labyrinthes osseux et membraneux.

Le labyrinthe comporte deux parties : La partie antérieure qui permet la transduction du signal sonore au niveau de la cochlée et la partie postérieure qui est responsable de l'équilibre.

2.1.2 Oreille moyenne

Est une cavité remplie d'air contenant la trompe d'Eustache qui agit comme intermédiaire permettant de communiquer avec le milieu extérieur le tympan, le marteau, l'enclume et l'étrier.

2.1.3 Oreille externe

Constitue la partie apparente du système auditif, elle contient le pavillon auriculaire et le canal auditif externe (Guillaume, 2021).

La figure ci-dessous démontre l'anatomie de l'oreille interne :

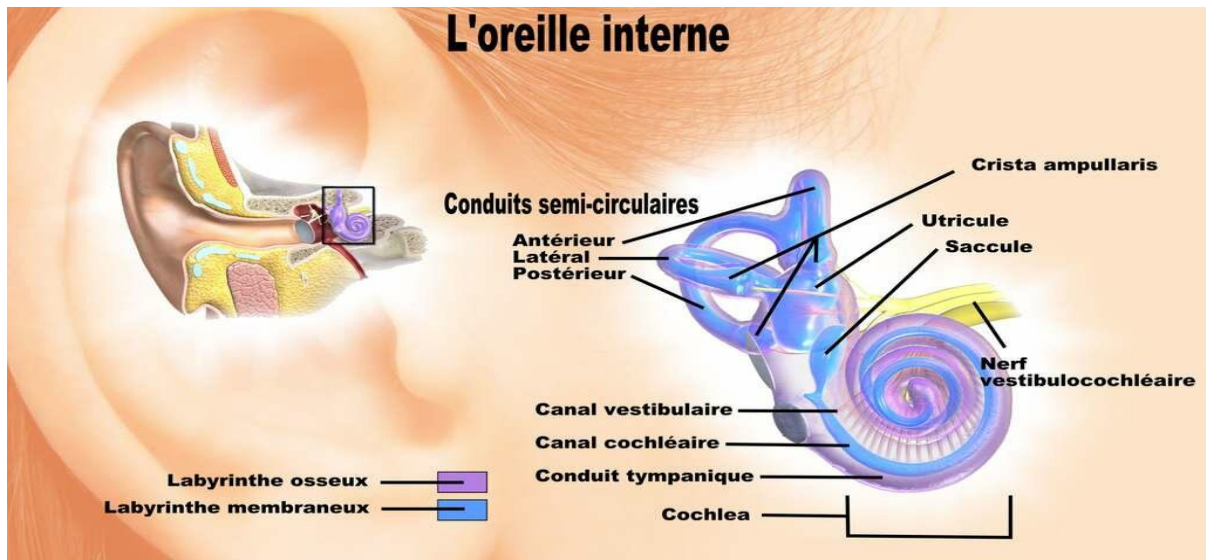


Figure 1 : Oreille interne mettant en évidence le labyrinthe osseux et membraneux (Beguet, 2021)

2.2 Nez et sinus

Le nez est l'organe olfactif et le principal point de passage de l'air vers et depuis les poumons. Il est composé de plusieurs parties : La cloison nasale, les narines, la racine, les poils et les fosses nasales. Le nez est constitué également de quatre sinus qui sont les suivants :

Les sinus frontaux : est situé dans l'os frontal au-dessus des orbites.

Les sinus ethmoïdaux : situés au niveau de la masse latérale de l'os ethmoïdal.

Les sinus maxillaires : creusés dans le maxillaire entre l'orbite et l'arcade dentaire supérieure.

Le sinus sphénoïdal : situé derrière la cavité nasale (Guillaume, 2021).

La figure suivante démontre l'anatomie de la sphère ORL.

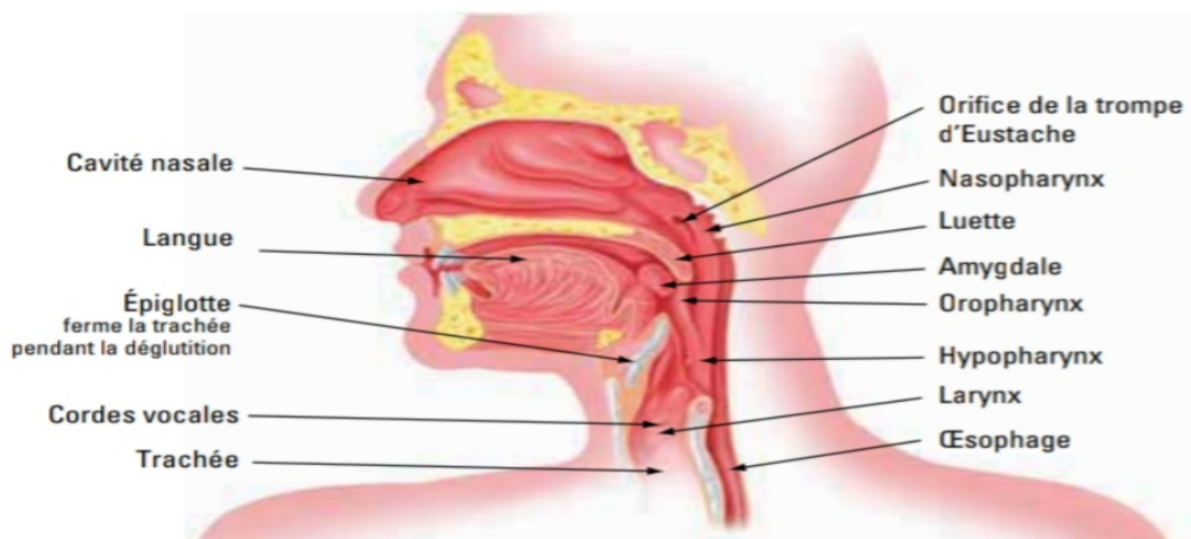


Figure 2 : Anatomie de la sphère ORL (Julie, 2019)

2.3 Gorge et oropharynx

La gorge (pharynx) se trouve derrière la bouche, sous les cavités nasales et au-dessus de l'œsophage et de la trachée. Elle se compose des parties supérieures (rhinopharynx), moyennes (oropharynx) et inférieures (hypopharynx) englobant amygdales, luette, larynx et épiglotte.

3 Infections touchant la sphère ORL

Les maladies infectieuses occupent une place prépondérante dans la pratique de l'oto-rhino-laryngologie et sont les principales causes des consultations chez les médecins généralistes et chez les pédiatres. En effet, la pénétration microbienne des tissus de la tête et du cou peut provoquer une réaction focale conduisant à une infection superficielle qui se résout spontanément. Cependant, certaines peuvent évoluer vers des maladies potentiellement mortelles. Par conséquent, la sensibilisation et le diagnostic correct ainsi qu'une prise en charge appropriée sont primordiaux (**Berthélémy, 2010**).

3.1 Infections touchant les oreilles

3.1.1 Otites

Les otites sont des maladies infectieuses qui correspondent à l'inflammation des oreilles. On distingue trois types d'otites :

3.1.1.1 Otite externe

Elle se manifeste généralement par des douleurs, démangeaisons ainsi que des écoulements. Cette otite est provoquée par des agents microbiens dont les plus courants sont : *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus* sp, *Escherichia coli* et *Staphylococcus* sp.

3.1.1.2 Otite moyenne

L'OM aiguë est généralement virale, mais elle doit être considérée comme une infection bactérienne primaire car la colonisation bactérienne ultérieure progresse dans la majorité des cas. Elle est provoquée par *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Moraxella catarrhalis*. L'OM peut être simple, donc guérit spontanément, ou dangereuse et engendre des complications telles que des troubles neurologiques (**Kullar et al., 2016**).

3.1.1.3 Otite interne

C'est une inflammation du labyrinthe, elle résulte des maladies virales (rhume...) mais rarement causée par une infection bactérienne (méningite) (**Kullar et al., 2016**).

3.2 Infections touchant le nez et le sinus

Le terme rhinite est utilisé pour décrire l'inflammation de la muqueuse du nez et celui de la sinusite. Ce terme est utilisé pour décrire l'inflammation de la muqueuse des sinus. En fait, la plupart des infections affectent le nez et les sinus et sont connues sous le nom de rhino sinusite.

Les bactéries les plus couramment isolées de ces infections sont *Streptococcus pneumoniae* et *Haemophilus influenzae* (Kullar et al., 2016).

3.3 Infections touchant la gorge et l'oropharynx

3.3.1 Amygdalite aiguë

L'amygdalite aiguë peut être causée par des virus ou des bactéries, l'un des symptômes qui caractérise cette infection est l'angine streptococcique, on la qualifie ainsi du fait qu'elle est souvent causée par des Streptocoques du groupe A (les SGA) (Kullar et al., 2016).

3.3.2 Supra glottite (épiglottite)

Cette infection est souvent causée par *Haemophilus influenzae* de type B (HiB). L'introduction du vaccin HiB a réduit l'incidence de la supra glottite de plus de 90 % (Kullar et al., 2016).

4 Aperçu sur les souches bactériennes impliquées dans les infections ORL

On dénombre plusieurs centaines d'espèces différentes de bactéries impliquées dans les infections qui touchent les composantes de la sphère ORL (Bush et al., 2022). Les plus répondues sont :

4.1 *Haemophilus influenzae*

Haemophilus influenzae appartient à la famille des *Pasteurellaceae*, et le genre *Haemophilus* (Khattak et Anjoum, 2022).

4.1.1 Pouvoir pathogène

L'infection à *Haemophilus influenzae* de type B peut provoquer des infections graves ou bénignes telles que la méningite, la pneumonie, la bactériémie, la cellulite et les infections de l'ORL comme l'otite, l'épiglottite, la sinusite etc... (Wen et al., 2020).

4.2 *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae appartient à la famille des *Streptococcaceae*, et le genre des *Streptococcus* sp.

4.2.1 Pouvoir pathogène

Le pouvoir pathogène des pneumocoques peut être exacerbé chez les personnes atteintes de certaines maladies affectant la performance de leurs systèmes immunitaires et surtout chez les enfants dans la majorité des cas. Cette bactérie est un pathogène colonisant les voies respiratoires supérieures et peut causer un large éventail d'infections inflammatoires invasives telles que les bactériémies et les infections touchant les organes de la sphère ORL (Otites moyennes). Son pouvoir pathogène s'explique par sa capacité à échapper aux réponses immunitaires de l'hôte (Weiser et al., 2018).

4.3 *Streptococcus pyogenes*

Streptococcus pyogenes appartient à la famille des *Streptococcaceae*, et au genre *Streptococcus*.

4.3.1 Pouvoir pathogène

Streptococcus pyogenes (*Streptococcus* du groupe A) provoque un large éventail de maladies et de manifestations cliniques allant des infections bénignes à des affections plus graves, invasives et mortelles telles que les bactériémies (**Newberger et Gupta, 2023**). *Streptococcus pyogenes* est l'une des principales causes des pharyngites ou appelées angine streptococcique chez les enfants, qui se manifestent généralement par des maux de gorge et des amygdales ainsi qu'une fièvre etc...

4.4 *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus appartient à la famille des *Staphylococcaceae* et au genre *Staphylococcus* (**Garrity et al., 2002**).

4.4.1 Pouvoir pathogène

Staphylococcus aureus est l'agent causale d'une grande variété d'infections communautaires et nosocomiales dont la bactériémie, les infections de la peau et des voies urinaires ainsi que des infections pleuro-pulmonaires associées aux dispositifs et dans quelques conditions des infections qui touchent la sphère ORL telles que la sinusite et les otites (**Tong et al., 2015**).

4.5 *Pseudomonas aeruginosa*

Pseudomonas aeruginosa appartient à la famille des *Pseudomonadaceae* et au genre *Pseudomonas* (**Biquand, 2018**).

4.5.1 Pouvoir pathogène

Pseudomonas aeruginosa est responsable d'un large éventail de pathologies pouvant aller des infections bénignes chez les personnes saines à des infections plus ou moins graves chez les immunodéprimés et ceux atteints des maladies chroniques débilitantes telles que le SIDA (Syndrome d'immunodéficience acquise). Parmi ces infections, on peut rencontrer la folliculite, l'infection pulmonaire aiguë et chronique ainsi que les infections de l'ORL provoquant l'otite externe ayant comme symptômes : démangeaisons, douleurs et écoulement de l'oreille... et l'otite externe maligne surtout chez les diabétiques avec gonflement et inflammation des tissus autour de l'oreille fermant le conduit auditif, fièvre, perte de l'audition, douleurs violentes et une atteinte au niveau de système nerveux comme symptômes (**Wilson et Pandey, 2022**).

4.6 *Acinetobacter baumannii*

A. baumannii appartient à la famille des *Moraxellaceae*, l'ordre des *Pseudomonadales* est au genre *Acinetobacter* (**Doughari et al., 2011**).

4.6.1 Habitat

La plupart des souches qui appartiennent au genre *Acinetobacter* sont ubiquitaires retrouvées particulièrement dans les sols et les eaux. Cependant, *Acinetobacter baumannii* est

fréquemment voire exclusivement retrouvé dans les milieux hospitaliers, généralement isolées à partir des urines, de la salive, des sécrétions respiratoires etc... (**Brady et al., 2022**).

4.6.2 Morphologie et caractères cultureux

Acinetobacter est un bacille ou coccobacille à Gram négatif, il est aérobic stricte, immobile (**Brady et al., 2022**).

Sur gélose au sang, après 18h à 24h d'incubation à une température de 37°C, les colonies apparaissent généralement non pigmentées, lisses ou muqueuses (en présence de capsule), opaques, de couleur blanche ou crémeuse, avec un diamètre de 1-2 mm (**Bergogne et Bérézin, 2008**).

4.6.3 Caractères biochimiques

Les souches d'*Acinetobacter baumannii* possèdent un métabolisme, ce qui signifie qu'elles ne peuvent pas fermenter les sucres. Cette bactérie est catalase (+), oxydase (-), indole (-), NR (-) et H₂S(-) (**Hawkey et al., 2006 ; Doughari et al., 2011**).

4.6.4 Pouvoir pathogène

Les espèces du genre *Acinetobacter* sont impliquées dans de nombreuses infections respiratoires (**Doi et al., 2015**), principalement nosocomiales mais aussi communautaires. En effet, *A.baumannii* représente le germe le plus redouté dans les établissements de soins du fait qu'il est responsable d'un grand taux de mortalité notamment chez les patients dont le système immunitaire est défaillant, ainsi que leur multi-résistance aux antibiotiques rend le traitement de ces infections très difficile (**Wendpoulomé et al., 2016**).

4.7 *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae appartient à la famille des *Enterobacteriaceae* et au genre *Klebsiella* (**Ashurst et Dawson, 2023**).

4.7.1 Pathogénicité

K. pneumoniae est l'espèce bactérienne responsable des infections communautaires et d'infections nosocomiales (**Sekhri-Arafa, 2011**). Cette bactérie est généralement associée aux pneumonies chez les populations souffrant des infections ou des troubles liés au tabagisme ainsi que le diabète (**Ashurst et Dawson, 2023**).

Cette espèce peut causer d'autres infections telles que les infections urinaires, respiratoires, les septicémies, les infections des tissus mous etc... (**Podschun et Ullmann, 1998**).

Les antibiotiques sont les médicaments les plus prescrits et ont contribué depuis des décennies dans le combat des maladies infectieuses qui ont causé et continuent à causer des épidémies très graves (**Torres et al., 2010**). Cependant, l'utilisation abusive de ces antibiotiques a donné naissance à l'émergence de la résistance bactérienne à ces molécules.

En effet, l'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries pathogènes a été un problème majeur de santé publique qui est observé notamment dans les milieux hospitaliers où les bactéries dont *Acinetobacter* sont souvent responsables d'infections nosocomiales, et cette résistance continue à augmenter de plus en plus depuis plusieurs décennies, ce qui engendre des difficultés à soigner les patients entraînant donc une durée de soins plus longue et des taux de morbidité très élevés (**Soussy, 2007**).

1 Antibiotiques

1.1 Définition

Les antibiotiques sont décrits comme étant des substances naturelles, synthétiques ou semi synthétiques destinées à traiter les infections bactériennes et à augmenter l'espérance de vie (**Rehman et al., 2019**).

1.2 Classification

Les antibiotiques sont classés selon les critères suivants :

Nature chimique : Il existe une structure de base sur laquelle il y a une hémi synthèse définissant ainsi une famille d'antibiotiques.

Spectre d'activité : Il existe des antibiotiques à spectre large qui agissent sur un grand nombre de bactéries et à spectre étroit qui ciblent et n'agissent que sur un nombre restreint de pathologies.

Modalités d'action : Bactériostatique qui inhibent la croissance des bactéries et bactéricide qui tuent ces organismes (**Demoré et al., 2012**).

1.3 Mode d'action

Les antibiotiques agissent d'une manière spécifique sur certaines structures cellulaires bactériennes, ce qui explique qu'ils sont actifs à de très faibles concentrations sur les cibles où ils se fixent chez les bactéries.

1.3.1 Antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne

Les bactéries sont entourées d'une paroi cellulaire composée de peptidoglycane. Le mode d'action agissant sur la destruction de cette structure est caractéristique des bêta lactamines et est porté par leur noyau bêta lactame. Ce dernier a une affinité pour le site catalytique de PLP, ces bêta lactamines doivent alors traverser la membrane externe (des Gram -) pour atteindre les PLP cibles, qui sont des enzymes essentielles à la synthèse et à la stabilisation du

peptidoglycane. La déstabilisation de ce constituant entraîne la mort des bactéries par choc osmotique.

D'autres antibiotiques peuvent également agir sur la paroi. Les glycopeptides, par exemple, agissent en arrêtant la synthèse du peptidoglycane en créant des liaisons entre D-Ala-D-Ala (Kapoor *et al.*, 2017).

1.3.2 Antibiotiques agissant sur la membrane cytoplasmique

La membrane plasmique sélectivement perméable des micro-organismes favorise le transport actif pour gagner de l'énergie sous forme d'ATP. Le contenu et les gradients cytoplasmiques tels que les micros et les macros molécules ainsi que les ions sont contrôlés lors d'un transport actif par des protéines de transport intégrales. La perturbation de la perméabilité membranaire sélective par des agents antibactériens entraîne une perte d'ions et un déséquilibre des gradients d'ions cellulaires entraînant des dommages cellulaires et la mort de l'organisme. Parmi les antibiotiques caractérisant ce mode d'action sont : La daptomycine, la colistine, la polymyxine B etc... (Kirmusaoglu, 2019).

1.3.3 Antibiotiques agissant sur la synthèse des protéines

Ces antibiotiques agissent sur la synthèse des protéines particulièrement sur le ribosome où la biosynthèse des protéines est catalysée en ciblant les sous-unités ribonucléoprotéiques, 30S et 50S. Parmi ces antibactériens : Les aminosides qui créent une mauvaise reconnaissance du codon d'ARNm par ARNt chargé, qui conduira ainsi à des erreurs de traduction. Les macrolides sont des antibiotiques qui se placent au début du tunnel de sortie du peptide en formation qui va conduire au blocage de la chaîne peptidique et donc la dissociation du ribosome qui est dû à la taille importante des macrolides. Les tétracyclines agissent sur les séquences conservées de l'ARNr 16S de la sous-unité ribosomale 30S. Ils empêchent la liaison de l'ARNt au site A (Kapoor *et al.*, 2017).

1.3.4 Antibiotiques agissant sur des acides nucléiques

Les quinolones interfèrent avec la synthèse des acides nucléiques en bloquant l'enzyme nécessaire à la synthèse de l'ADN qui est l'ADN gyrase qui clive l'ADN double brin et introduit des supers enroulements négatifs donnant naissance à des extrémités clivées. Ceci est nécessaire pour empêcher les brins de devenir trop super enroulés positivement lorsqu'ils sont séparés pour permettre la réplication ou la transcription. Ces antibiotiques s'associent ainsi à la sous unité A avec une haute affinité et empêche donc sa fonction de scission et de refermeture des brins.

Chez les bactéries à Gram positif, la cible de ces antibactériens est la topoisomérase IV qui clive et sépare le brin de l'ADN fille après la réplication (Kapoor *et al.*, 2017).

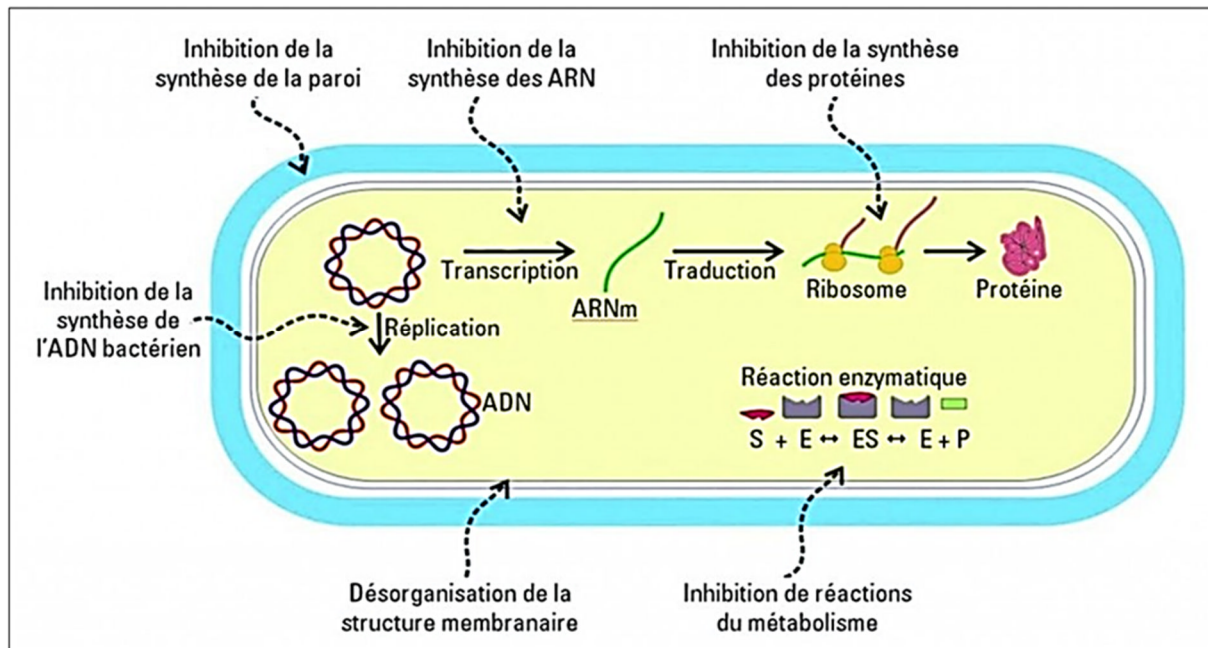


Figure 3: Cibles des antibiotiques (Kapoor *et al.*, 2017)

2 Antibiorésistance

2.1 Définition

Une bactérie est dite résistante lorsqu'elle arrive à se développer et à modifier son métabolisme pour continuer à croître et à s'adapter au milieu même en présence des antibiotiques qui est destinée pour le détruire. Il existe deux types de résistance :

2.2 Résistance naturelle

Certaines bactéries possèdent naturellement des gènes qui leur permettent de se développer en présence de certains antibiotiques (Carlson *et al.*, 1978).

2.3 Résistance acquise

Certaines bactéries sont sensibles à un ou une famille d'antibiotiques au début mais deviennent résistantes à celles-ci grâce à des mutations ponctuelles ou acquises ce qui leur permettent une grande adaptation aux milieux (Bouyahya *et al.*, 2017).

2.4 Mécanismes de résistance

Les bactéries ont développé plusieurs mécanismes afin d'échapper et de neutraliser l'action des antibiotiques. Ces mécanismes sont décrits ci-dessous :

2.4.1 Inactivation enzymatique

C'est le principal mécanisme de résistance des bêtalactames, aminoglycosides et phénicolés. Il est décrit comme le groupe MLS (macrolides, lincosamides, streptogramines), pour les tétracyclines, pour la fosfomycine et plus récemment pour les fluoroquinolones.

De nombreuses souches résistantes produisent des enzymes bêta lactamases qui modifient ou clivent les molécules d'antibiotiques qui ne reconnaissent plus leur cible, par conséquent, elles deviennent inactives. Parmi les réactions biochimiques catalysées par ces enzymes bactériennes : L'hydrolyse, l'acétylation, la phosphorylation, la nucléation, les réactions d'estérification, de réduction et d'addition du glutathion. Ces enzymes sont généralement associées à des éléments génétiques mobiles (Muylaert et Mainil, 2012).

2.4.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

Ce mécanisme de résistance est décrit presque pour tous les antibiotiques, cependant il est plus important pour les résistances aux pénicillines, aux glycopeptides, aux molécules du groupe MLS (Macrolides, lincosamines, streptogramines), chez les bactéries Gram positif, et aux quinolones chez les bactéries Gram positif et Gram négatif. La cible de l'antibiotique peut être modifiée ou remplacée de sorte que l'antibiotique ne puisse plus la reconnaître pour se fixer et exercer son activité contre la bactérie et sera donc inactivé (Muylaert et Mainil, 2012).

2.4.3 Pompe à efflux

L'efflux actif médié par des protéines transmembranaires appelées pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme exigeant en énergie produite par les cellules eucaryotes et qui est utilisé par la suite par les bactéries pour expulser des métabolites et des composés toxiques exogènes notamment les antibiotiques.

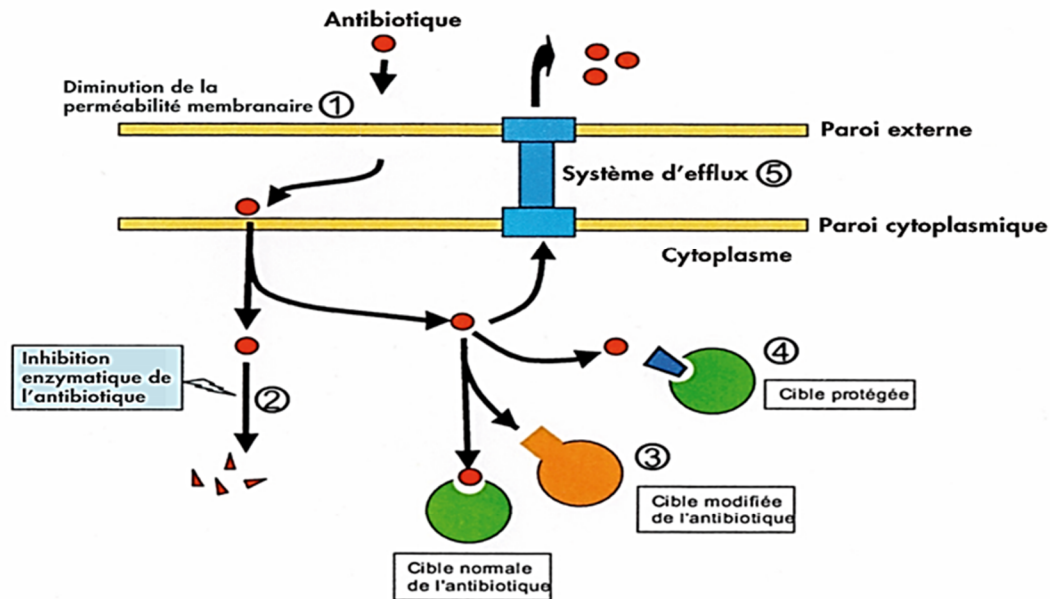
La résistance à pompe à efflux provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (Muylaert et Mainil, 2012).

2.4.4 Perméabilité réduite

Contrairement aux bactéries Gram positif, dont la structure enveloppante est assez simple, les bactéries à Gram négatif bénéficient d'une enveloppe plus complexe externe. Chez ces bactéries, les antibiotiques hydrophiles pénètrent par l'intermédiaire des protéines transmembranaires appelées « porines », alors que les molécules hydrophobes diffusent à travers la couche de phospholipides.

La diminution de la perméabilité est donc un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatif et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Enterobacteriaceae*, en raison du large spectre d'antibiotiques qu'elles ciblent.

Ce phénomène est décrit aussi pour expliquer la résistance aux aminoglycosides parmi les germes anaérobies tels que les entérocoques et les streptocoques (Muylaert et Mainil, 2012).



- (1) Diminution de la pénétration de l'antibiotique dans la bactérie.
 (2) L'antibiotique peut être inactivé par l'action d'une enzyme.
 (3) La modification de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
 (4) La protection de la cible empêche la fixation de l'antibiotique.
 (5) Les systèmes d'efflux provoquent une élimination de l'antibiotique hors de la cellule.

Figure 4 : Mécanismes de résistance des bactéries aux antibiotiques (Duval et al., 2019)

2.5 Bactéries multi-résistantes (BMR)

Les infections associées aux BMR sont aujourd'hui reconnues comme un problème majeur de santé publique et l'émergence de ces BMR sont un problème global qui ne touche pratiquement tous les pays quel que soit leurs climat (Vallière, 2017). Cette émergence est due à plusieurs raisons notamment l'utilisation intensive et anarchique des antibiotiques chez l'humain et l'animal. Les souches bactériennes hospitalières et les bactéries du bétail ont tendance à acquérir de nouveaux gènes de résistance par de la pression sélective exercée par les antibiotiques (Torumkuney et al., 2016 ; Suresh et al., 2018 ; Turner et al., 2019).

2.5.1 Définition

Les bactéries sont dites multi résistantes aux antibiotiques (BMR) lorsqu'elles deviennent sensibles à un nombre réduit d'antibiotiques, ceci est dû au fait de l'accumulation des résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques et concerne les bactéries des infections communautaires et les bactéries des infections nosocomiales causées par *Acinetobacter* par exemple. La multi-résistance est une étape vers l'impasse thérapeutique (Vincent, 2004).

2.5.2 Type de bactéries multi-résistantes

2.5.2.1 *Acinetobacter baumannii*

L'espèce *Acinetobacter baumannii* est capable de développer et d'acquérir de nouvelles résistances pratiquement à tous les antibiotiques. Elle est capable de disséminer et de persister

longtemps dans les milieux hospitaliers. Ces dernières années, cette espèce a été associée à un taux élevé de mortalité entraînant une augmentation des coûts pour les systèmes de santé du monde entier en raison de la prolongation de la durée d'hospitalisation et du traitement. En effet, sa résistance aux carbapénèmes (CRAB) a fait qu'elle est classée par l'OMS comme un des premiers agents pathogènes pour laquelle le développement et la recherche d'antibiotiques sont nécessaires (Kyriakidis *et al.*, 2021 ; Elwakil *et al.*, 2023).

En plus de la résistance d'*A. baumannii* aux bêta lactamines, ce germe a réussi à en développer d'autres : la résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones, ce qui a fait de lui un germe multi résistant.

2.5.2.1.1 Aux bêta lactamines

A. baumannii possède des mécanismes de résistances naturels aux bêta lactamines, correspondant principalement à la production d'une céphalosporinase (ou β -lactamase du type AmpC) chromosomique. Ceci a été mis en évidence par l'analyse du génome de cette bactérie qui a révélé la présence d'un gène codant pour la production des bêta lactamases (AmpC). En ce qui concerne la résistance acquise, elle est causée par la perte des PLP ou la surexpression de systèmes d'efflux (Poirel et Nordmann, 2006).

2.5.2.1.2 Résistance acquise aux aminosides

Selon MicroBIGG-E, *A. baumannii* peut résister aux aminosides selon trois mécanismes distincts : affaiblissement de la capacité de liaison des aminosides en produisant des enzymes modificatrices des aminosides, altération du site cible par les méthyltransférases d'ARNr 16S et absorption limitée des aminosides suite à une perte de perméabilité ou à une suractivité des pompes d'efflux (Kyriakidis *et al.*, 2021).

2.5.2.1.3 Résistance acquise aux fluoroquinolones

Les fluoroquinolones agissent principalement sur les enzymes bactériennes ADN topoisomérases de classe II (ADN gyrase) et de classe I. La résistance d'*A. baumannii* à cette famille d'antibiotiques est définie par les mutations des gènes codants pour les sous-unités de l'ADN gyrase (gyra et gyro) et de la topoisomérase IVe (parC et parE) (Zaki *et al.*, 2018).

1 Huiles essentielles

Les huiles essentielles ont toujours été utilisées par les humains pour se parfumer et se faire plaisir, cuisiner et aussi pour se faire soigner.

1.1 Définition

Les huiles essentielles sont des fractions volatiles très actives et aromatiques. Elles sont séparées des plantes aromatiques par des procédés physiques (**Boris et al., 2022**).

Par une autre définition, selon la pharmacopée Européenne, les huiles essentielles sont des produits odorants, généralement de composition complexe, obtenus à partir d'une matière première végétale botaniquement définie, soit par entraînement à la vapeur d'eau, soit par distillation sèche, ou par un procédé mécanique approprié sans chauffage. L'huile essentielle est le plus souvent séparée de la phase aqueuse par un procédé physique n'entraînant pas de changement significatif de sa composition (**Paris et Hurabielle, 1981**).

1.2 Localisation des huiles essentielles

Les HE peuvent occuper tous les organes ou les parties de la plante présentés dans le tableau ci-dessous (**Bencheikh, 2017**) :

Tableau I: Parties des plantes où se localisent les HE

Partie où se localise l'HE	Exemples de plantes
Fleurs	Oranger, Rose, Lavande, Girofle...
Feuilles	<i>Eucalyptus</i> , menthe, thym, laurier...
Fruits	Fenouils, épicarpes des citrus...
Tiges	Citronnelles...
Rhizomes et racines	Gingembre...
Grains	Noix de muscade
Bois et écorces	Cannelle...

1.3 Composition des huiles essentielles

L'analyse chromatographique des huiles essentielles a montré la présence des composés cités ci-dessous :

1.3.1 Terpènes et terpénoïdes

Les terpénoïdes et les terpènes constituent les molécules les plus présentes dans les huiles essentielles. Ce sont des substances volatiles bioactives qui sont utilisées pour leurs propriétés thérapeutiques. Ces substances sont aussi émises à des taux pouvant influencer la composition chimique de l'atmosphère. Ils sont de faible poids moléculaire, et ils ont la formule générale de

(C₅H₈) n. On distingue : Les monoterpènes (C₁₀H₁₆), les sesquiterpènes (C₁₅H₂₄) les triterpènes (n=6), les tétraterpènes (n=8) et les polyterpènes (Teisseire, 1991).

1.3.2 Composés aromatiques

Les composés aromatiques sont moins présents dans les HE comparés aux terpènes. Cependant ils sont considérés comme étant des composés importants du fait qu'ils sont responsables des caractéristiques organoleptiques de ces HE (Teisseire, 1991 ; Marinier et Lobstein, 2013).

1.3.3 Autres composés

Les HE ont des composés très variés, en plus des terpènes et des composés aromatiques, on trouve : Des hydrocarbures, des esters, des lactones, des aldéhydes, des alcools, des acides, des cétones, des phénols, des oxydes et autres (Teisseire, 1991).

1.4 Procédés d'extraction des huiles essentielles

Il existe plusieurs méthodes pour extraire une HE, parmi celles-ci :

1.4.1 Entraînement à la vapeur d'eau

C'est l'une des techniques les plus conventionnelles qui concerne les composantes volatiles. Le végétal est exposé à un courant de vapeur sans macération préalable, ensuite il y aura une libération de l'essence du tissu végétal, puis le mélange des vapeurs volatiles et condensé sur une surface froide. L'HE (phase organique) est en fin séparée par décantation de la phase aqueuse (Boukhatem et al., 2019).

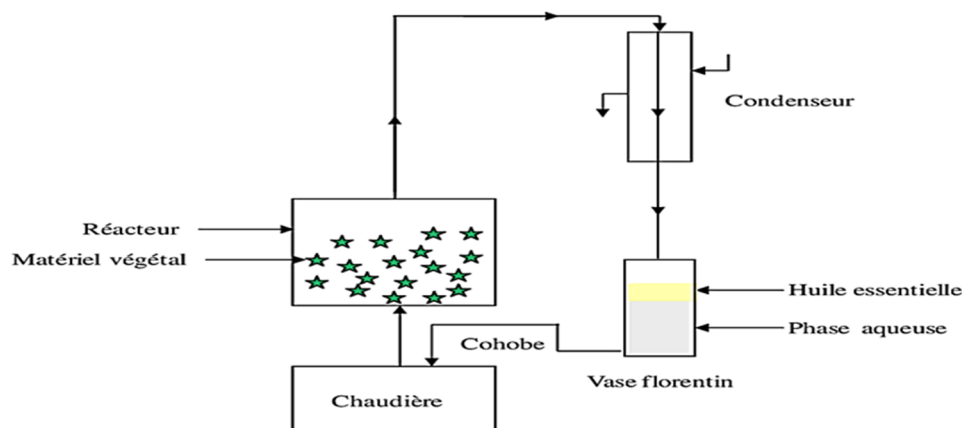


Figure 5: Principe d'extraction des HE par entraînement à la vapeur (Boukhatem et al., 2019)

1.4.2 Expression à froid

Cette technique est généralement utilisée pour extraire les HE notamment les essences volatiles contenus dans les péricarpes d'agrumes (citron, orange...) par un procédé mécanique qui consiste à rompre la poche à essence afin de récolter le contenu (HE) qui n'a subi aucun changement et aucune dégradation, ou dans d'autres cas, l'HE est séparé par décantation ou centrifugation (Boukhatem et al., 2019).



Figure 6 : Extraction des HE par l'expression à froid (Louis, 2020)

1.4.3 Extraction par hydrodistillation

Cette méthode consiste à faire immerger la matière végétale dans un bain d'eau chaude et porter le tout à ébullition. En général, le travail s'effectue sous pression atmosphérique. La distillation peut être réalisée avec ou sans cohobage de l'eau aromatique obtenue lors de la décantation. Cependant, cette technique porte des inconvénients liés à la vapeur d'eau ; En effet certaines parties des plantes, comme les fleurs, sont fragiles ce qui fait qu'elles ne peuvent pas supporter les traitements par distillation (Boukhatem et al., 2019).

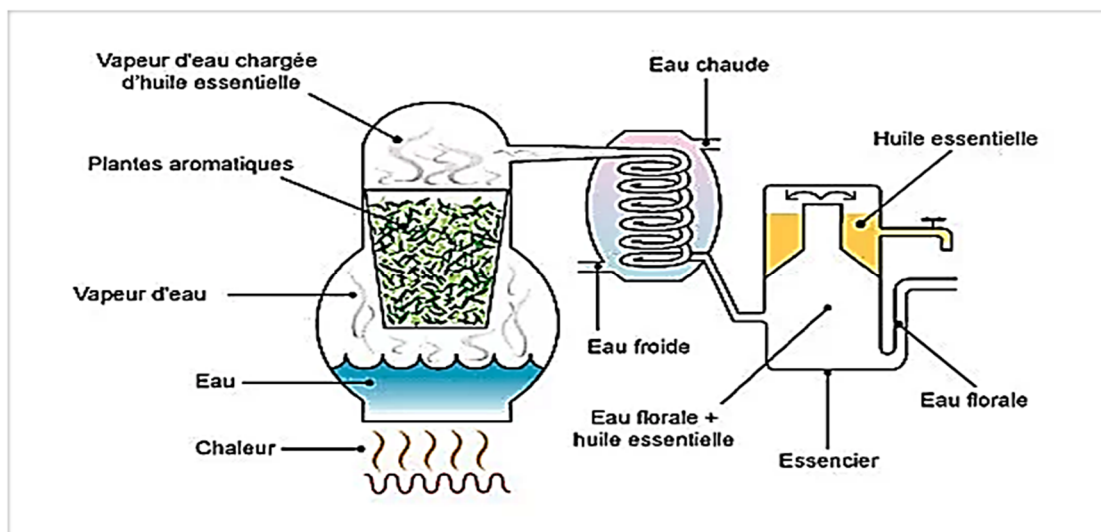


Figure 7 : Principe de l'extraction des HE par hydrodistillation (Louis, 2020)

1.5 Activité antibactérienne des huiles essentielles

L'effet antimicrobien des HE est connu et documenté depuis longtemps. Plusieurs études ont confirmé l'efficacité de leurs différentes molécules sur la propagation des agents pathogènes. On distingue un effet bactéricide des HE qui entraîne la mort de la cellule bactérienne, et un

effet bactériostatique qui entraîne uniquement l'inhibition de la croissance bactérienne (Bouyahya *et al.*, 2017).

1.5.1 Mécanismes de l'effet antibactérien des huiles essentielles

Les mécanismes antibactériens des HE sont peu connus et moins clairs à cause de leurs compositions chimiques. Cependant, plusieurs mécanismes ont pu être décrits. En effet, les HE peuvent affecter plusieurs niveaux morphologiques des bactéries ainsi que des niveaux de régulation passant par des cibles structurales (Bouyahya *et al.*, 2017).

Le tableau ci-dessous résume les différentes cibles des HE (Dorman et Deans, 2000 ; Holley et Patel, 2005 ; Tepe *et al.*, 2005).

Tableau II: Mécanismes d'action des HE

Composants des HE	Mécanismes antibactériens
Terpènes	Leurs lipophiles leur permettent d'entrer dans la double couche phospholipidique de la membrane cellulaire et de s'accumuler entre les phospholipides ce qui a entraîné un changement de conformation engendrant ainsi la perturbation de transport membranaire des éléments nutritifs.
Alcools	Activité bactéricide Par son action sur la membrane cellulaire ; perturbe sa structure et sa fonction qui entraîne la fuite cellulaire conduit à la mort de la bactérie.
Aldéhydes	Inhibition de la croissance bactérienne en interférant avec le transfert des électrons et régissant avec les protéines et les acides nucléiques.

1.6 Huiles essentielles et les infections ORL

Les HE qui sont utilisés en thérapeutique sont inscrites dans le cadre des « Médecines » dites Alternatives et Complémentaires, sont prescrites comme compléments thérapeutiques en combinaison avec le traitement conventionnel. Néanmoins, dans certains cas, les HE peuvent être plus efficaces que les autres traitements allopathiques surtout dans le cas d'affections ORL. Elles contribuent efficacement dans la lutte contre la résistance aux antibiotiques (Reynier, 2022).

1.6.1 Principales huiles essentielles utilisées en infectiologie ORL

Ce tableau suivant représente les différentes HE utilisées en cas des infections ORL (Goeb et Pessoni, 2009).

Tableau III: HE utilisées en cas d'infections ORL

Huiles essentielles	Fonction	Technique d'obtention
Thym à thymol <i>Thymus vulgaris</i>	Anti-infectieux contre les sinusites, les angines, les bronchites	Distillation à la vapeur d'eau des parties aériennes fleuries
Origan compact <i>Origanum compactum</i>	Anti-infectieux contre les sinusites, les angines, les bronchites	Distillation à la vapeur d'eau des parties aériennes fleuries
Eucalyptus radié <i>Eucalyptus radiata</i>	Fluidifiant contre les bronchites, toux grasses, sinusites, rhinites et otites séreuses	Distillation à la vapeur d'eau de ses feuilles
Laurier noble <i>Laurus nobilis</i>	Fluidifiant indiquée pour les bronchites et les sinusites	Distillation à la vapeur d'eau des rameaux feuilles
Lavande aspic <i>Lavandula latifolia</i> <i>Medik</i>	Anti-infectieux contre les rhinites, les sinusites, les trachéites, les bronchites...	Distillation à la vapeur d'eau des sommités fleuries
Romarin <i>Rosmarinus officinalis</i>	Fluidifiant contre les sinusites, les otites séreuses et les bronchites	Distillation à la vapeur d'eau de ses rameaux
Arbre à thé (tea tree) <i>Melaleuca alternifolia</i> <i>Cheel</i>	Anti infectieux, polyvalent contre les rhinites, les Sinusites et les angines	Distillation à la vapeur d'eau

2 *Eucalyptus*

Dans la famille des *Myrtaceae*, l'*Eucalyptus* constitue le genre le plus implanté dans le monde. C'est un grand arbre d'origine Australienne, existant dans plusieurs autres pays comme l'Algérie où il a été introduit en 1854 (Bachir et Benali, 2012).

La richesse de ses feuilles en huiles essentielles permet leur utilisation dans le domaine médical pour la prévention de certaines pathologies. Des études et leur utilisation traditionnelle ont montré qu'elles sont également utilisées dans le traitement des affections ORL.

2.1 *Eucalyptus globulus*

Appelé aussi Gommier bleu de Tasmanie. C'est un arbre qui appartient à la famille des Myrtacées qui pousse très rapidement et peut atteindre jusqu'à 100 mètres (**Bruneton, 2009**).

Les jeunes feuilles sont apparues en paires sur des tiges et carrées et elles mesurent de 6 à 15 cm de long et sont couvertes d'une pruine cireuse bleu-grise, tandis que les vieilles feuilles sont alternes, étroites, d'un vert foncé luisant. Elles mesurent de 15 à 35 cm de long sur des tiges cylindriques (**Goetz et Ghedira, 2012**).

Eucalyptus globulus est la principale plante médicinale importante utilisée pour soigner plusieurs infections telles que l'otite, la sinusite... fournissant les huiles essentielles utilisées et exploitées dans plusieurs domaines notamment pharmacologiques... (**Bachir et Benali, 2012**).



Figure 8 : Feuilles d'*Eucalyptus globulus* (Boukhatem et al., 2017)

2.1.1 Huile essentielle de l'*Eucalyptus globulus*

Une norme AFNOR définit l'huile essentielle d'*Eucalyptus globulus* comme étant une huile essentielle obtenue par entraînement à la vapeur d'eau des feuilles et rameaux, broyés ou non, et récemment récoltée. On distingue les huiles essentielles crues provenant d'un broyat et celles traditionnellement distillées en vrac dans l'alambic.

L'huile dérivée de cet arbre est caractérisée par sa nature liquide, couleur jaune à jaune pâle. Elle constitue un mélange de monoterpènes, de sesquiterpènes, de phénols aromatiques, d'oxydes, d'éthers, d'alcools, d'esters, d'aldéhydes et de cétones. Cette huile possède plusieurs propriétés dont l'antibactérienne. Les principaux germes sur lesquels elles ont montré un effet sont : *Listeria monocytogene*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus spp*, *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumoniae*, *Salmonella choleraesuis*, *Salmonella enteritidis*, *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* (**Koziol, 2015**).

En plus de toutes ses propriétés citées, l'huile essentielle (HE) d'*Eucalyptus globulus* est surtout connu pour ses vertus expectorantes et mucolytiques, mais elle a également des propriétés

antivirales, antifongiques, insecticides et antidouleur et appliquée aussi comme un remède contre les bronchites, la grippe, la laryngite, mal de gorge etc... (Lobstein et al., 2018).

3 Miel

3.1 Définition

Le miel est défini comme la substance sucrée naturelle produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes appelé miel de fleurs, des sécrétions des parties vivantes des plantes ou des excréments des insectes suceurs ce miel appartient au groupe de miellat, collectées par des abeilles qui sont ensuite transformées grâce à des substances spécifiques de leurs dépôts ensuite elles les laissent dans des rayons de miel pour mûrir (Bobis et al., 2020).

3.2 Composition du miel

La composition du miel diffère en fonction de son origine géographique et botanique et selon cette dernière, les miels floraux sont classés en multi floraux signifiant que le miel provient de plusieurs sources botaniques mais aucune ne prédomine, et des miels monofloraux qui principalement à partir du nectar d'un type de fleur et sont nommés en fonction de la plante dont provient le pollen.

En effet, en fonction du temps et des conditions de stockage, le miel peut subir des modifications.

Le miel est en général une solution saturée de sucres constituant environ 95 % de son poids sec avec le fructose (38 %) et le glucose (31 %) comme sucres principaux ainsi que de l'eau (environ 20 %), avec d'autres constituants mineurs tels que les protéines, les enzymes, les acides aminés, les minéraux, les vitamines, les acides organiques et les composés phénoliques qui participent à la qualité du miel et à ses effets sur la santé.

Des études récentes ont montré que le miel possède des molécules bioactives notamment des flavonoïdes et des acides phénoliques ainsi que nombreuses propriétés biologiques et pharmacologiques constituant un réel traitement préventif contre nombreuses pathologies. En effet, plusieurs preuves ont démontré que le miel est efficace pour le contrôle et le traitement des plaies, du diabète sucré, du cancer, de l'asthme ainsi que des maladies cardiovasculaires, neurologiques et gastro-intestinales (Samarghandian et al., 2017; Assagi et al., 2022).

3.3 Miel de l'*Eucalyptus*

Le miel de l'*Eucalyptus* est un miel monofloral populaire parmi ses consommateurs en raison de son arôme et des propriétés médicinales connues de la plante et plusieurs études ont été menées dans le but de déterminer la relation entre ses propriétés biologiques et sa source botanique.

En effet, environ 800 espèces d'*Eucalyptus* sont utilisées par les abeilles pour la fabrication du miel dont la matière première est le nectar (Bobis et al., 2020) qui est utilisé d'une manière remarquable comme aliment et comme étant un remède contre plusieurs pathologies, du fait de sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. De plus, le miel d'*Eucalyptus* a montré plusieurs effets biologiques et il est utilisé comme antioxydants, anti-inflammatoire, antimicrobiens etc (Assaggaf et al., 2022).

Les composés du miel d'*Eucalyptus* sont illustrés dans le tableau suivant (Assaggaf et al., 2022)

Tableau IV: la composition chimique de miel d'*Eucalyptus*

Composés	Pourcentage
Eucalyptol (1.8-Cinéole)	90,14%
Alpha Pinéne	3,85%
Gama Terpinéme	2,39%
Alpha Phellandréne	0,96%
Beta Pinéne	0,62%
Béta Myrcéne	0,48%
Camphéne	0,48%
Béta Ociméne	0,28%

Lieu et période de stage

Ce présent travail a été réalisé dans deux laboratoires, le premier est le laboratoire de microbiologie du centre hospitalo-universitaire (CHU) de Tizi-Ouzou, quant au second, c'est le laboratoire de microbiologie de la Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'université de Tizi-Ouzou, pendant 3 mois.

1 Matériel

1.1 Souches bactériennes

Des souches bactériennes de différentes espèces ont été isolées à partir de différents prélèvements de l'ORL et identifiées au laboratoire de microbiologie du CHU de Tizi-Ouzou. Il s'agit de prélèvements des narines, des oreilles, de gorge, prélèvements bronchiques, prélèvement distal protégé (PDP) et des crachats.

1.2 Matériel végétal

Le matériel végétal utilisé dans ce travail consiste en feuilles de la plante *Eucalyptus globulus* et d'une huile essentielle extraite à partir de ces feuilles.

Le matériel végétal a été collecté dans la région d'Ait Aissi, commune de Yakouren, wilaya de Tizi-Ouzou, en période de Mai 2023.

1.3 Miel

Le miel utilisé est un miel de l'arbre *Eucalyptus globulus* de la région de Laaziv (Naciria), wilaya de Boumerdes, collecté en Juin 2023.

1.4 Milieux de culture

Les milieux de culture ont été utilisés pour isoler, identifier les bactéries et les levures, ainsi que pour réaliser des antibiogrammes. Les différents milieux utilisés sont présentés en annexe **(annexe 01)**.

1.5 Antibiotiques

Différents antibiotiques ont été utilisés pour tester le profil de résistance et de sensibilité des souches bactériennes identifiées. Le tableau de l'annexe ... Récapitule l'ensemble des antibiotiques et les familles à lesquelles ils appartiennent **(annexe 02)**.

1.6 Autres

Un autre matériel non biologique est aussi utilisé au laboratoire. Il consiste en l'ensemble d'appareillage, de verreries ainsi que des outils et des réactifs. Ces derniers sont présentés en annexe **(annexe 03)**.

2 Méthodes

2.1 Réception et traitement des prélèvements

Les différents échantillons ont été acheminés à partir des différents services de l'hôpital, prélevés des patients hospitalisés (adultes et enfants des deux sexes), dans le but de réaliser des examens cytbactériologiques de crachats, prélèvement distal protégé, gorge, prélèvements bronchiques, prélèvement de narines (gauche et droite) et prélèvement des oreilles (gauche et droite), cela afin de rechercher la présence ou l'absence de germes pathogènes provoquant les infections ORL.

2.2 Traitement des prélèvements

2.2.1 Prélèvements des crachats

2.2.1.1 Conditions de prélèvement du crachat

Le crachat se fait après un bon lavage de dents et du palais afin d'éliminer le maximum de salive contenant le plus souvent des bactéries commensales. Le prélèvement doit être acheminé au laboratoire le plus vite possible (moins de 2h).

2.2.1.1.1 Examen direct

2.2.1.1.1.1 Préparation du frottis

Sur une lame, déposer une goutte de crachat et laisser sécher à température ambiante puis fixer à la chaleur du bec bunsen.

2.2.1.1.1.2 Coloration au bleu de méthylène

Cette coloration permet de mettre en évidence la présence des polynucléaires neutrophiles (PNN) et de cellules épithéliales. Elle permet également de faire un dénombrement et de déterminer la taille et le regroupement des bactéries.

La technique consiste à verser le colorant sur la lame et laisser agir pendant 10 min puis rincer, ensuite passer à l'observation au microscope optique à l'immersion au grossissement 100.

NB : Si les PNN sont inférieures à 25 et les cellules épithéliales supérieures à 25, le prélèvement est non conforme et ne pourra donc pas faire l'objet des analyses plus poussées.

2.2.1.1.1.3 Mise en culture des prélèvements

Les prélèvements sont ensemencés sur quatre milieux de cultures, Hektoen, Chapman, gélose au sang frais/cuit et Sabouraud en utilisant la technique des quatre quadrants. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

2.2.2 Prélèvements de gorge, des narines, des bronches et des oreilles

2.2.2.1 Conditions de prélèvement pour la gorge

Le prélèvement s'effectue sur deux écouvillons : Un pour la culture et l'autre pour l'examen direct et l'ensemencement sur le milieu Sabouraud.

Le prélèvement consiste à frotter les écouvillons au niveau des amygdales et des zones inflammatoires.

2.2.2.2 Conditions de prélèvement pour les narines

Le prélèvement doit être effectué sur deux écouvillons.

Il faut écouvillonner le plus profond possible avec précision de la localisation du prélèvement soit narine gauche ou narine droite.

2.2.2.3 Condition de prélèvement pour les oreilles

Le prélèvement s'effectue sur deux écouvillons, et concernant l'oreille interne, la ponction est effectuée par un spécialiste.

2.2.2.4 Isolement et ensemencement

Après la réception de deux écouvillons (oreilles, narines, gorge et bronches) au laboratoire, l'ensemencement se fait écouvillonnage en versant d'abord une petite quantité d'eau physiologique et bien homogénéisé.

Ecouvillon (1)

Après avoir déchargé l'écouvillon sur le premier quadrant de chaque milieu (GSF, GSC, Hektoen, Chapman), l'ensemencement se fait à l'aide d'une pipette Pasteur ou d'une anse à boucle. L'incubation se fait à l'étuve à 37°C.

Ecouvillon (2)

Presser l'écouvillon sur une lame stérile afin de décharger son contenu. La lame est ensuite recouverte d'une lamelle. L'observation se fait au microscope optique au grossissement 40 dans le but de mettre en évidence la présence ou l'absence de PNN et de cellules épithéliales ainsi que la flore microbienne.

2.2.3 Prélèvement distal protégé

Les PDP sont des prélèvements qui se font sous un acte infirmier par aspiration à l'aveugle des sécrétions bronchiques des patients intubés.

La technique de l'examen cytot bactériologique des PDP consiste d'abord à réaliser un état frais afin de détecter la présence ou l'absence des PNN et de la flore microbienne. Le prélèvement est ensuite ensemencé directement sur les quatre milieux avec la technique des quatre quadrants. Les boîtes sont incubées à 37°C.

2.3 Identification des souches microbiennes

Si une poussée bactérienne n'est pas observée après 24h d'incubation, les boîtes de cultures seront réincubées à la même température.

Si les cultures sont positives (développement de colonies bactériennes), les étapes d'identification sont lancées, à savoir, coloration de gram, réalisation d'un état frais....

I.1.1 Identification macroscopique

C'est la première étape du diagnostic qui se fait à l'œil nue. Elle permet l'étude de l'aspect, la taille, la forme et la couleur des colonies qui dépendent du milieu utilisé.

2.3.1 Identification microscopique

L'identification microscopique des bactéries est une étape primordiale dans le processus de détermination de leurs genres et de leurs espèces par la mise en évidence de leurs formes et leurs arrangements. Cette identification concerne principalement deux techniques : L'état frais et la coloration de Gram.

2.3.1.1 Etat frais

C'est un examen qui permet d'observer les caractéristiques des bactéries dans leurs états naturels qui sont essentiellement : La forme (cocci, bacille) le groupement (en amas, chainettes) et la mobilité des souches.

La technique consiste à déposer entre lame et lamelle une goutte d'eau physiologique dans laquelle une colonie bactérienne sera diluée, puis observer au microscope optique au grossissement $\times 40$.

2.3.1.2 Coloration de Gram

La coloration de Gram comprend plusieurs étapes (**voir annexe 04**).

2.3.2 Galerie biochimique

2.3.2.1 Test oxydase

C'est un test qui permet de détecter l'enzyme de la chaîne respiratoire « cytochrome oxydase » chez les bactéries. Il s'agit de déposer les disques d'oxydase (imprégnés de N,N,N',N'-Tetramethyl-p-phenylenediamine dihydrochloride sur une lame, ensuite l'aide d'une pipette Pasteur une colonie bactérienne est prélevée et la déposée sur le disque. L'apparition d'une couleur violette après quelques secondes signifie une réaction positive.

2.3.2.2 Test de catalase

Ce test permet de détecter la présence de l'enzyme « catalase » chez les bactéries productrices. Il repose sur la capacité de l'enzyme catalase à dégrader le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau (H_2O) et en oxygène (O_2).

La technique consiste à déposer sur une lame une goutte d'eau oxygénée (H₂O₂) puis prélever une colonie bactérienne bien isolée d'une jeune culture pure (18 à 24h d'incubation) à l'aide d'une pipette Pasteur et la dissocier dans l'eau oxygénée. Une réaction positive est traduite par une effervescence due à un dégagement gazeux ; La bactérie est donc dite catalase (+).

2.3.2.3 Test coagulase

Permet la détection de la coagulase et la différenciation entre les différentes espèces bactériennes. Cette enzyme permet aux bactéries de coaguler le plasma (provenant de l'humain ou de lapin) en formant un caillot, et la technique consiste à mettre une colonie bactérienne dans un tube contenant du plasma puis incubé à 37°C pendant 2h. La bactérie est coagulase positive s'il y a apparition d'un caillot à l'intérieur du tube à essai.

2.3.2.4 Identification par système API (Analytical Profil Index)

La galerie API est une galerie miniaturisée et standardisée de tests biochimiques. On distingue plusieurs Api parmi celles-ci : La galerie 20NE qui est destinée pour l'identification des bactéries à Gram négatif qui n'appartiennent pas à la famille des *Enterobactereaceae* tel que *Pseudomonas*, *Acinetobacter* etc. Elle consiste à préparer une suspension bactérienne puis verser une quantité dans l'ampoule d'api 20NE et procéder au remplissage de la galerie, et en ce qui concerne les tests GLU, ADH et URE ils sont mis dans les conditions anaérobiques en ajoutant l'huile de vaseline.

2.3.2.5 Identification par la galerie classique

Ce type de galerie permet d'identifier les bactéries par leur comportement biochimique. On distingue :

2.3.2.5.1 Urée indole

Permet de détecter la présence de l'uréase et la production de l'indole chez les entérobactéries. Après ensemencement et incubation, la présence de l'uréase se traduit par un virage de couleur du milieu en rouge qui est à la base jaune et la production de l'indole se traduit par une apparition d'un anneau rouge après avoir ajouté le réactif Kovacs.

2.3.2.5.2 Milieu TSI

Ce test permet de mettre en évidence la fermentation des trois glucides : le glucose, le saccharose et le lactose, ainsi que la production de H₂S et du gaz.

Après ensemencement et incubation, la fermentation du glucose se traduit par un virage de couleur du culot en rouge, et la fermentation du saccharose/ lactose par changement de couleur de la pente en rouge.

La production de H₂S se traduit par noircissement du milieu et la production du gaz par un décollement de la gélose ou d'apparition des bulles de gaz.

2.3.2.5.3 Milieu Citrate de Simmons

Il permet l'identification des bactéries qui sont capables d'utiliser le citrate comme la seule source de carbone.

Après ensemencement et incubation, la réaction positive se traduit par un virage de couleur du milieu du vert au bleu, ceci signifie que la bactérie est citrate (+) donc capable d'utiliser le citrate comme seule source de carbone.

2.3.2.6 Identification par VITEK

Le Vitek est un automate qui permet de réaliser des identifications rapides et précises ; L'identification se fait grâce à des cartes appelées « cartes Vitek » contenant de différents tests biochimiques et il existe plusieurs types qui permettent d'identifier différents groupes et espèces bactériennes (**annexe 06**).

Le Vitek fonctionne comme suit :

Prendre deux tubes secs pour chaque germe (un pour l'identification et l'autre pour l'antibiogramme) et les placer dans un portoir, puis verser 3 mL de la solution saline du Vitek dans chaque tube puis introduire quelques colonies prélevées au préalable à partir d'une culture pure sur gélose puis bien homogénéiser et les standardiser avec un densitomètre à 0,5 McFarland.

Préparer la carte qu'il faut pour chaque type bactérien et la mettre dans le tube (la languette dans le tube et la carte au niveau de l'espace prévu pour la cassette) et la même chose pour la carte de l'antibiogramme, ensuite mettre la cassette dans la première station du Vitek afin que la suspension se transfère au niveau de la carte (à travers la languette), pendant une dizaine de minutes.

Enregistrer les patients sur le logiciel correspondant et quand l'automate signale (après la dizaine de minutes), on met la cassette dans la deuxième station où le système se charge pour l'incubation et l'identification et l'antibiogramme. Après 24h, les résultats seront enregistrés et affichés dans le logiciel relié à l'automate.

2.4 Antibiogramme

Lorsqu'une bactérie est isolée et identifiée, il est primordial de rechercher son profil de sensibilité. Celui-ci permet de guider et d'orienter le médecin dans le choix d'antibiotiques adéquats et appropriés pour soigner ses patients.

2.4.1 Préparation de la suspension

Prélever quelques colonies qui sont bien isolées à partir d'une culture jeune à l'aide d'un écouvillon et le décharger dans un tube qui contient de l'eau physiologique puis bien homogénéiser le mélange (en standardisant à une densité de 0,5 McFarland ou 10^8 UFC/mL).

2.4.2 Ensemencement sur MH

Avec l'écouvillon déjà trempé dans la suspension bactérienne, réaliser un ensemencement sur toute la surface du milieu MH avec des stries très serrées. L'opération est répétée 03 fois en faisant tourner la boîte à chaque fois de 60° puis finir par passer l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.

2.4.3 Application des disques

A l'aide d'une pince stérile, déposer les disques d'ATB sur la surface du milieu préalablement ensemencée avec la suspension bactérienne en laissant une distance de 15 mm qui sépare les ATB de la périphérie de la boîte et une distance de 30 mm séparant les ATB. L'incubation se fait à 37°C pendant 24h.

Lecture

Après incubation, les résultats de l'antibiogramme sont interprétés comme suit :

S'il y a apparition de zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques, cela signifie que l'antibiotique a inhibé la croissance de la bactérie, et les diamètres de ces zones sont donc mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle et les résultats sont comparés aux valeurs standards. Les bactéries sont ainsi classées dans l'une des catégories : Sensible, intermédiaire, résistante.

Si une zone d'inhibition n'est pas apparue, cela signifie que cette bactérie est résistante à l'ATB en question, et ce dernier n'a donc pas d'effet sur la bactérie.

2.5 Préparation de la plante

Une fois la plante récoltée, les feuilles sont soumises à un séchage à l'air libre et à l'abri des rayons du soleil pour une période de 10 jours ensuite coupées.



Figure 9 : Séchage des feuilles d'*Eucalyptus globulus*

2.5.1 Extraction de l'huile essentielle

L'extraction de l'huile essentielle est faite par la méthode d'entraînement à la vapeur.

2.5.1.1 Principe

La technique a pour principe l'éclatement des vacuoles contenant de l'huile essentielle par la vapeur qui est entraînée par un générateur de vapeur.

Un volume d'eau est chauffé dans une cocotte à 100°C sous pression de 0,2-0,4 Bar. Le dispositif est branché à un tuyau métallique à un alambic qui est à son tour branché à la colonne dans laquelle l'huile passe avec l'eau florale et ceci par la vapeur entraînée par le chauffage de l'eau de la cocotte. Ce dernier passe dans l'alambic qui va engendrer ainsi l'humidification des feuilles d'*Eucalyptus* et l'entraînement de ces huiles vers la colonne qui sont récupérées dans un erlenmeyer au bout de 2h de distillation. Le mélange est ensuite laissé reposer pendant 15 minutes pour que les deux phases (huile/eau) se séparent selon leurs densités. L'HE est récupéré à l'aide d'une micropipette pour la conserver dans une petite bouteille en verre ambré à une température de 4°C (Brunton, 1993).

Les figures de la méthode d'extraction sont présentées en (annexe 11).

2.5.1.2 Rendement de l'extraction de l'huile

Le rendement de l'huile est calculé par la loi suivante :

$$R \% = (\text{Masse de l'huile essentielle} / \text{Masse de la matière sèche}) \times 100$$

La masse de l'huile essentielle obtenue est de 6,321g

La masse de la matière sèche utilisée est de 565 g

2.5.1.3 Calcul de la densité de l'huile

$$DO = M/V$$

M : masse de l'huile (6,32g)

$$DO = 0,84$$

V : volume de l'huile (7,5 mL)

$$\text{Masse volumique} = 0,84 \text{ g/mL}$$

2.5.1.4 Calcul de la densité du miel

Un volume de 5 mL été prélevé à partir du pot du miel dont la masse est de 7,561g.

La mesure de la densité du miel de l'Eucalyptus a donné une valeur de 1,51.

L'évaluation de l'activité antimicrobienne d'huile d'*Eucalyptus* et du miel est établie à partir des solutions mères et des dilutions allant de 1/2 jusqu'à 1/128 qui ont été réalisés dans le but de déterminer les CMI ; les concentrations de ces dernières sont indiquées dans les tableaux ci-dessous :

Dilutions de l'huile	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Concentrations (mg/mL)	840	420	210	105	52,5	26,25	13,12	6,56

Dilutions du miel	SM	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128
Concentrations (mg/ml)	1510	755	377,5	188,75	94,37	47,18	23,59	11,79

2.6 Evaluation de l'activité antibactérienne

L'évaluation de l'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode de disques.

2.6.1 Vérification de la pureté des souches

Les souches ont été revivifiées dans le bouillon BHIB, ensuite repiquées et isolées à nouveau dans un premier temps sur milieu Hektoen, du fait qu'il ne permet le développement qu'à un petit nombre de bactéries. Les boîtes sont incubées à une température de 37°C pendant 48h préférentiellement.

Dans un deuxième temps, à partir de l'Hektoen, les souches sont repiquées sur gélose au sang frais et incubées à la même température et la même durée.

Après avoir assuré la pureté des souches nous sommes passées aux tests antibactériens.

2.6.1.1 Préparation des dilutions de l'huile et du miel

Les dilutions suivantes sont préparées à partir de l'huile essentielle et du miel : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64, 1/128.

Les dilutions sont réalisées dans le but de déterminer la CMI de l'huile et du miel en prenant compte de la dilution qui précède la dilution qui correspond au plus petit diamètre, ceci afin de réaliser l'association entre l'huile et le miel (la dilution qui représente la CMI pour l'huile avec la dilution qui représente la CMI pour le miel).

2.6.1.2 Préparation des suspensions bactériennes

A partir des cultures jeunes, prélever des colonies et les mélanger dans de l'eau physiologique contenue dans des tubes à essai préalablement stérilisés à l'autoclave.

Bien homogénéiser les suspensions avec un vortex puis standardiser l'inoculum à une densité de 0,08 à 0,1 qui correspond à 10^8 UFC/mL à l'aide d'un spectrophotomètre réglé à 620 nm.

2.6.2 Application des disques

Sur des boîtes de Mueller Hinton ensemencées, huit disques vierges stériles sont préparés pour chaque souche et pour chacun de l'huile et du miel, dans une boîte Pétri vide et stérile et étiquetée.

Imbiber chacun des disques avec 10 μ L d'une dilution, c'est-à-dire, le premier disque avec la dilution 1/2, le deuxième avec 1/4 jusqu'à la dilution 1/128, et le dernier disque avec de l'huile/miel pures, puis laisser absorber quelques secondes, ensuite, à l'aide d'une pince stérilisée à la flamme du bec bunsen, déposer délicatement chaque disque dans la boîte gélosée ensemencée préalablement avec la suspension bactérienne.

Un disque d'antibiotique "colistine" pour lequel les *Acinetobacter* se sont avérées sensibles, est laissé comme témoin positif, et un disque vierge imprégné du diluant diméthylsulfoxyde et du bouillon tryptone soja seul (DMSO+TSB) comme témoin négatif.

L'opération est répétée trois fois pour chacune des souches et chacun de l'huile et du miel puis les boîtes sont mises au réfrigérateur pendant 2h pour la pré-diffusion de l'huile et du miel, ensuite, incubées à une température de 37°C pendant 18h à 24h. Après incubation, m'activité antibactérienne est traduite par la formation des zones d'inhibitions autour des disques dont les diamètres autour de chaque disque sont mesurés en mm avec une règle.

Une bactérie est considérée sensible aux antibiotiques et aux extraits, si le diamètre de la zone d'inhibition est $>$ à 8 mm (Moreira et al., 2005).

La méthode de diffusion de disque en milieu gélosé est citée par (Sacchetti et al., 2005 ; Celiktas et al., 2007).

La détermination de la CMI sur milieu solide est expliquée par (Fontanay et al., 2005).

2.6.3 Etude de l'activité antibactérienne de l'huile et du miel avec la technique des puits

Après avoir préparé les suspensions bactériennes et les ensemencer sur le milieu Mueller Hinton, des puits sont réalisés avec une pipette stérile. Ces derniers sont remplis avec les dilutions et l'huile/ miel. Après incubation, les diamètres formés sont mesurés à l'aide d'une règle.

NB : Cette opération a été réalisée seulement pour deux souches.

2.6.4 Association entre l'huile et le miel

2.6.4.1 Préparation du mélange huile/miel

Préparer la dilution 1/2 du miel (suivant le même protocole qui a été déjà décrit en dessus), ensuite prélever 900 μ L de la dilution 1/2 du miel et mélanger avec 100 μ L de l'huile pure et bien homogénéiser avec le vortex. Par la suite, les suspensions bactériennes seront préparées

(le même protocole qui a été déjà décrit en dessus est suivi) et au final, les milieux MH serontensemencés. Les puits déjà réalisés seront remplis du mélange huile et miel (pour chacune des souches). Après incubation, les diamètres sont mesurés avec une règle.

1 Etude prospective

1.1. Répartition globale

Au niveau du service microbiologie au CHU de Tizi-Ouzou, il a été reçu au total 208 différents prélèvements de l'ORL provenant de différents services de l'hôpital durant la période allant du 20 mars 2023 au 19 juin 2023. Parmi ces prélèvements, 75 répondaient aux critères d'infection ORL, soit un taux de 36%. Et 22 se sont avérés négatifs, soit un taux de 11%, 93 parmi ces prélèvements se sont avérés sans germes pathogènes (AGP) soit un taux de 45%, et 17 sont contaminés avec une flore bactérienne polymorphe (FPB) soit un taux de 8%.

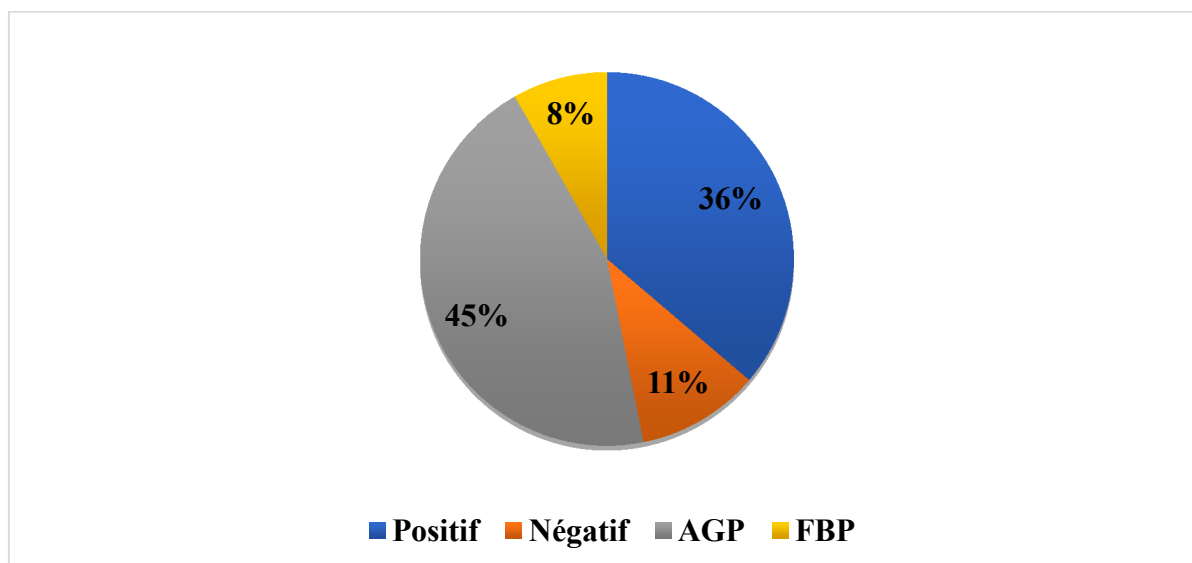


Figure 10 : Répartition global des prélèvements

Selon la figure ci-dessus, on remarque que les prélèvements (AGP) constituent le pourcentage le plus élevé, ceci est dû au fait que la sphère ORL est souvent colonisée par une flore commensale.

1.2. Répartition des prélèvements selon leur type

Au cours de la présente étude, il a été reçu plusieurs types de prélèvements qui concernent l'ORL dont 44 prélèvements de crachats, représentant 21,25%, 55 prélèvements de gorge (PG) soit un taux de 26,57%, 32 prélèvements du nez (PN) soit un taux de 15,45%, 34 prélèvements d'oreille (PO) soit un taux 16,42%, 17 prélèvements bronchiques (P BR) soit un taux de 8,21%, 23 prélèvements distal protégé (PDP) soit un taux de 11,11% et 2 prélèvements buccaux (PB) donnant le plus faible pourcentage de 0,96%.

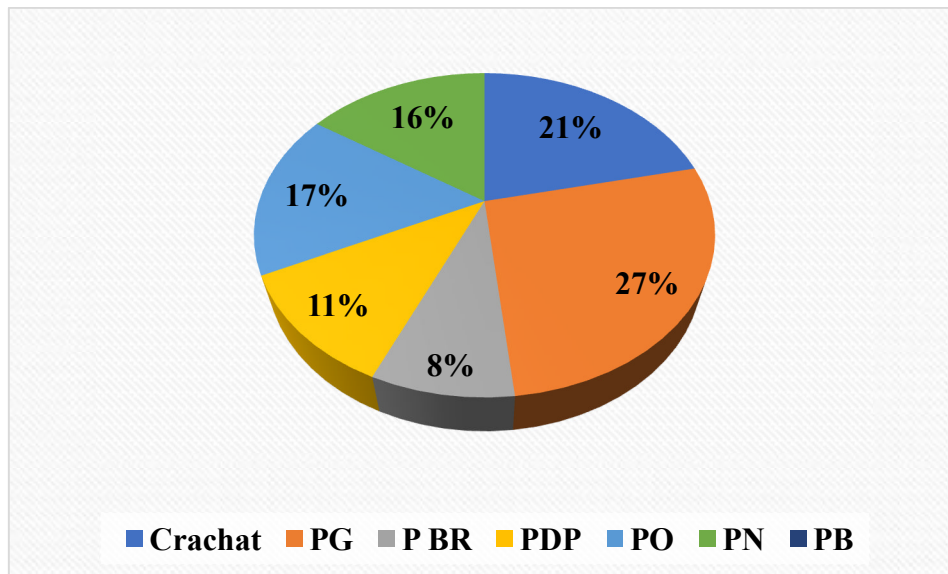


Figure 11 : Répartition selon les types de prélèvements

Les prélèvements ont été acheminés à partir des différents services de l'hôpital. Il a été constaté que parmi les 207 prélèvements, la majorité des prélèvements proviennent du service de pédiatrie (105 prélèvements avec un taux de 50,72%), 31 proviennent du service de réanimation (14,97%), 30 du service d'hématologie (14,49%), 18 sont des prélèvements externes soit (8,69%), 06 sont transportés à partir du service des maladies infectieuses (2,89%), 8 à partir des urgences (3,86 %), 4 à partir de l'unité neuro-vasculaire (1,93%), 3 à partir du service de pneumologie (1,44%) et la minorité des prélèvements ont été acheminés à partir du service de médecine interne avec un nombre de 02 (0,96%).

1.3. Répartition des prélèvements selon les services

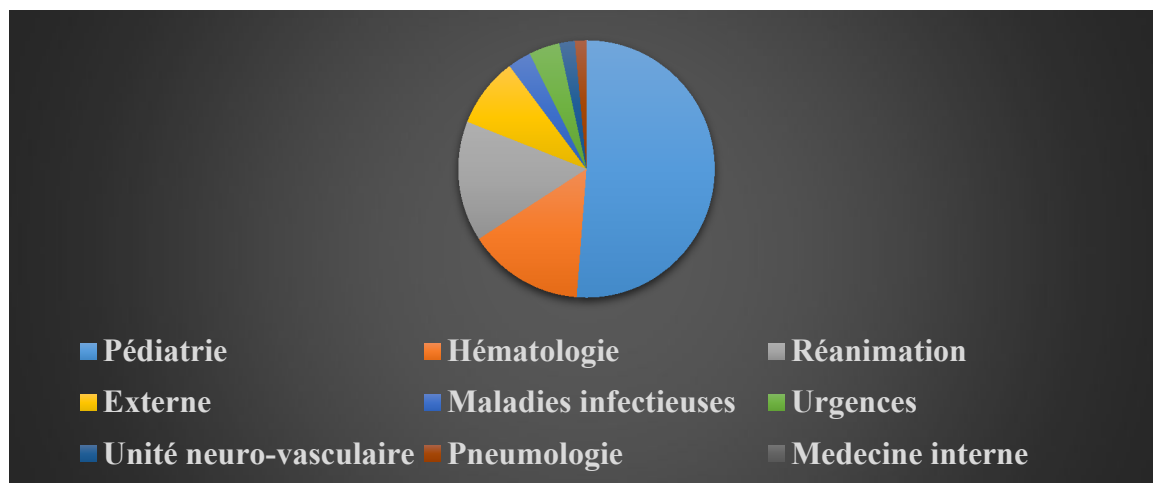


Figure 12 : Répartition des prélèvements selon les services

D'après la figure ci-dessus, il est à noter que la majorité des prélèvements proviennent du service de pédiatrie, c'est-à-dire que les enfants sont les plus touchés et les plus vulnérables,

ceci se traduit par le fait que leur système immunitaire est en cours de développement et n'est pas aussi performant pour combattre les différentes infections.

1.4. Répartition des prélèvements selon le sexe

Parmi les 207 prélèvements, les prélèvements sont comme suit : Les hommes avec 100 prélèvements (48%) et les femmes avec 107 prélèvements (52%).

Le sexe ratio est de 0,93%.

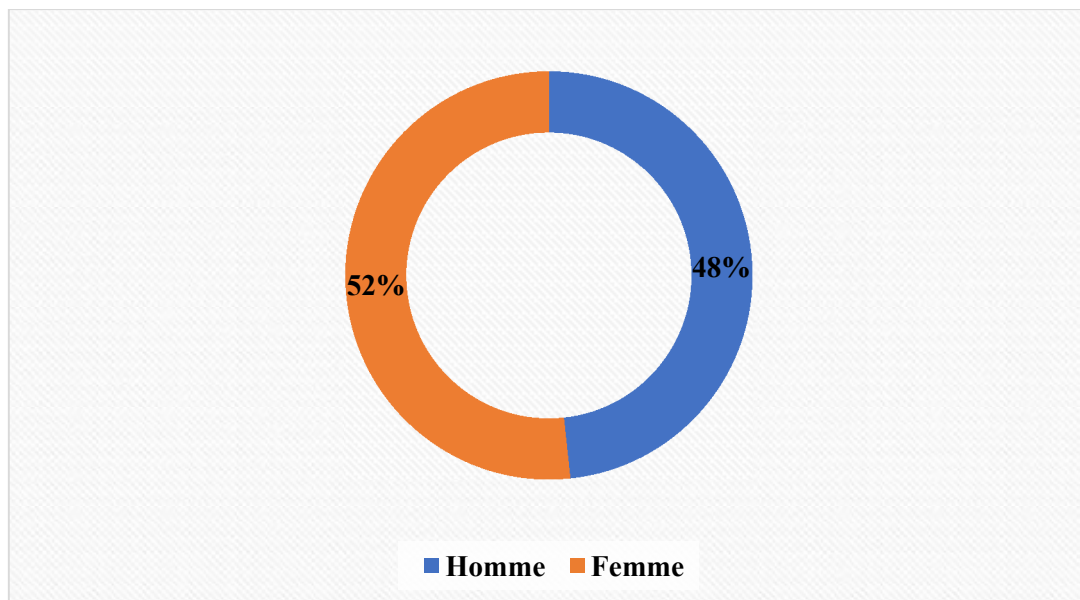


Figure 13 : Répartition des prélèvements selon le sexe

D'après la figure ci-dessus, il est constaté que le pourcentage des prélèvements d'ORL obtenus des femmes est très rapproché de celui des hommes avec une différence de 4%. Ces infections touchent aussi bien les hommes que les femmes.

Les résultats de cette étude sont différents de ceux trouvés par Ramoul et son équipe en 2013, qui eux, ont trouvé que la catégorie masculine est plus susceptible d'attraper des infections ORL que la catégorie féminine (**Ramoul *et al.*, 2013**).

1.5. Répartition des germes isolés

Dans les 75 prélèvements révélés positifs, 12 différentes espèces ont été identifiées. Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous :

Tableau V: Espèces isolées et leur fréquence

Bactéries identifiées	Nombre	Taux
<i>Staphylococcus aureus</i>	10	14,28%
<i>Acinetobacter baumannii</i>	17	24,28%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	15	21,42%
<i>Pseudomonas putida</i>	01	1,42%
<i>Escherichia coli</i>	09	12,85%
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	05	7,14%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	06	8,57%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	01	1,42%
<i>Aeromonashydrophyla</i>	01	1,42%
<i>Neisseria cinerea</i>	01	1,42%
<i>Proteus mirabilis</i>	01	1,42%
<i>Streptococcus beta hemolytique</i>	03	4,28%
Total	70	100%

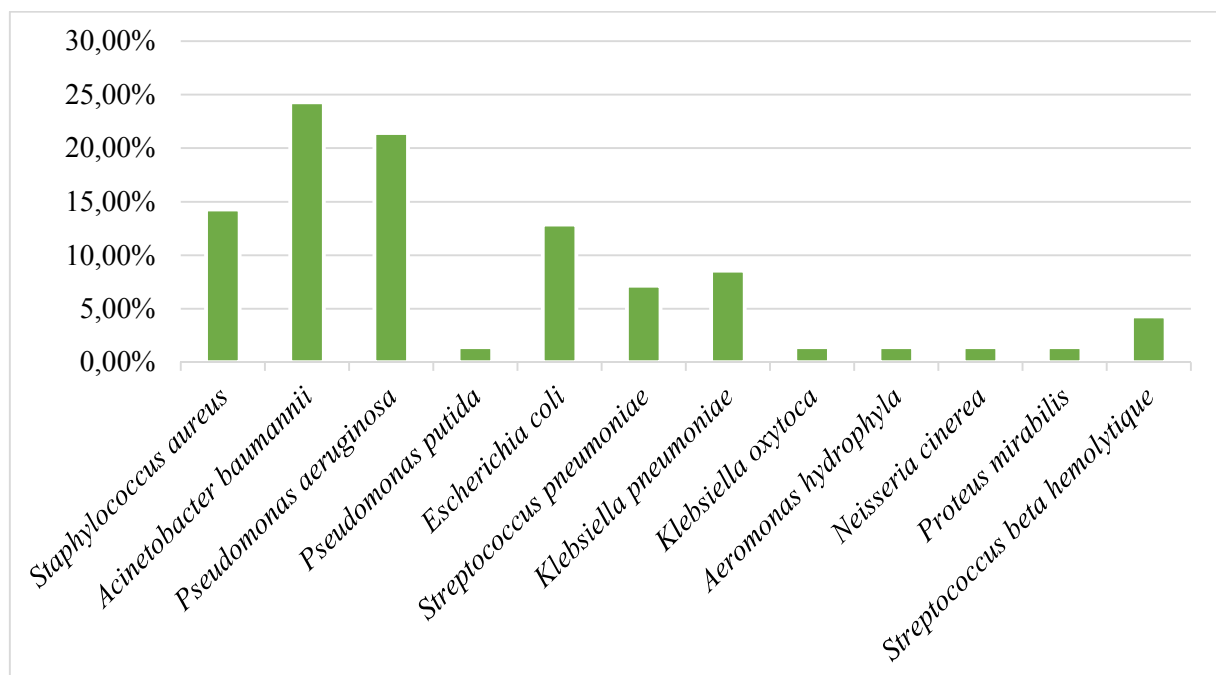


Figure 14: Répartition des germes isolés

En plus des bactéries, 16 levures ont été identifiées dont 7 espèces de *Candida albicans* et 9 appartiennent au genre *Candida* sp.

Les résultats trouvés indiquent que les souches d'*Acinetobacter baumannii* (24,28%) prédominent avec celles de *Pseudomonas aeruginosa* (21,42%). Cette dominance pourrait être traduite par leur persistance dans les milieux hospitaliers puisque ces deux bactéries sont souvent associées aux infections nosocomiales.

1.6. Profil de résistance des bactéries identifiées

1.6.1. Profil d'antibiorésistance des entérobactéries

Un antibiogramme a été réalisé aux entérobactéries suivantes : *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*. Les résultats sont illustrés dans la figure ci-dessous :

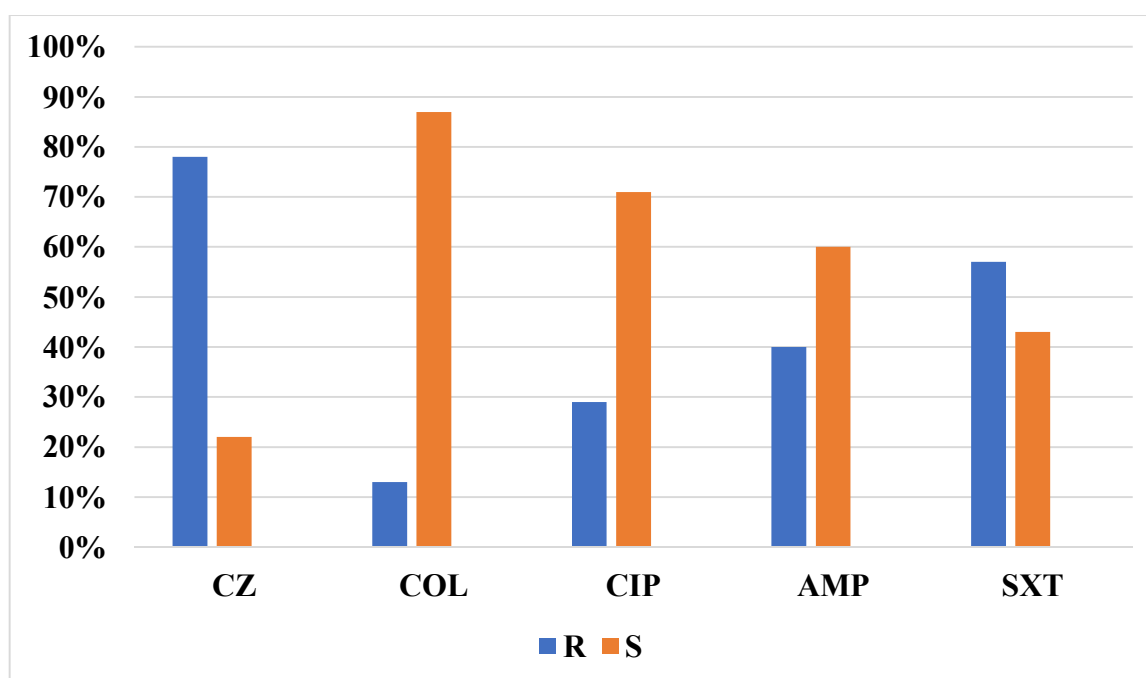


Figure 15 : Profil d'antibiorésistance des entérobactéries

Les résultats obtenus indiquent plusieurs niveaux de résistance des entérobactéries aux différents antibiotiques testés, 78% des souches testées sont avérés résistantes à l'antibiotique céfazoline, 57% sont résistantes à la triméthoprime/sulfaméthoxazole, 40% à l'ampicilline, 29% à la ciprofloxacine et 13% à la colistine.

1.6.2. Profil d'antibiorésistance de *P. aeruginosa*

La figure suivante représente les résultats de l'antibiogramme de *P. aeruginosa*.

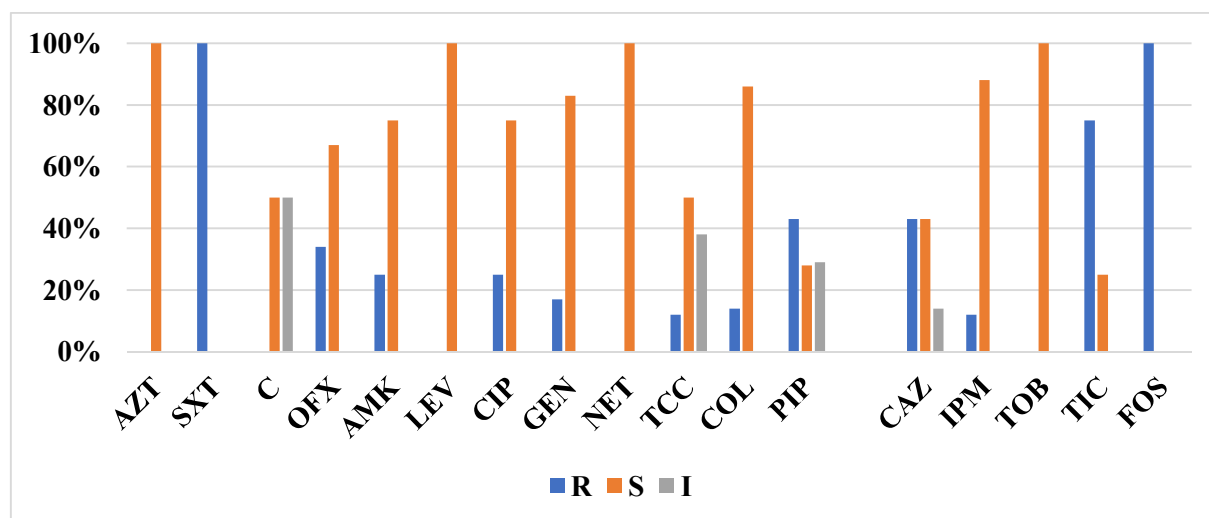


Figure 16 : Profil d'antibiorésistance de *P. aeruginosa*

Selon l'histogramme, il est constaté que la plupart des souches de *P. aeruginosa* sont sensibles à la majorité des antibiotiques dont l'aztreonam, la levofloxacine, la nétilmicine et la Tobramycine avec un taux de 100%. Des taux de sensibilité de 88%, 86% et 83% ont été enregistrés pour l'imipénème, la colistine et la gentamycine respectivement. Néanmoins, elles présentent une résistance à quelques antibiotiques à savoir la Triméthoprime/Sulfaméthoxazole, la fosfomycine avec un taux de 100%, et la ticarcilline à 75%.

P. aeruginosa possède une résistance naturelle à plusieurs antibiotiques actifs sur les Gram négatif, notamment la famille des bêta lactamines, ce qui est observé dans cette étude (résistance à la ticarcilline).

La présente étude est comparée avec une étude menée par Ben abdellahet son équipe en 2008. Ces auteurs ont trouvé un taux de résistance le plus élevé pour la fosfomycine ce qui est en accord avec les résultats de cette étude, cependant avec un taux différent à celui trouvé dans l'étude comparée (64%) (Ben abdellah *et al.*, 2008).

L'antibiotique le plus actif sur ces souches est la colistine pour laquelle aucune résistance n'a été trouvée. Ce résultat est en nette concordance avec l'étude citée ci haut. Un résultat similaire a été enregistré avec l'antibiotique imipénème, pour laquelle les auteurs ont trouvé une résistance de 19.6%, proche aux résultats de la présente étude (12%).

1.6.3. Profil d'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'antibiogramme relatifs à la résistance et la sensibilité de *Staphylococcus aureus* sont présentés dans la figure suivante :

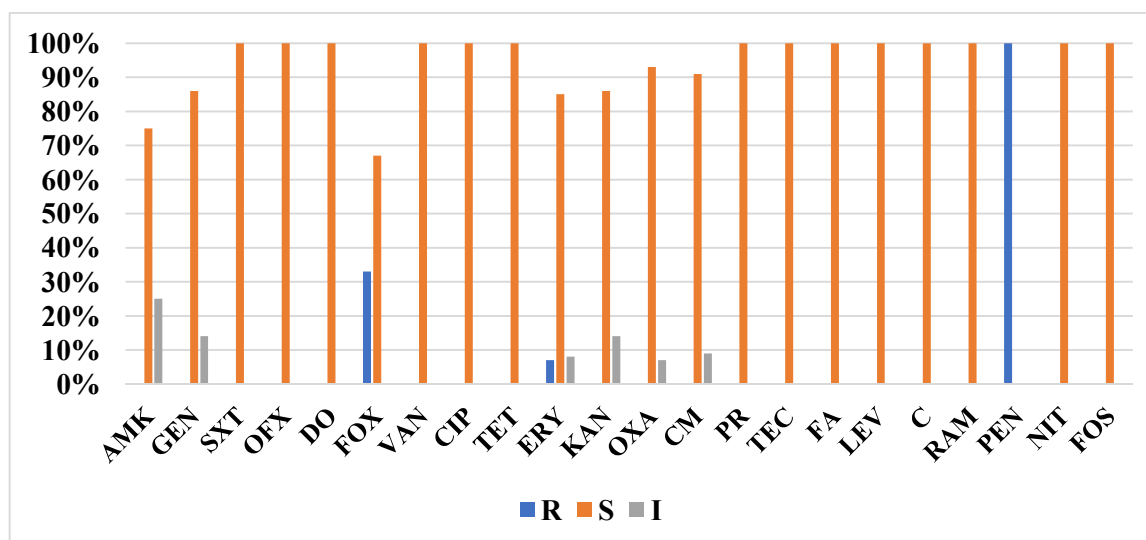


Figure 17 : Profil d'antibiorésistance de *Staphylococcus aureus*

D'après l'histogramme, il a été constaté que la majorité des souches sont sensibles aux antibiotiques suivants : l'amikacine, la triméthoprine/sulfaméthoxazole, l'ofloxacine, la doxycycline, la vancomycine, la ciprofloxacine, la tétracycline, la pristinaamycine, la teicoplanine, l'acide fusidique, la levofloxacine, le chloramphénicol, la rifampicine ainsi que la nitrofurane et la fosfomycine. Par ailleurs, toutes les souches sont résistantes à la pénicilline G, ceci est traduit par le fait que les *S. aureus* produisent des bêta-lactamases.

Ces résultats sont proches d'une étude menée par Bathokédéou et son équipe en 2013 au Tokoin CHU de Lomé. Ces auteurs ont isolé des souches résistantes à la pénicilline G à un taux de 93%, et 100% de résistance vis-à-vis de l'oxacilline et 86.66% à l'encontre de la kanamycine et la gentamycine ainsi que l'érythromycine et la ciprofloxacine (**Bathokédéou et al., 2013**).

Une autre étude menée par Salem et son groupe en 2016, où 96% à 100% des souches ont été résistantes à la pénicilline G et 100% se sont avérées sensibles à l'amikacine et la vancomycine. Ces résultats sont en accord avec ceux obtenus dans cette étude (**Ould Salem et al., 2016**).

1.6.4. Profil d'antibiorésistance de *Streptococcus* bêta hémolytique

La figure suivante représente les résultats de l'antibiogramme obtenus pour les souches de *Streptococcus* bêta hémolytiques.

Selon les résultats obtenus concernant l'antibiogramme de *Streptococcus* bêta hémolytique; une forte sensibilité a été enregistrée à la majorité des antibiotiques testés, avec une résistance à 33% vis à vis de l'Erythromycine ce qui est similaire aux résultats obtenus par une étude faite par Lloyd et son équipe en 2007. Ces auteurs ont indiqué que tous les *Streptococcus* bêta hémolytiques étaient sensibles aux bêta lactamines, et ils ont souligné aussi que ces souches sont résistantes à l'Erythromycine et cette résistance est en train d'émerger. Cependant, les

résultats de cette étude étaient différents de ceux trouvés dans la même étude qui a indiqué que ces souches sont de plus en plus résistantes à ces antibiotiques : tétracycline, clindamycine chloramphénicol ainsi qu'aux quinolones (Lloyd *et al.*, 2007).

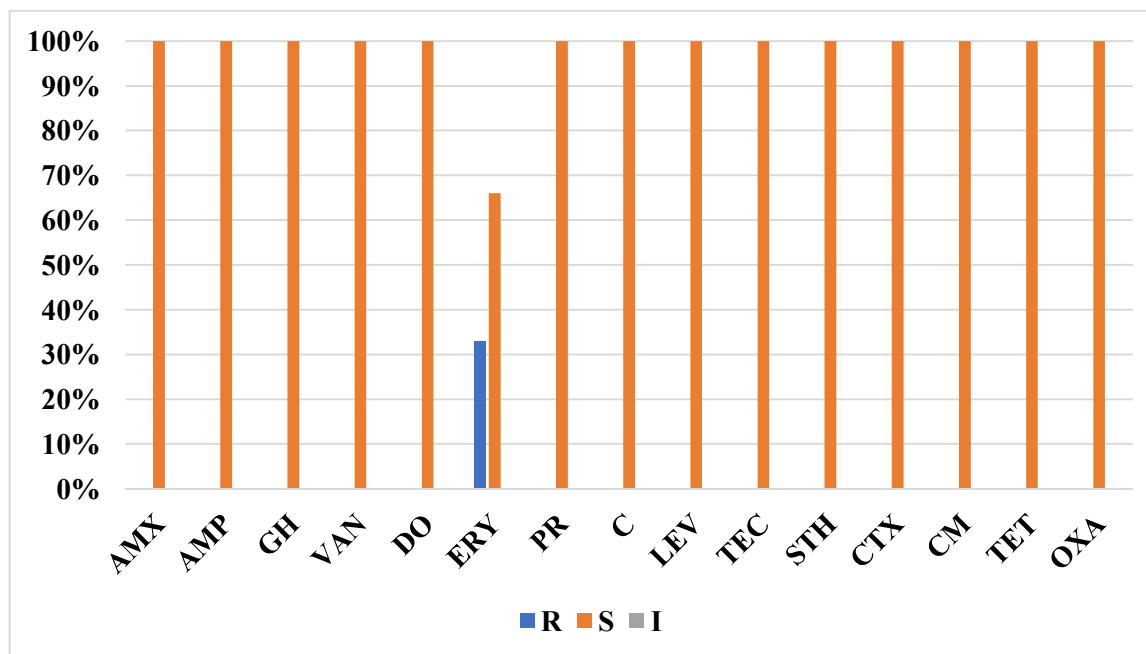


Figure 18 : Profil d'antibiorésistance de *Streptococcus* bêta hémolytique

Les résultats de l'antibiogramme relatifs à la résistance d'*A. baumannii* sont indiqués dans la figure ci-dessous :

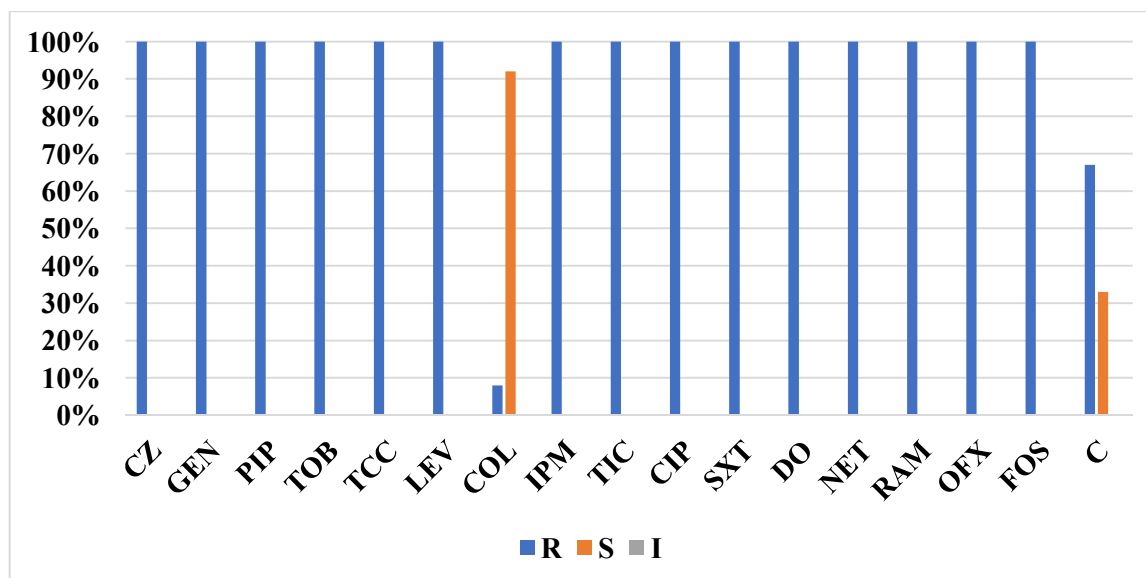


Figure 19 : Profil d'antibiorésistance d'*A. baumannii*

Le profil de résistance d'*A.baumannii* a montré un taux de résistance très élevé à la majorité des antibiotiques utilisés, cela se traduit par une multi résistance de cette souche. Cependant, il

a été constaté que les souches d'*A. baumannii* sont sensibles à la colistine et au chloramphénicol avec des taux de 92% et 67%, respectivement.

Les résultats obtenus ont été comparés à une étude menée par Uwingabiye et son équipe en 2016, dans laquelle, les résultats sont approximativement les mêmes. En effet, ils ont enregistré un taux de résistance de 87% contre la ciprofloxacine, 86% contre la céfazoline, 76% à l'imipénème et seulement 1.7% vis-à-vis de la colistine, cependant une différence est située au niveau des antibiotiques tobramycine, nétilmicine, rifampicine pour lesquelles ils ont enregistré des taux de, 43%, 33%, 32%, respectivement (taux inférieurs à ceux trouvés dans cette étude) (**Uwingabiye et al., 2016**).

Dans le même contexte, une autre étude a été menée par Batarseh et son équipe en 2016, les chercheurs sont arrivés à des résultats similaires à ceux de cette étude concernant les antibiotiques testés en commun : ticarcilline, céfazoline, piperacilline, imipénème, gentamicine, ainsi que triméthoprim/sulfaméthoxazone, et colistine. Le taux de résistance était respectivement de 100%, 98,3% (céfazoline et piperacilline), 97,4%, 87,9%, 76,7%, 75,9% et 1,7%.

Une étude menée en Tunisie par Mellouli et son groupe en 2021, qui a aussi démontré des taux de résistance semblables aux présents résultats, où des taux de résistance de 86,4% à la TCC, 95,3% à l'imipénème, 88,2% à la gentamicine 84,1% à la tobramycine, 93,5% à la Ciprofloxacine, 88,1% à la triméthoprim/sulfaméthoxazone, ont été enregistrés. Par ailleurs, un taux de 36,4% a été enregistré vis-à-vis de la rifampicine ce qui est inférieur aux résultats obtenus (**Mellouli et al., 2021**).

La multi résistance de *A. baumannii* est expliquée par le fait que ce dernier a une capacité de persister sur les milieux et par les différents mécanismes qu'il adopte pour échapper aux différents antibactériens dont les principaux sont l'inactivation enzymatique des antibiotiques, la modification de la cible ainsi que son altération due à des mutations (**Decré, 2012 ; Singh et al., 2013**).

1.6.5. Profil d'antibiorésistance de *P. putida* et *Aeromonas hydrophila*

Une seule souche de *P. putida* et de *Aeromonas hydrophila* a été isolée durant les trois mois de stage réalisé au CHU de Tizi Ouzou.

L'antibiogramme réalisé à ces deux bactéries a montré que *P. putida* est résistante à tous les antibiotiques sauf la colistine, néanmoins la souche de *A. hydrophila* a révélé une sensibilité aux antibiotiques mis à part la ticarcilline pour laquelle elle est résistante, ainsi que l'association ticarcilline/acide clavulanique pour laquelle elle est intermédiaire.

L'activité antibactérienne est déterminée par la méthode de diffusion sur milieu solide (MH) par les disques imbibés des dilutions de l'huile et du miel, avec l'utilisation de l'ATB colistine comme témoin positif et un disque vierge imbibé avec le diluant utilisée (DMSO + TSB) comme témoin négatif. Cette opération est faite en trois répétitions.

2 Activité antibacterienne de l'huile essentielle et du miel

2.1 Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'*Eucalyptus*

Le tableau suivant représente les moyennes \pm écarts types obtenus pour chacune des souches d'*Acinetobacter baumannii*.

Tableau VI: Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'huile

Souches d' <i>A baumannii</i>	Moyenne \pm écarts types
Souche 01	10 \pm 0,24
Souche 02	12,66 \pm 1,24
Souche 03	10,66 \pm 1,24
Souche 04	09 \pm 0,24
Souche 05	11,66 \pm 1,24
Souche 06	11 \pm 0,24

D'après les résultats obtenus, il s'est avéré que les 06 souches d'*A.baumannii* sont sensibles à l'huile pure. Les diamètres d'inhibition obtenus varient de 9 à 12,66 mm Ces résultats sont différents d'une étude menée par Oulkheir et son équipe en 2019. Ces auteurs ont démontré une résistance des souches d'*A.baumannii* à huile essentielle d'*Eucalyptus* avec des diamètres de 06 à 10 mm (Oulkheir *et al.*, 2019).

Dans la présente étude, il a été remarqué que seulement l'huile d'*Eucalyptus globulus* qui a donné des zones d'inhibition qui se traduit par une activité contre les souches d'*A.baumannii*. En revanche, aucune zone n'est observée autour des disques imbibés des dilutions (de 1/2 jusqu'à 1/128), ceci pourrait être expliqué par la perturbation de la synergie des différents composés chimiques contenus dans l'HE en effectuant les dilutions, conduisant ainsi à la réduction de l'efficacité de l'HE. Un autre facteur à prendre en compte influençant l'activité de l'HE, c'est les dilutions. En effet lorsque cette HE est diluée, les molécules contenues dans cette dernière qui sont responsables de l'activité inhibitrice ne sont plus suffisamment concentrées pour exercer cette activité.

En 2011, Mulyaningsih et son équipe ont montré que les souches d'*A.baumannii* étaient sensibles à l'HE d'*Eucalyptus*, et ils ont souligné que les HE d'*Eucalyptus* peuvent être une bonne source d'agents antibactériens particulièrement contre ces souches (*A. baumannii*).

Les mêmes auteurs ont indiqué que cette activité est certainement due aux différents composés de l'HE de l'*Eucalyptus* (Mulyaningsih *et al.*, 2011).

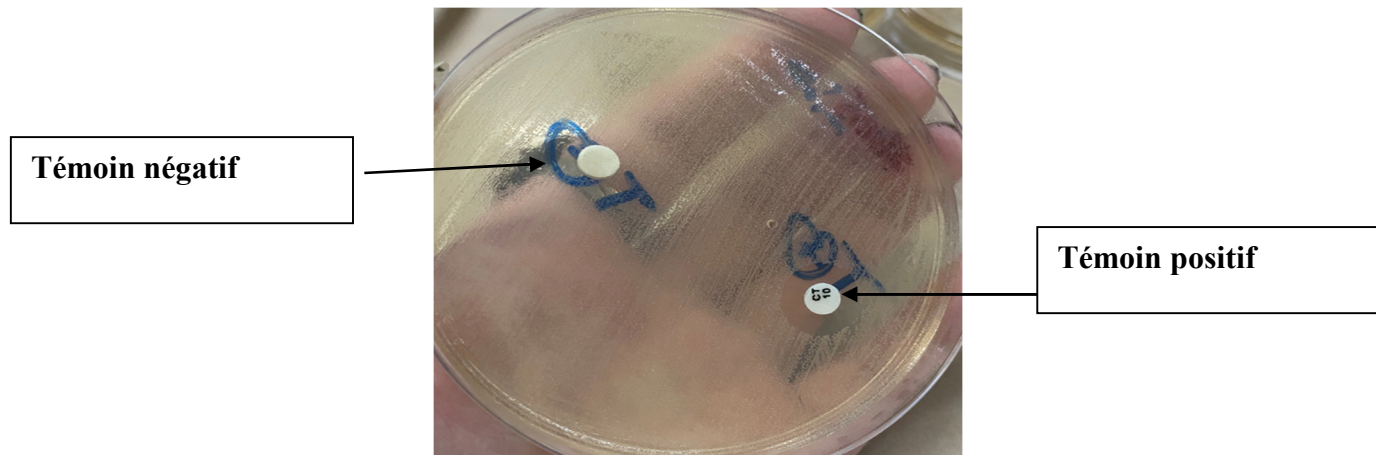


Figure 20 : Résultat du témoin positif et témoin négatif

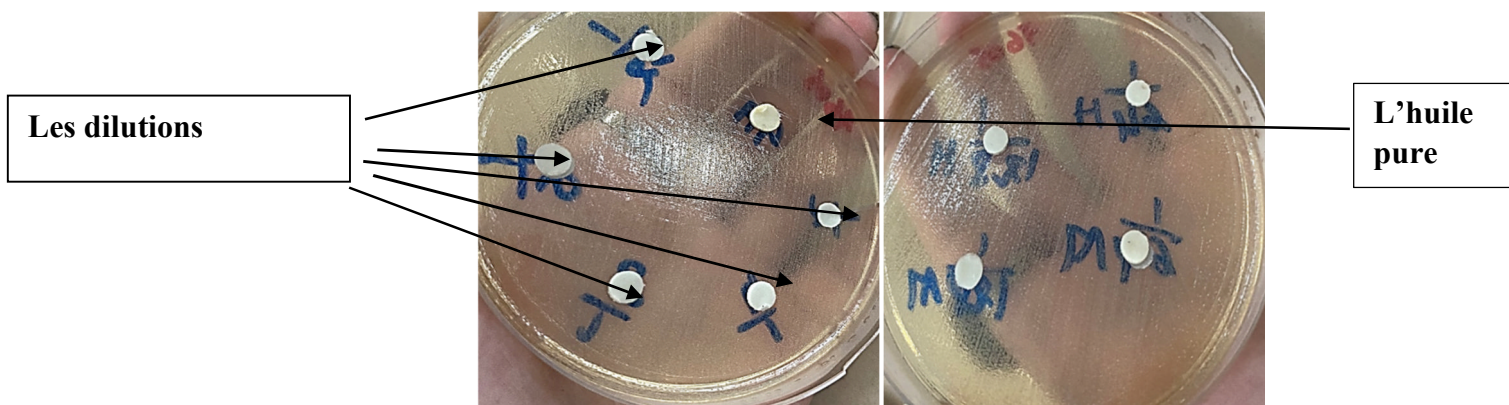


Figure 21 : Aromatogramme d'*Acinetobacter baumannii*

2.2 Evaluation de l'activité du miel

Dans cette étude, aucune zone d'inhibition n'a été obtenue, aussi bien pour le miel pur que pour les dilutions, ce qui explique que le miel n'a aucune activité sur les souches d'*A.baumannii*.



Figure 22 : Activité antimicrobienne du miel

Les résultats de cette étude sont en désaccord avec une étude menée par Nzeako et Hamdi en 2000, à l'université de Sultan Qaboos ; ces deux auteurs ont testé l'effet du miel sur les différentes bactéries notamment 06 souches *A. baumannii*. Ils ont indiqué que le miel avait une activité sur les souches testées avec des diamètres allant de 15 à 22mm (**Nzeako et Hamdi, 2000**).

Une étude *in vitro* a été faite en 2011 sur l'effet de miel sur 10 souches cliniques d'*A. baumannii* qui a inhibé la croissance des souches (**Al-Waili et al., 2011**).

L'absence de l'activité antibactérienne du miel dans cette étude pourrait être expliquée par une consommation des antibiotiques par les abeilles productrices de ce même miel lors de leur élevage, qui se retrouvent par la suite dans le miel dont les souches d'*A. baumannii* peuvent lui être résistantes, ce qui peut influencer la composition du miel et affecter son activité antibactérienne (**Renaud, 2012**).

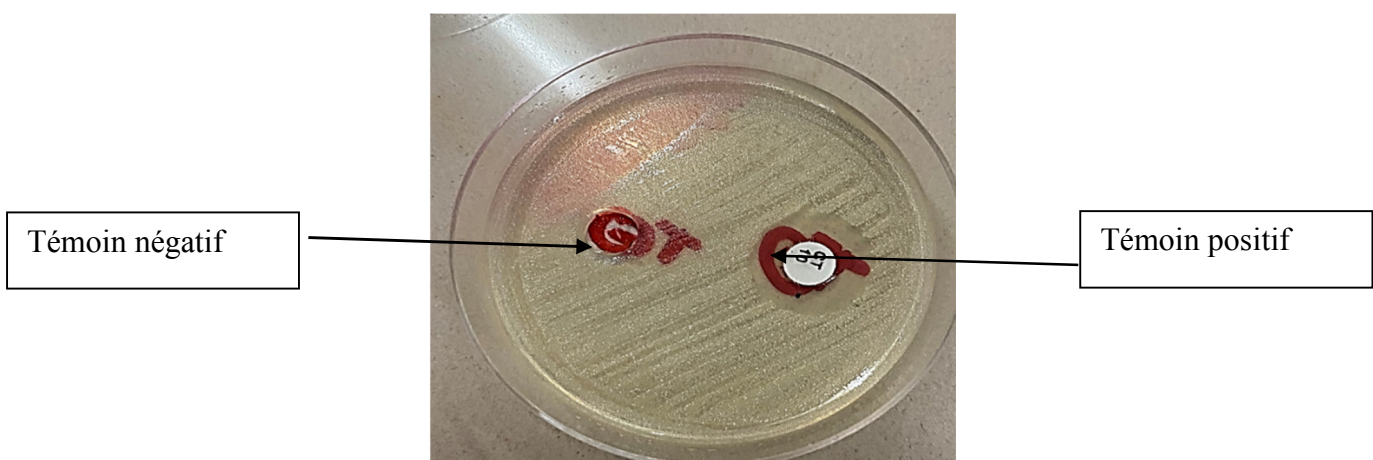
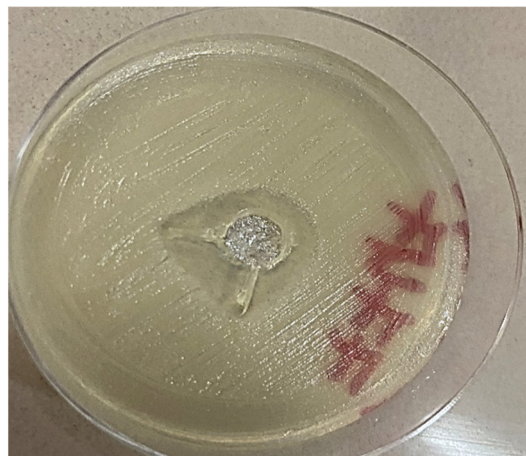
Une autre raison pourrait expliquer cette activité négative. Le miel utilisé dans le présent travail est collecté en Juin. Cette collecte est très prématurée car elle a eu lieu avant la fin de la floraison de l'*Eucalyptus* (fin Août-début Septembre). Les abeilles n'ont donc pas pu se nourrir des fleurs de l'*Eucalyptus*, et donc le miel obtenu ne contient pas les molécules nécessaires d'un bon miel antibactérien.

2.3 Activité antibactérienne de l'association huile/miel

Les résultats obtenus sont indiqués dans le tableau ci-dessous :

Tableau VII: Moyennes des diamètres des trois répétitions de l'association huile/miel

Souches d' <i>A.baumannii</i>	Moyenne \pm écarts types
Souche 01	10,66 \pm 1,24
Souche 02	13 \pm 0,24
Souche 03	10 \pm 0,24
Souche 04	9,66 \pm 1,24
Souche 05	10 \pm 0,24
Souche 06	12 \pm 0,24

**Figure 23 :** Résultat du témoin négatif et témoins positif**Figure 24 :** Résultat de l'association huile essentielle/miel

Il est à noter, des résultats obtenus, que les diamètres d'inhibition issus de l'association entre l'huile et le miel sont proches aux diamètres mesurés pour l'huile pure seule. Ce résultat confirme donc, que le miel n'a pas pu donner un effet inhibiteur de la croissance des différentes souches d'*Acinetobacter baumannii* même en changeant la méthode, de la diffusion sur milieu gélosé à celle des puits.

Les infections de l'ORL constituent un problème dans le domaine de la santé publique. Elles sont souvent à l'origine des consultations chez les médecins spécialistes. L'augmentation alarmante de l'antibiorésistance conduit à des échecs thérapeutiques notamment après l'émergence inquiétante des BMR. Cette problématique a conduit à concentrer la présente étude sur l'isolement et l'identification de l'ensemble des germes provoquant ces infections au sein du service de microbiologie du CHU Nedir Mohamed de Tizi-Ouzou dans le but d'étudier leurs profils de résistance aux différents antibiotiques. A cet issu, 70 germes ont pu être identifié, parmi eux, 06 souches d'*Acinetobacter baumannii* sont sélectionnées pour leur importante résistance aux antibiotiques.

Le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques est l'un des défis pour lequel beaucoup de chercheurs et de médecins se confortent depuis plusieurs années pour l'exploration de nouvelles molécules pour faire face à ce problème.

Ainsi, cette étude est dirigée vers la recherche d'autres alternatives à travers des produits naturels notamment l'huile et le miel d'*Eucalyptus globulus* sont connus pour leurs vertus et propriétés antibactérienne et l'évaluation de leurs potentiel inhibiteur sur les bactéries multi-résistantes en l'occurrence *A. baumannii*. L'extraction de l'huile essentielle a été faite avec la méthode de distillation par entraînement à la vapeur à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus*. L'extraction a permis d'obtenir un rendement de 1,118%. l'H.E. a donné une activité contre les souches testées avec des diamètres allant de 9 à 12,66 mm. Le miel, par contre, il n'a donné aucune activité antibactérienne sur les souches d'*Acinetobacter baumannii*.

Le présent travail, suggère d'une part, que l'huile essentielle d'*Eucalyptus* pourrait être utilisée comme option thérapeutique alternative prometteuse dans le traitement des infections provoquées par ces micro-organismes. D'autre part, bien que le miel n'ait pas présenté une activité bactérienne, il est important de souligner que ses propriétés antibactériennes peuvent varier en fonction de plusieurs facteurs, à savoir l'origine florale, le traitement des abeilles productrices ainsi que la période de collecte.

Comme perspectives, il serait intéressant de faire plusieurs collectes de miel sur des périodes différentes, opter à d'autres méthodes d'étude de l'activité antimicrobienne comme la méthode des puits, mener des études supplémentaires par exemple ; d'utiliser un autre protocole et un autre diluant afin d'explorer davantage ses propriétés antibactériennes et son utilisation potentielle dans le traitement des infections causées par *A. baumannii*.

Il est également nécessaire d'étudier le profil d'antibiorésistance des espèces bactériennes étudiées et de détermine les gènes de résistance et de réaliser des tests complémentaires comme les activités antifongiques, antioxydants etc.

A

Ashurst JV., Dawson A. (2023). *Klebsiella Pneumoniae*. In StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). PMID: 30085546.

Assaggaf H.M., NaceiriMrabti H., Rajab B.S., Attar A.A., Hamed M., Sheikh R.A., Omari N.E., Meniyi N.E., Belmehdi O., Mahmud S., Alshahrani M.M., Park M.N., Kim B., Zengin G., Bouyahya A. (2022). Singular and Combined Effects of Essential Oil and Honey of *Eucalyptus Globulus* on Anti-Inflammatory, Antioxidant, Dermatoprotective, and Antimicrobial Properties: In Vitro and In Vivo Findings. *Molecules*. 27(16): 5121. doi: 10.3390/molecules27165121. PMID: 36014359. PMCID: PMC9415335.

B

Bachir R.G., Benali M. (2012). Antibacterial activity of the essential oils from the leaves of *Eucalyptus globulus* against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Asian Pac J Trop Biomed*. Sep;2(9):739-42. doi: 10.1016/S2221-1691(12)60220-2. PMID: 23570005.PMCID: PMC3609378.

Batarseh A., Al-Sarhan A., Maayteh M., Al-Khatirei S., Alarmouti M. (2016). Antibiogram of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* isolated from clinical specimens at King Hussein Medical Centre, Jordan: a retrospective analysis. *East Mediterr Health J*. Feb 1;21(11):828-34. Doi: 10.26719/2015.21.11.828. PMID: 26857720.

Bathokédéou A., Yaotse DA., Essobozou P., EyawelhonK.(2013). Profil bactériologique des sinusites maxillaires chroniques suppurées d'origine nasale de l'adulte au CHU Tokoin de Lomé [Bacteriological. *Pan Afr Med J*. 11;16:48. French. Doi: 10.11604/pamj.2013.16.48.1210. PMID: 24648861; PMCID: PMC3951781.

BeguetF.(2021). Modélisation et description par graphes pour des formes géométriques complexes Application aux structures de l'oreille. Thèse en vue d'obtention de diplôme de doctorat, université d'Aix Marseille, Page 20.

Ben Abdallah H., Noomen S., Ben ElhadjKhélifa A., Sahnoun O., Elargoubi A., Mastouri M.(2008). Profil de sensibilité aux antibiotiques des souches de *Pseudomonas*

Références bibliographiques

aeruginosaisolées dans la région de Monastir, Médecine et Maladies Infectieuses. Volume 38, Issue 10, Pages 554-556, ISSN 0399-077X.

Bencheikh Salah Eddine. (2017). Etude De L'activité Des Huiles Essentielles De La Plante *TeucriumPoliumSspAurasianumLabiatae*. Thèse En Vue De L'obtention De Diplôme Doctorat. UniversitéKasdiMerbah – Ouargla page 07

Bergogne-Bérézin E. (2008). Importance of *Acinetobacter* spp. In *Acinetobacter* Biology and Pathogenesis. E. Bergogne-Bérézin, H. Friedman, and M. Bendinelli, eds. (Springer US), pp. 1–18.

BerthélémyS.(2010). Les infections virales de la sphère ORL. Volume 49, Issue 494, 15-17 p.

Biquand A. (2018). Les infections à *Pseudomonas aeruginosa* et leurs traitements. Thèse en vue du diplôme d'état de docteur en pharmacie. 13 p.

Boris Merlain K., Djousse1., Nasse F., Ngoune1., Henri G., Djoukeng1., Leonel W., Nono1., Harry S., Sogang1., Julius K., Tangka1. (2022). Extraction Et Caractérisation Des Huiles Essentielles De Trois Plantes Aromatiques Cultivées A L'ouest-Cameroun : *RosmarinusOfficinalis*, *Salvia Officinalis* Et *CymbopogonCitratu*s, Cameroon Journal Of Biological And Biochemical Sciences. Vol 30, Serie 2, 121-133.

Boukhatem M., Ferhat A., Kameli A. (2019). Méthodes d'extraction et de distillation des huiles essentielles. *RevAgrobiologia* 9(2): 1653-1659. Département de Biologie et Physiologie Cellulaire, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Université – Saad Dahlab - Blida 1, Blida, Algeria ;Laboratoire Ethnobotanique et Substances Naturelles, Ecole Normale Supérieure, Vieux-Kouba, Alger, Algeria ; Laboratoire de Recherche sur les Produits Bioactifs et Valorisation de la Biomasse, Ecole Normale Supérieure, Vieux-Kouba, Alger.article

Boukhatem, MN., Ferhat MA., Kameli, A. (2018). *Eucalyptus globulus* (Labill.) : un arbre à essence aux mille vertus. *Phytothérapie*. Doi :10.3166/phyto-2019-0146.

Bouyahya A., Bakri A., Et-Touys A., Talbaoui A., Khouchlaa S., Charfi J., Abrini N., Dakka. (2017). Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries. DOI : 10.1007/s10298-017-1118-z.

Références bibliographiques

Bretmaier P. (2006). Terpenes Flavors Fragrances, Pharmaca ,Pheromones. Tec&Doc, Lavoisier. Weinheim, Germany.

Brady MF., Jamal Z., Pervin N. (2023). *Acinetobacter*. Dans : StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls.

Bruneton, J. (2009). Pharmacognosie, phytochimie, plantes médicinales. 4ème édition. Edition Tec & Doc, Lavoisier.

Bobis O., Moise AR., Ballesteros I., Reyes ES., Durán SS., Sánchez-Sánchez J., Cruz-Quintana S., Giampieri F., Battino M., Alvarez-Suarez JM. (2020). Eucalyptus honey: Quality parameters, chemical composition and health-promoting properties. Food Chem. Apr 28;325:126870. Doi: 10.1016/j.foodchem..126870. Epub ahead of print. PMID: 32387927.

Bush L MD., FACP Charles E., Schmidt. (2022). *Pseudomonas* and Related Infections College of Medicine, Florida Atlantic University.

Bush LMD., FACP., Charles E., Schmidt. (2022). Présentation des bactéries, College of Medicine, Florida Atlantic University.

C

Carlsson AS., Josefsson G., Lindberg L. (1978). Revision with gentamicin-impregnated cement for deep infections in total hip arthroplasties. J Bone Joint Surg Am. Dec;60(8):1059-64. PMID: 721853.

Celiktas, O.Y., Hames Kocabas, E.E., Bedir, E., Vardar Sukan, F., Ozek, T., Baser, K.H.C., 2007. Antimicrobial activities of methanol extracts and essential oils of *Rosmarinus officinalis*, depending on location and seasonal variations. Food Chem., 100: 553-CMI de 5 et 10 µg/ml respectivement et ceci est en accord avec nos résultats.

D

Demoré B., Grare M., Raphaël D. (2018). Généralités sur les antibiotiques par voie systémique et principes d'utilisation. Samuel Limat; Antoine Dupuis; Philippe Fagnoni; Béatrice Demoré;

Références bibliographiques

Christine Fernandez; Gilles Aulagner; Jean-Louis Cazin. Pharmacie Clinique et Thérapeutique, 5ème édition, Elsevier, pp.755-789.e1,9782294750779. [<hal-02146351>](#).

Decré D. (2012). *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques: Un modèle d'adaptation. Revue Francophone des Laboratoires. Vol 42 - N° 441 P. 43-52 ISSN 1773-035X. Doi Y., Murray GL., PelegAY.(2015). *Acinetobacter baumannii*: evolution of antimicrobial resistance-treatment options. Semin Respir Crit Care Med. Feb;36(1):85-98. Doi: 10.1055/s-0034-1398388. Epub 2015 Feb 2. PMID: 25643273.PMCID: PMC4465586.

Dorman H J D., Deans S G. (2000).Antimicrobial agents from plants: Antibacterial activity of plant volatile oils. Journal of Applied Microbiology, (88): 308-316.Doi : 10.1046/j.1365-2672.2000.00969.x.

Doughari HJ., Ndakidemi PA., Human IS., Benade S. (2011).The ecology, biology and pathogenesis of *Acinetobacter* spp.: an overview. Microbes Environ. 26(2):101-12. Doi: 10.1264/jsme2.me10179. PMID: 21502736.

E

Elangovan S., MudgilP.(2023). Antibacterial Properties of *Eucalyptus globulus* Essential Oil against MRSA: A Systematic Review. Antibiotics (Basel). Feb 27;12(3):474. Doi: 10.3390/antibiotics12030474. PMID: 36978341. PMCID: PMC10044518.

Elwakil WH., Rizk SS., El-Halawany AM., Rateb ME., Attia AS.(2023). Multidrug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections in the United Kingdom versus Egypt: Trends and Potential Natural Products Solutions. Antibiotics (Basel). Jan 1;12(1):77. Doi: 10.3390/antibiotics12010077. PMID: 36671278.PMCID: PMC9854726.

F

Fontanay, Stéphane, Marie-Eugénie Mougenot, et Raphaël E. Duval. « Évaluation des activités antibactériennes des huiles essentielles et/ou de leurs composants majoritaires », Hegel, vol. 2, no. 2, 2015, pp. 109-118.

Références bibliographiques

Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel Ph. (2018). Précis de bactériologie clinique. 3^{ème} édition. Ed Eska / Lacassagne.

G

Garrity GM., Johnson KL., Bell J., Searles DB. (2002). Bergy's Manual of Systematic Bacteriology. second ed. Springer-verlag, New York. 60.

Guillaume Trau. (2021). Evaluation scanographique d'un nouveau ballonnet asymétrique pour le traitement des épistaxis. Thèse en vue de l'obtention diplôme de docteur en médecine.

Université de strasbourg faculte de medecine, maïeutique et sciences de la sante. Pages 23-26.

Goeb P., PESONI D. (2009). Huiles essentielles - Guide d'utilisation Paris, Editeur Ravintsara, P 128.

Goetz P., Ghedira K. (2012). Phytothérapie infectieuse, Springer Verlag, France, Paris, P 272.

Guillaume M. (2021). Étude d'un robot d'assistance pour la chirurgie endoscopique otologique et sinusienne. Thèse en vue d'obtention de doctorat, université de Nantes, 25-39 p.

H

Hawkey P., Bergogne-Berezin E. (2006). *Acinetobacter* spp. In Principles and Practice of Clinical Bacteriology, S.H. Gillespie, and P.M. Hawkey. eds. (John Wiley & Sons, Ltd), pp. 231–244.

Holley RA., Patel D. (2005). Improvement in shelf-life and safety of perishable foods by plant essential oils and smoke antimicrobials. Food Microbiology, 22: 273–292. Volume 22, Numéros 2–3.

J

Jerry L. (2020). Les différents techniques d'extraction des huiles essentielles. URL : <https://nidoessentialoil.com/extraction-des-huiles-essentielles/>

Julie. (2019). ORL et audioprothésistes, des métiers bien différents. URL : <https://www.elixir-audition.fr/orl-et-audioprothesistes-des-metiers-bien-differents/>

K

Références bibliographiques

Kapoor G., Saigal, S., Elongavan, A. (2017). Action and resistance mechanisms of antibiotics: A guide for clinicians. In *Journal of Anaesthesiology Clinical Pharmacology*. Vol. 33, Issue 3, pp. 300–305. Medknow Publications.

Khattak ZE., Anjum F.(2022). *Haemophilus Influenzae*.In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearlsPublishing.PMID: 32965847.

Kırmusaoğlu S., Gareayaghi N., Kocazeybek., B. (2019). Introductory Chapter: The action mechanisms of antibiotics and antibiotic resistance. In *antimicrobials, antibiotic resistance, antibiofilm strategies and activity methods*. IntechOpen.

Koziol N.(2018). Huiles essentielles d'*Eucalyptus globulus*, d'*Eucalyptus radiata* et de *Corymbiacitriodora* : qualité, efficacité et toxicité. Thèse en vue d'obtention de diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, 51-56 p.

Kullar P., Yates PD.(2012). Infections and foreign bodies in ENT. *Surgery*;30(11):590-596.Doi: 10.1016/j.mpsur.2012.09.005. PMID: 27057069.PMCID: PMC4821371.

Kyriakidis I., Vasileiou E., Pana ZD., TragiannidisA.(2021). *Acinetobacter baumannii* Antibiotic Resistance Mechanisms *Pathogens*. 10(3):373. Doi: 10.3390/pathogens10030373.PMID: 33808905.PMCID: PMC8003822.

L

Le Minor L., Véron M. (1989). *Bactériologie médicale*. 2ème édition, Flammarion Médecine-Sciences, editeur Paris : Médecine-Sciences Flammarion: 428-432. 1 vol. (XVIII-1107 p.) : ill. ; 28 cm.

Le Minor L., Sansonetti Ph., Richard Cl., Grimont F., Mollaret H., Bercavier H., Alonso JM. (1990). Entérobactéries. In *Bactériologie Médicale*, Léon Le Minor et Michel Véron. 390-472. Médecine-sciences, Ed Flammarion.

Lloyd CA., Jacob SE., Menon T.(2007).Antibiotio resistant beta-hemolytic *streptococci*. *Indian J Pediatr*. 74(12):1077-80. Doi: 10.1007/s12098-007-0200-1. PMID: 18174640.

M

Mandal MD., Mandal S. (2011).Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pac J Trop Biomed.1(2):154-60. Doi: 10.1016/S2221-1691(11)60016-6. PMID: 23569748. PMCID: PMC3609166.

Marinier F., Lobstein A.(2013).Composition chimique des huiles essentielles, Actualités Pharmaceutiques,Volume 52, Issue 525, Pages 22-25,ISSN 0515-3700.

Mellouli A., Maamar B., Bouzakoura F., Messadi AA., Thabet L.(2012). Colonisation Et Infection À *Acinetobacter Baumannii* Dans Une Unité De Réanimation Des Brûlés En Tunisie. Ann Burns Fire Disasters.;34(3):218-225. French. PMID: 34744536.PMCID: PMC8534301.

Moreira M.R., Ponce A.G., Del Valle C.E. et Roura S.I. (2005). Inhibitory parameters of essential oils to reduce a foodborne pathogen. LWT- Food Science and Technology., 38 : 565-570.

Mulyaningsih S., Sporer F., Reichling J., Wink M.(2011). Activité antibactérienne des huiles essentielles d' eucalyptus et de composants sélectionnés contre les agents pathogènes bactériens multirésistants, Pharmaceutical Biology. Pages 893-899, DOI: 10.3109/13880209.2011.553625.

Muylaert A., MainilJG.(2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ».Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège.109-123 p.vol 156 .

N

NewbergerR., Gupta V.(2023). *Streptococcus* Group A.. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL):StatPearlsPublishing. PMID: 32644666.

O

OmeiriJ. (2015). Utilisation des huiles essentielles dans la sphère ORL : prise en charge globale officinale. Thèse en vue d'obtention du titre de docteur en pharmacie diplôme d'état, université joseph fourier faculté de pharmacie de grenoble, page 13.

Références bibliographiques

Oulkheir S., boumariem H., dandi H., aghrouch M., ounineK.,douira A., smail C.(2019). Antimicrobial Activity Of Four Essential Oils Extracted From Plants Commonly Used In Traditional Medicine Against Some Clinical Strains, High Institute of Nursing Professions and Health Techniques ISPITS Agadir, Morocco Laboratory of Medical Analysis Hospital Hassan II, Agadir, Morocco Laboratory of Applied Microbiology Department of Biology, Faculty of Sciences Ibn Tofaïl University Box 133, 14000 Kénitra, Vol. 65 No. 2 2019, pages 23-29. DOI: 10.2478/hepo-2019-0010.

OpatowskiM.(2021). Résistance bactérienne aux antibiotiques, apport du système national des données de santé. Thèse en vue d'obtention du diplôme de doctorat, université de Paris-Saclay.

P

Paris M., HurabielleM.(1981).Abrégés de matière médicale : Pharmacognosie (1) Généralités Monographies. Paris, Editeur Masson.

Podschun R., Ullmann U.(1998). *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. Clin Microbiol Rev.;11(4):589-603. Doi: 10.1128/CMR.11.4.589. PMID: 9767057 .PMCID: PMC88898.

Poirel L., Nordmann P.(2006). Résistance aux β -lactamines chez *Acinetobacter baumannii* : évolution et émergence de nouveaux mécanismes Resistance to β -lactams of *Acinetobacter baumannii*: evolution and emergence of new mechanisms.Service de Bactériologie-Virologie Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, et Unité UPRES EA3539 « Mécanismes Emergents de Résistance aux Antibiotiques », Faculté de Médecine Paris-Sud, 94275 Kremlin Bicêtre, Antibiotiques Volume 8, Issue 2, , Pages 100-107.

R

Ramoul A., Hammami S., Dekhil M., Amiri S., Slim A., Boutiba-Ben Boubaker I. (2013). Phenotypic and genotypic characterization of clinical multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* from Algerian intensive care units. Afr.J.Microbiol.Res. 7:868-874.

Références bibliographiques

Rehman K., Fiayyaz F., Khurshid M., Sabir S., Akash H. (2019). Antibiotics and antimicrobial resistance: Temporal and global trends in the environment. In Antibiotics and Antimicrobial Resistance Genes in the Environment. Volume 1 in the Advances in Environmental Pollution Research Series (pp. 7–27). Elsevier.

Renaud D. (2012). Mise au point d'une méthode de dépistage des antibiotiques dans le miel par chromatographie liquide couplée à la spectrométrie de masse en tandem. Thèse en vue d'obtention de diplôme de doctorat, université de Nantes, pages 7-8.

Reynier C. (2022). Guide des huiles essentielles dans les pathologies ORL et cutanées : cas de comptoir et fiches pratiques. Thèse en vue d'obtention de grade de docteur en pharmacie, université d'Aix Marseille, 1 : 1-129.

S

Sacchetti, G., Maietti, S., Muzzoli, M., Scaglianti, M., Manfredini, S., Radice, M., Bruni, R., 2005. Comparative evaluation of 11 essential oils of different origin as functional antioxidants, antiradicals and antimicrobials in foods. Food Chem., 91: 621- 632.

Salem ML., Ghaber SM., Baba SE., MaouloudMM.(2016). Sensibilité aux antibiotiques des souches de staphylococcus aureus communautaires dans la région de Nouakchott (Mauritanie) [Antibioticsusceptibility of community-acquired strains of *staphylococcus aureus* in Nouakchott Region (Mauritania)]. Pan Afr Med; 24:276. French. Doi: 10.11604/pamj.2016.24.276.9865. PMID: 28154631.PMCID: PMC5267866.

Samarghandian S., Farkhondeh T., SaminiF.(2017). Honey and Health: A Review of Recent Clinical Research. Pharmacognosy Res. 121-127. Doi: 10.4103/0974-8490.204647. PMID: 28539734.PMCID: PMC5424551.

Sacko HB. (2004).Coursd'Oto-rhino-laryngologie. ISBN : 978-29518377-1-3 .Paris..Editeur PRO OFFICINA.

Singh H., Thangaraj P., Chakrabarti A. (2013). *Acinetobacter baumannii*: A Brief Account of Mechanisms of Multidrug Resistance and Current and Future Therapeutic Management. J Clin

Références bibliographiques

DiagnRes;7(11):2602-5. Doi: 10.7860/JCDR/2013/6337.3626. PMID: 24392418. PMCID: PMC3879836.

Soussy CJ. (2007). Résistance bactérienne aux antibiotiques. In Soussy CJ. Les infections urinaires : Monographies en urologie. pp. 21-46. Editeur Springer, Paris.

Suresh G., Das RK., Kaur Brar S., Rouissi T., Avalos Ramirez A., Chorfi Y., Godbout S. (2018). Alternatives to antibiotics in poultry feed: molecular perspectives. Crit Rev Microbiol.44(3):318-335. Doi: 10.1080/1040841X.2017.1373062.. PMID: 28891362.

T

Teisseire PJ. (1991). Chimie des substances odorantes. Technique et documentation Lavoisier Ouvrage de 480 p.

Tepe B., Daferera D., Sokmen A., Sokmen M., Polissiou M. (2005). Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil and various extracts of *Salvia tomentosa* Miller (Lamiaceae). Food Chemistry. Volume 90, Issue 3, Pages 333-340.

Thabet L., Frigui S., Mellouli A., Gargouri M., Maamar B., Harzallal I., Boukadida J., Messadi AA. (2021). Corrélation Entre La Consommation D'Antibiotiques Et Les Taux D'Antibiorésistance Chez *P. Aeruginosa* Dans Un Service De Réanimation Des Brûlés Tunisien: Étude Sur 6 Ans (2014-2019). Ann Burns Fire Disasters.;34(3):245-251. French. PMID: 34744540. PMCID: PMC8534311.

Tong SY., Davis JS., Eichenberger E., Holland TL., Fowler VG Jr. (2015). *Staphylococcus aureus* infections: epidemiology, pathophysiology, clinical manifestations, and management. Clin Microbiol Rev.28(3):603-61. Doi: 10.1128/CMR.00134-14. PMID: 26016486. PMCID: PMC4451395.

Torumkuney D., Gur D., Soyletir G., Gurler N., Aktas Z., Sener B., Tunger A., Bayramoglu G., Koksall I., Yalcin AN., Tanriver Y., Morrissey I., Barker K. (2016). Results from the Survey of Antibiotic Resistance (SOAR) 2002-09 in Turkey. J Antimicrob Chemother. 71 Suppl 1(Suppl 1):i85-91. Doi: 10.1093/jac/dkw067. PMID: 27048585. PMCID: PMC4890349.

Références bibliographiques

Turner NA., Sharma-Kuinkel BK., Maskarinec SA., Eichenberger EM., Shah PP., Carugati M., Holland TL., Fowler VG Jr. (2019). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: an overview of basic and clinical research. *Nat Rev Microbiol.* 17(4):203-218. Doi: 10.1038/s41579-018-0147-4. PMID: 30737488. PMCID: PMC6939889..

U

Uwingabiye J., Frikh M., Lemnouer A., Bssaibis F., Belefquih B., Maleb A., Dahraoui S., Belyamani L., Bait A., Haimeur C., Louzi L., Ibrahimi A., Elouennass M. (2016). *Acinetobacter* infections prevalence and frequency of the antibiotics resistance: comparative study of intensive care units versus other hospital units. *Pan Afr Med J.* 15;23:191. Doi: 10.11604/pamj.2016.23.191.7915. PMID: 27347280.PMCID: PMC4907753.

V

Valérie D. (2012). Manifestations cliniques et traitement des infections à *Acinetobacter baumannii*. *Revue Francophone des Laboratoires.* Issue 441, Pages 59-65,ISSN 1773-035X,
Vallière S. (2017). Bactéries multirésistantes .*Rev Med Suisse*, 2017/561 .Vol.3, p. 944–947. Doi: 10.53738/REVMED.2017.13.561.0944.

Vincent J.(2004). Bactéries multirésistantes dans les hôpitaux français : des premiers indicateurs au Réseau d’alerte d’investigation et de surveillance des infections nosocomiales Raisin.BEH n° 32-33/2004, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière.Paris.148-157 p.

W

Weiser JN., Ferreira DM., Paton JC. (2018). *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol.* 16(6):355-367. Doi: 10.1038/s41579-018-0001-8. PMID: 29599457. PMCID: PMC5949087.

Wen S., Feng D., Chen D., Yang L., Xu Z. (2020). Molecular epidemiology and evolution of *Haemophilus influenzae*. *Infect Genet Evol.*80:104205. Doi: 10.1016/j.meegid.2020.104205. Epub 2020 Jan 22. PMID: 31981610.

Wendpoulomdé AD K., Konaté A., Bako E., Bagré TS., Boisramé S., Chandad F., Alfred S. Traoré., Barro N., Sangaré L.(2016). Détection d’*Acinetobacter baumannii*, agent pathogène

Références bibliographiques

opportuniste et multirésistant dans les infections bucco-dentaires à Ouagadougou, Burkina Faso, *Med Buccale Chir Buccale*. Vol 22 n° 2 105-112.

Wilson MG., Pandey S. (2022). *Pseudomonas Aeruginosa*. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL). PMID: 32491763.

Z

Zaki MES., Elkheir N., Mofreh M. (2018). Molecular Study of Quinolone Resistance Determining Regions of *gyrA* Gene and *parC* Genes in Clinical Isolates of *Acintobacter baumannii* Resistant to Fluoroquinolone. *Open Microbiol J.* 12 :116-122. Doi: 10.2174/1874285801812010116. PMID: 29785218.PMCID: PMC5958293

Annexe 01 : Fiche de renseignement des patients

Les différents prélèvements doivent être enregistrés dans le registre du service microbiologie et sur le logiciel propre du laboratoire appelé « ikoLab », puis individualisés par une étiquette sur laquelle sont mentionnés les informations suivantes : Nom, prénom, numéro d'admission dans le laboratoire et le type du prélèvement. Tout cela doit être accompagné avec une ordonnance sur laquelle le médecin mentionne les informations nécessaires du patient (nom et prénom du malade, l'âge, nom du service et la thérapeutique antérieure ou en cours) qui vont aider le laborantin à bien effectuer son travail.

Annexe 02 : Tableau Milieux de cultures utilisés et leur utilisation

Milieux de cultures	Utilisation
Gélose Hektoen	Isolement des entérobactéries
Gélose Chapman	Isolement des <i>Staphylococcus</i> sp
Gélose au sang (cuit & frais)	Mise en évidence de l'hémolyse α , β et γ
Gélose Mueller Hinton	Etude du profil de résistance des souches
Gélose Chromogène	Ré isolement et identification des bactéries par apparition de couleurs spécifiques
Gélose nutritive	Repiquage
Sabouraud	Isolement de levures
Bouillon BHIB	Enrichissement des bactéries

Annexe 03 : Tableau des antibiotiques testés

Antibiotiques utilisés	Famille	Concentration (µg/mL)
Cefolexine (CN)	Bétalactamines	10
Ticarcilline (TC, TIC)		75
Ampicilline (AMP)		10
Imipenème (IPM)		10
Cefotaxime (CTX)		10
Cefozoline (CZN)		30
Ceftazidime (CAZ)		30
Pipéracilline (PIP, PI)		30
Amoxiline (AMX)		30
Amoxiciline/acide clavulanique (AMC)		30
Céfazoline (CZ)		30
Ertapénème (ETP)		10
Oxacicline (OXA)		5
Céfoxitine (FOX)		5
Doxycycline (DO)		Tétracyclines
Levofloxacin (LEV)	Fluoroquinolones	5
Ofloxacin (OF)		5
Ciprofloxacin (CIP)		10
Chloramphenicol (C)	Phénicolés	30
Acide pepemidique (PI)	Quinolones	100
Tobramycine (TOB)	Aminosides	10
Nétilmicine (NET)		30
Kanamycine (KAN)		30
Gentamicine (GEN)		10
Clindamycine (CM, CC)	Lincosamides	5
Vacomycine (VA, VAN)	Glycopeptides	30
Erythromycine (ERY, EM)	Macrolides	30

Annexes

Pristinamycine (PR)	Streptogramines (Synergistines)	15
Clindamycine (CM, CC)	Lincosamides	5
Fosfomycine	Acides phosphoniques	50
Trimethoprime/sulfamethoxazole	Sulfamides-trimethoprimes	25
Colistine (COL)	Polymexines	50

Annexe 04 : Tableau des matériels utilisés au laboratoire

Appareillage	Verreries, outils et réactifs
Bec bunsen	Pipette Pasteur
Autoclave	Anse de platine
Jarre	Seringues
Etuve	Lames
Vitek	Lamelles
Microscope	Pied à coulisse
Distillateur des huiles essentielles	Tubes secs
Réfrigérateur	Ecouvillons
Bain marie	Erlenmeyer
Spectrophotomètre	Tubes à essaie
Autoclave	Micropipette
Vortex	Disques
	Boîtes de Pétri
	Violetde Gentiane
	Fuschine
	Lugole
	Alcool
	Bleu de méthylène

Annexe 05 : Technique de coloration de Gram

Préparation du frottis

- Sur une lame, verser une goutte d'eau physiologique
- Prélever une colonie bactérienne bien isolée et la mélanger dans l'eau physiologique et étaler ensuite jusqu'à couvrir la moitié de la surface de lame puis sécher à la flamme du bec bunsen et fixer en faisant passer le frottis 3 fois dans la flamme.

Réalisation de la coloration de Gram

- Inonder le frottis avec le réactif violet de Gentiane et laisser agir pendant 1 minute.
- Verser l'excès du réactif et laver à l'eau abondante.
- Inonder avec le Lugol et laisser 1 minute.
- Verser l'excès et laver avec de l'eau.
- Inonder avec un agent décolorant qu'est l'alcool et laisser 30 secondes ensuite verser l'excès et bien laver à l'eau abondante.
- Inonder avec le contre colorant qu'est la fuchsine et laisser agir pendant 1 minute ensuite verser l'excès et laver à l'eau.
- Passer à l'observation au microscope optique sous immersion au grossissement 100.

Annexe 06 : Composition des milieux de culture

1. Eau physiologique stérile (composition en g/L)

Chlorure de sodium (NaCl).....9g.

Eau distillée.....1000mL.

PH=7.

Stérilisation à 120°C/15mn.

2.Violet dz Gentiane

Violet de gentiane10g

Phénol20g

Éthanol (95 °GL) 100mL

Eau distillée01L

3.Lugole

Iodure de potassium 20g

Iode métalloïde I2 10g

Eau1L.

4. Fuchsine

Fuchsine de Ziehl fuchsine basique10g

Phénol 50 g

Annexes

Éthanol100mL

Eau distillée1L. Diluer au 1/10° pour la fuchsine pour Gram.

Milieux de culture

La composition du milieu Hektoen est présentée dans le tableau suivant :

Milieu Hektoen	
Peptone	12g
Chlorure de sodium	5g
Citrate de fer ammoniacale	1.5g
Lactose	12g
Fuchsine acide	0.1g
Gélose	14g
Extrait de levure	3g
Sels biliaires	9g
Salicine	2g
Saccharose	12g
Bleu de bromothymol	0.065g
pH =7,5 ± 0,2	

La composition du milieu Chapman est présentée dans le tableau suivant :

Milieu Chapman	
Peptone	10 g
Extrait de viande de bœuf	1 g
Chlorure de sodium	75g
Mannitol	10g
Rouge de phénol	0,025g
Gélose	15g
pH=7,4 ± 0,2	

Annexes

La composition du milieu Muller Hinton est présentée dans le tableau ci-dessous :

Gélose Mueller-Hinton (MH)	
Hydrolysate acide de caséine (peptone)	17,5g
Extrait de viande	2,0g
Amidon	1,5g
Calcium	20 à 25mg
Magnésium	10 à 12,5mg
Agar	15,0g
Eau distillée	qsp 1L
pH=7,4 +/- 0,2	

La composition du milieu chocolat (gélose au sang cuit) est présentée dans le tableau suivant :

Gélose chocolat	
Peptone de caséine (bovin)	7,5g
Peptone de viande (bovin ou porcine)	7,5g
Amidon de maïs	1,0g
Chlorure de sodium	5,0g
Hémoglobine (bovin)	10,0g
Agar	10,0g
Eau distillée	qsp 1L
pH = 7,2	

Préparation de la gélose au sang frais

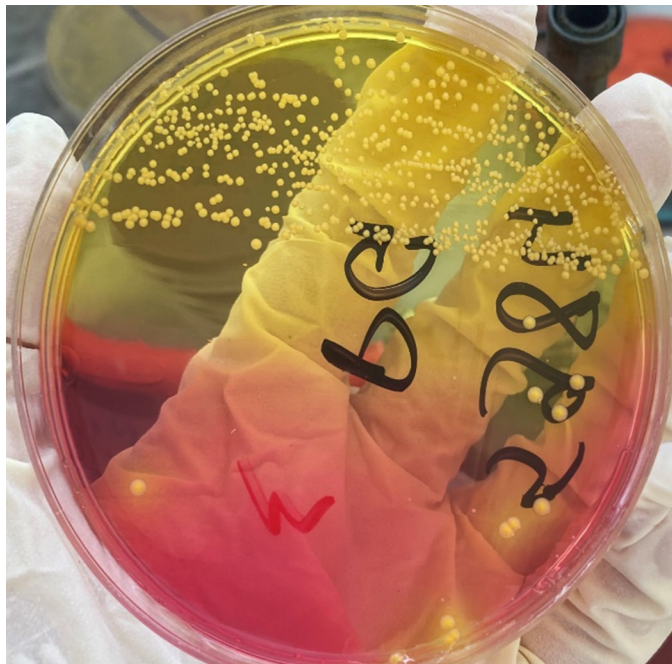
1. Dissoudre 40g de poudre dans un litre d'eau distillée.
2. Porter à ébullition jusqu'à dissolution complète.
3. Répartir à raison de 100mL par flacon.
4. Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

Annexes

La composition du milieu Sabouraud est présentée dans le tableau ci-dessous :

Gélose Sabouraud	
Peptones	10,0g
Glucose (ou Dextrose)	40,0g
Agar	15,0g
Eau distillée	qsp 1L
pH = 5,6	

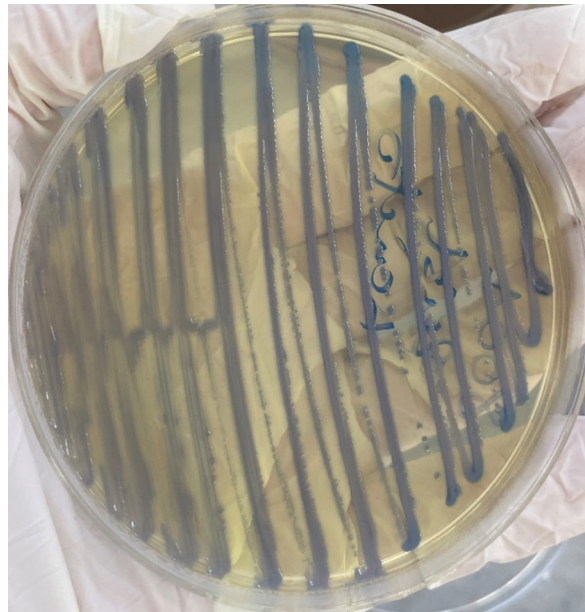
Annexe 07 : Aspect macroscopique des bactéries



Staphylococcus aureus sur milieu Chapman



E.coli sur milieu Hektoen



Klebsiella pneumoniae sur milieu chromogène

Annexes

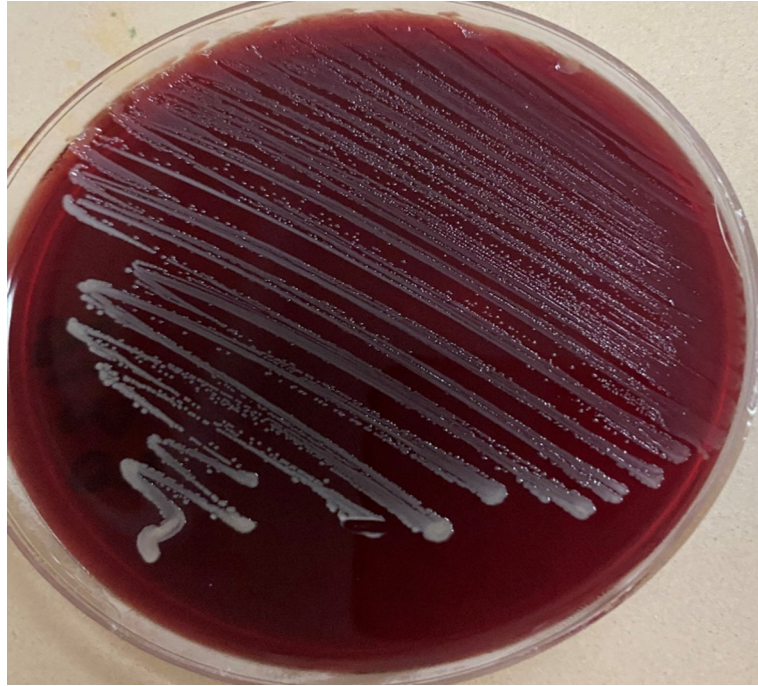


Levures sur milieu Sabouraud

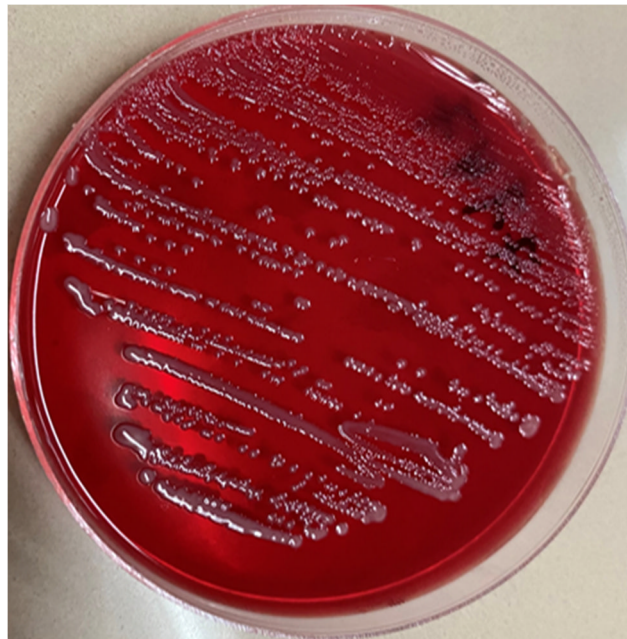


Acinetobacter baumannii sur milieu Hektoen

Annexes



A.baumannii sur gélose au sang cuit

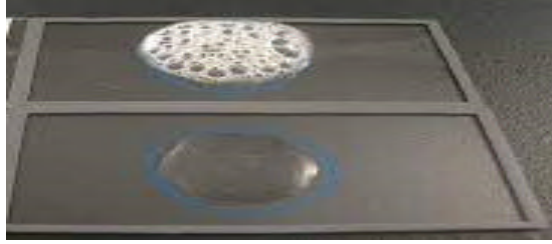


A.baumannii sur gélose au sang frais



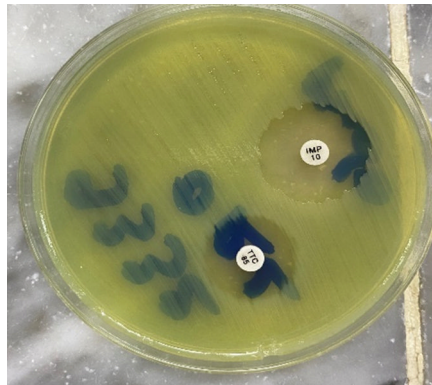
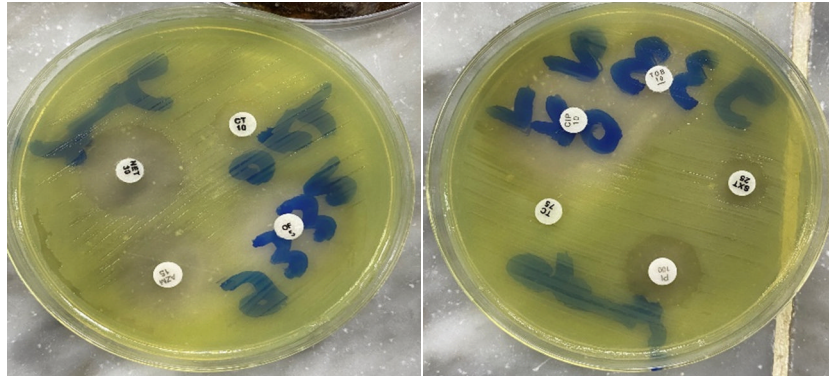
Api 20 NE

Annexes

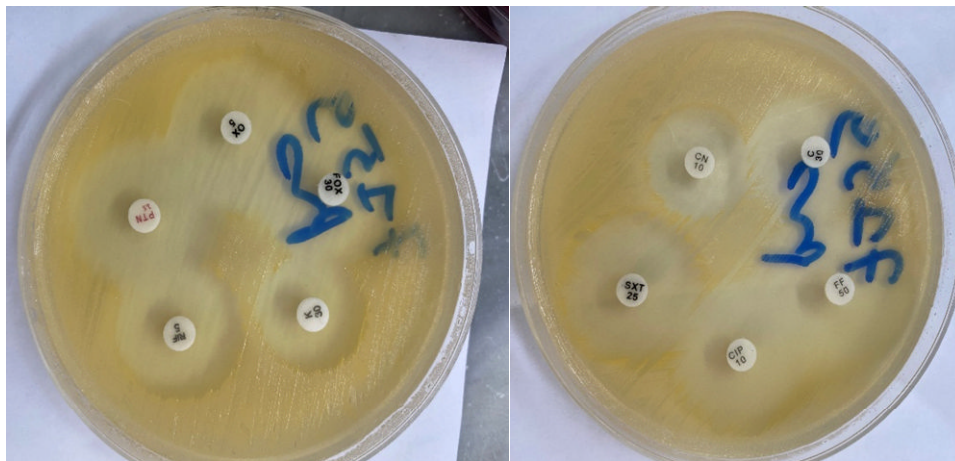


Test de catalase

Annexe 08 : Antibiogrammes des bactéries identifiées

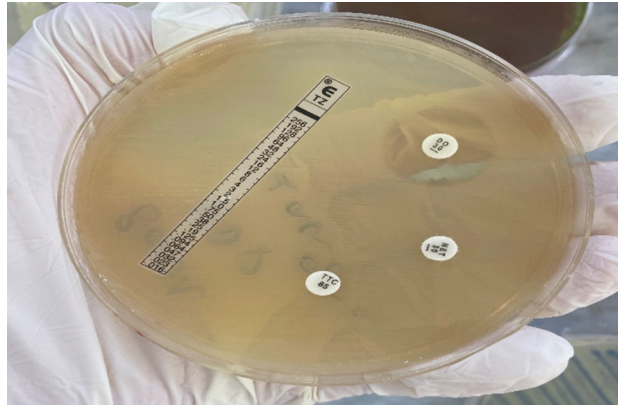
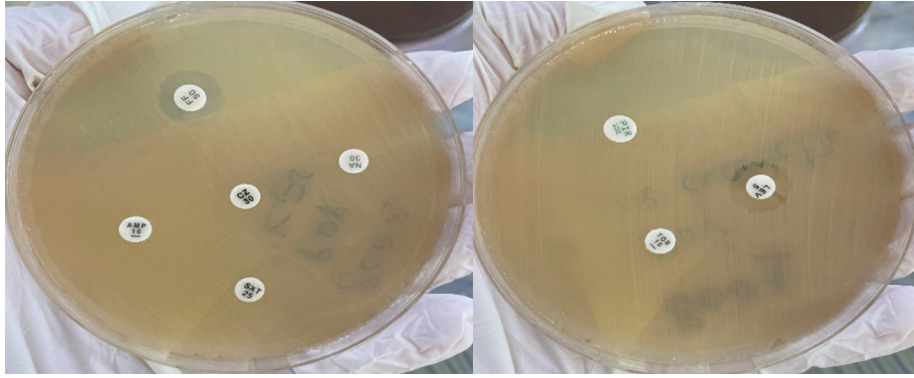


Antibiogramme de *P.aeruginosa*

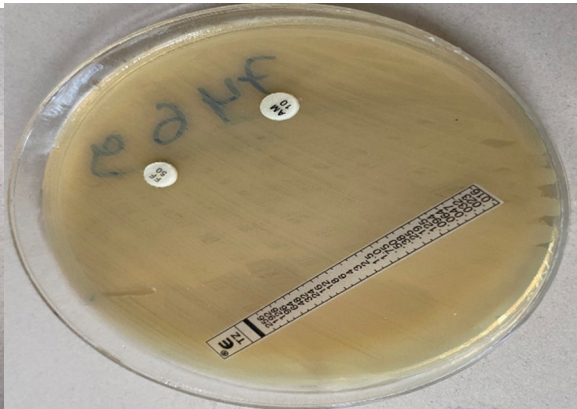
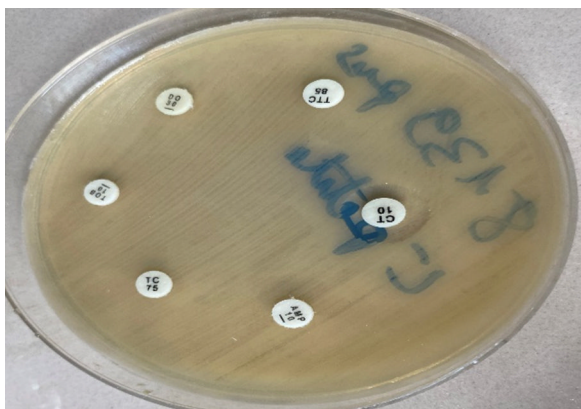
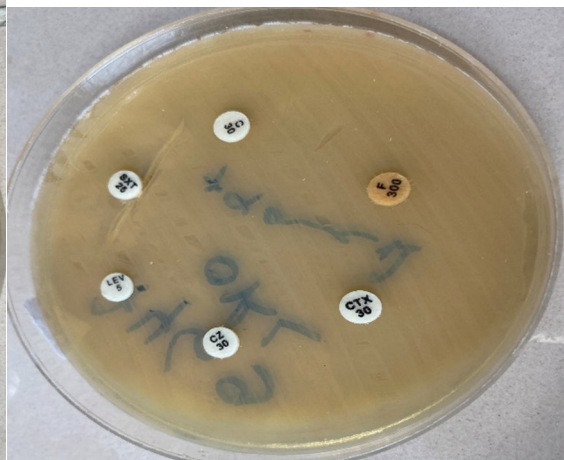
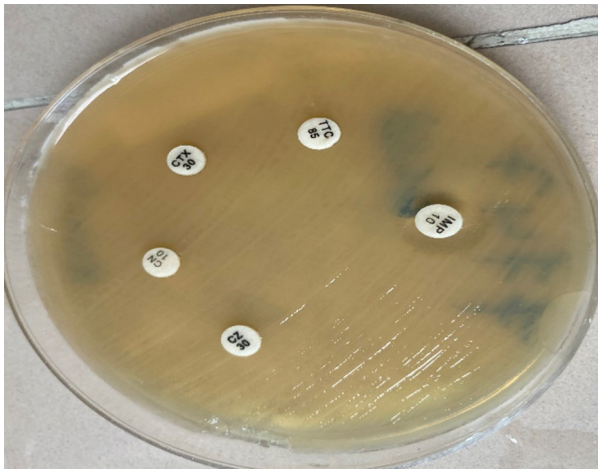


Antibiogramme de *S.aureus*

Annexes



Antibiogramme de *K.pneumoniae*



Antibiogramme d'*A.baumannii*

Annexes

Annexe 09 : Profil de résistance de *Pseudomonas putida* et *Aeromonas hydrophyla*

Souches	Nombre	Antibiotiques testés	Résultats
<i>P.putida</i>	01	CAZ	R
		IPM	R
		TIC	R
		CIP	R
		COL	S
		PIP	R
		TOB	R
		NET	R
<i>Aeromonas hydrophyla</i>	01	COL	S
		IPM	S
		TIC	R
		TCC	I
		NET	S
		GEN	S
		PIP	S
		TOB	S
		LEV	S

Annexe 10 : Dispositif de Vitek



Dispositif du Vitek



Cartes vitek

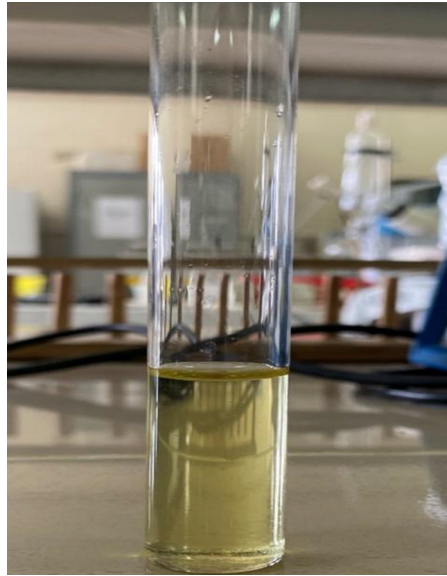
Annexe 11 : Extraction des huiles essentielles



Dépôt des feuilles d'*Eucalyptus* dans l'alambic



Distillateur des huiles essentielles



Huile essentielle obtenue

Résumé

Les infections de l'oto-rhino laryngologie touchent aussi bien les enfants que les adultes. Elles sont généralement bénignes sans complications et guérissent spontanément, cependant dans certains cas, elles peuvent présenter des symptômes nécessitant une antibiothérapie. Après la propagation inquiétante du phénomène de l'antibiorésistance notamment des bactéries multi résistantes, cela est devenu très difficile conduisant même à des taux de morbidité élevés. Ce phénomène constitue actuellement le défi le plus pressant en matière de santé mondiale. Ceci a rendu primordiale l'exploration de nouvelles alternatives thérapeutiques pour faire face à ces micro-organismes multi résistants.

La présente étude consiste, dans un premier temps à l'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections de la sphère d'oto-rhino laryngologie, mais aussi l'évaluation de l'antibiorésistance de ses souches et par la suite la sélection les bactéries multi résistantes, en l'occurrence *Acinetobacter baumannii*.

Dans un deuxième temps, cette étude porte un intérêt sur les effets inhibiteurs de l'huile essentielle extraite à partir des feuilles d'*Eucalyptus globulus*, ainsi que le miel du même végétal. L'activité antibactérienne de ces deux produits naturels a été évaluée sur 06 souches d'*Acinetobacter baumannii* sélectionnées. Les diamètres des zones d'inhibitions ont été mesurés ; les valeurs obtenues pour l'huile varient de 9 à 12,66 mm, contrairement au miel qui n'a donné aucune zone d'inhibition. L'association de ces deux produits sur les mêmes bactéries n'a pas donné un résultat prometteur.

Mots clés : ORL, Antibiotiques, Résistance, bactéries multirésistantes, *Acinetobacter baumannii*, huile essentielles, Miel, *Eucalyptus*, Activité antibactérienne.

Abstract

ENT infections affect both children and adults. They are generally benign, without complications, and heal spontaneously, although in some cases they can present symptoms requiring antibiotic therapy. Following the alarming spread of antibiotic resistance, this has become very difficult, even leading to high morbidity rates due to the emergence of multi-resistant bacteria, which currently represent the most pressing challenge to global health. This has made it essential to explore new therapeutic alternatives to deal with these multi-resistant micro-organisms.

The present study consists, firstly, of isolating and identifying the bacteria responsible for infections of the ENT sphere, but also assessing the antibiotic resistance of these strains and subsequently selecting the multi-resistant bacteria, in this case *Acinetobacter baumannii*.

Secondly, this study focuses on the inhibitory effects of essential oil extracted from *Eucalyptus globulus* leaves, and honey from the same plant. The antibacterial activity of these two natural products was evaluated on 06 selected strains of *Acinetobacter baumannii*. The diameters of the zones of inhibition were measured; the values obtained for the oil ranged from 9 to 12.66 mm, in contrast to honey, which gave no zones of inhibition. The combination of these two products on the same bacteria has not produced promising results.

Key words: ENT, Antibiotics, Resistance, multi-resistant bacteria, *Acinetobacter baumannii*, essential oil, Honey, *Eucalyptus*, Antibacterial activity.