



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université Ibn Khaldoun–Tiaret
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

BOUDIR ENFAL

BERREDJEM AMINA

Thème

*Activités antimycosiques du miel de sahara comparées avec les
antifangiques sur candida albicans*

Soutenu publiquement le

Jury:

Grade

Président: Mme.MAKHLOUFI C.

Encadrant: Mr. AHMED MOUSSA

Co-encadrant:

Examineur 1: Mme.BOURABAH A.

Examineur 2:

Invité:

Année universitaire 2020-2021

قَالَ اللَّهُ تَعَالَى: (وَأَوْحَى رَبُّكَ إِلَى

النَّحْلِ أَنْ اخْتَرِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا

وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ * مُّمَّ

كَيْسٍ مِنْ كُلِّ الشَّجَرِ فَأَسْكِنِي سُبُلَ

رَبِّكَ ذُلًّا مَخْرُجٍ مِنْ بُطُونِهَا

شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ

لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ

يَتَفَكَّرُونَ) (سورة النحل آية 68



*R*emerciements

Ce travail est le fruit de la combinaison d'efforts de plusieurs personnes.

Nous remercions tout d'abord Allah, le tout puissant qui par sa grâce nous a permis d'arriver au bout de nos efforts en nous donnant la santé, la force, le courage et en nous faisant entourer des merveilleuses personnes dont nous tenons à les remercier.

Nous remercions:

En guise de reconnaissance, Nous remercions très sincèrement notre encadreur :

*Dr **AHMED MOUSSA** de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret*

Nous avons eu l'honneur et la chance de bénéficier de ses connaissances, ses compétences et de ses précieux conseils.

Veuillez trouver ici le témoignage de notre reconnaissance et de notre profond respect.

Nos remerciements s'adressent particulièrement

*Au Professeur **BOUCIF AHMED** de nous avoir épaulé tout au long de ce travail, sa motivation professionnelle, ses conseils et critiques constructives, ses corrections, son attention bienveillante et sa patience pour le temps qu'il nous a consacré à la réalisation de ce travail.*

Merci pour tous vos conseils.

Nous adressons encore nos remerciements à tous les membres de

jury:

Dr. MAKHLOUFI CHAHRA. le président de jury

*et Dr. BOURABAH AKILA. L'examinatrice qui nous ont fait l'honneur de juger ce
modeste travail.*

*En fin, nous remercions toutes les personnes qui nous ont encouragés et
soutenus de près ou de loin pour la réalisation de ce travail*

A tous ceux que nous aurions oublié, qu'ils nous excusent

*D*édicaces 1

1 *Je dédie ce modeste travail :*

A ceux que j'aime le plus au monde mes très chers parents, leurs sacrifices et leurs encouragements durant toute ma vie, je ne saurais jamais comment exprimer mes sentiments pour avoir veillé sur mon éducation,

1 jamais je ne peux les remercier assez de m'avoir donné le meilleur.

A ma chère tante ma 2ème maman

Mme Boucif et son mari Ahmed que je les remercie infiniment.

A tous mes amis qui ont rendu ma vie agréable et pleine de bons souvenirs et qui ont été toujours là de nous aider sans aucune hésitation.

A ma douce sœur Khouloud

A ma précieuse famille BERREDJEM

A mon binôme et ma chère amie Boudir Anfel

A tous mes proches

Amina

*D*édicaces2

Je dédie ce travail :

A ma très chère mère YAMINA

mon exemple éternel, la lumière de mes jours, la source de mes efforts, la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur,

A celle qui m'a étreint de tendresse et d'affection et qui a constitué la première école de mon existence, ma très précieuse, chaleureuse et aimable; maman que j'adore.

J'implore Dieu, tout puissant, te donne une meilleure santé, une longue vie, beaucoup de bonheur et te préserve de tout mal.

A mon très cher père AHMED

je dédie mon diplôme à l'esprit de mon père AHMED qui me poussait vers le succès et marchait avec moi sur le chemin des difficultés avec constance et détermination c'est un succès incomplet sans toi mon plus haut exemple, mon modèle de persévérance pour aller toujours de l'avant et ne jamais baisser les bras, mon soutien moral et source de joie et de bonheur, celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir A celui qui a lutté pour m'offrir les conditions propices à ma réussite, A mon père que j'aime énormément . Tes

conseils ont toujours guidé mes pas vers la réussite. Que Dieu ait pitié de lui

A ma chère copine **SABRINA** pour tes jolis mots et belles actions, tes conseils précieux,

ton beau cœur et ta gentillesse. Merci pour les bons moments qu'on a passés ensemble

A mes chères et adorable frère **KADDOUR** et sœurs **SIHEM**, **NADIRA** et **FATIMA ZOHRA** ; En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu le tout puissant vous protèges et vous gardes...

A mon fiancé **ILYES** Tu m'as toujours incité à faire de mon mieux, ton soutien morale, ton conseil et pour l'affection et l'amour qui nous unit. Je prie Dieu le tout puissant te combler une longue vie pleine de joie et prospérité, et préserver notre attachement mutuel.

A ma chère binôme **AMINA** pour son soutien moral, sa patience, sa compréhension tout au long de ce projet et pour tous les bons moments passés ensemble.

A toute ma famille, A mes proches et mes autres amies

Anfel

SOMMAIRE

Liste des tableaux :	I
Liste des Figures :	I
Liste des abréviations :	I

INTRODUCTION.....	1
-------------------	---

CHAPITRE I : APPERCUS SUR LES CANDIDOSES

I.Aperçus sur les candidoses :	3
I.1/ Généralités	3
I.2/ Approche diagnostique et thérapeutique.....	3
I.2.1/ Diagnostic biologique	3
I.2.2/ Approche thérapeutique.....	5

CHAPITRE II : LE MIEL

II.1/ Définition.....	7
II.2/ Origine du miel.....	7
II.2 .1/ Le nectar	7
II.2.2/ Le miellat.....	7
II.3/ Formation du miel	7
II.4/ Composition chimique du miel	8
II.5/ Les différents types de miels	8
II.5/ Les propriétés thérapeutiques du miel.....	9

PARTIE EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

I/ Objectif	12
II/ Lieu et durée d'étude.....	12
III/ Matériels.....	12
III.1/ Matières premières	12
III.1.1/ Echantillons de miels	12
III.2/ Appareillages et verreries.....	13
III.3/ Matériel Biologique	14

SOMMAIRE

III.3.1/ Souche fongique.....	14
III.3.1.1/ Préparation des milieux de culture.....	14
IV/Méthodes.....	14
IV.1/ Le mode opératoire	14
IV.1.1/ Préparation des échantillons du miel	14
IV.1.2/ Préparation des inoculums fongiques (standard).....	17
IV.1.3./Technique de diffusion en milieu solide (méthode des puits)	17
RESULTATS ET DISCUSSION.....	19
CONCLUSION.....	24
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES	27
RESUMES	32

LISTE DESTABLEAUX ET DESFIGURES

Liste destableaux et desfigures

Liste des tableaux :

Tableau 1 : Récapitulatif des différentes caractéristiques de certaines espèces de Candida

Tableau 2 : Echantillons de miels utilisés

Tableau 3 : Appareillages et verreries utilisées

Liste des Figures :

Figure 1: Diagramme récapitulatif des étapes de dilution du miel

Figure 2: Préparation des dilutions de miels avant incubation

Figure 3: Préparation des dilutions de miels après incubation

Figure 4: Préparation d'inoculum

Figure 5: La mesure de la densité optique de la souche fongique

Figure 6: Technique d'ensemencement par écouvillonnage

Figure 7 :Les auréoles d'inhibition observées pour les trois échantillons testés

Figure 8 : Diamètres d'auréoles d'inhibition en mm des échantillons de miels

Liste des abréviations :

v/v : volume sur volume

UFC : unité formant colonie

Ech :échantillon

C .albicans: la souche candida albicans

H2O2 : pyroxyde d'hydrogène

PH: potentiel Hydrogène

INTRODUCTION

INTRODUCTION

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine dont les causes sont très variées (Cécile Garnaud et Muriel Cornet 2020). Les *Candida* sont des levures micro-organismes endogènes ou exogènes dont le pouvoir pathogène ne s'exprime qu'en présence de facteurs favorisants locaux ou généraux dont *Candida albicans* (*C.albicans*) reste l'espèce la plus fréquemment rencontrée (Maubon D et al. 2014). Le spectre clinique s'étend des formes localisées (cutanées et/ou muqueuses) d'une grande fréquence en médecine générale aux atteintes invasives rencontrées chez les patients hospitalisés dont le pronostic est souvent réservé (Martin-Loeches I et al. 2019 ;Pappas P.G et al. 2015). Bien qu'on dispose aujourd'hui de médicaments antifongiques, le traitement des mycoses reste difficile. Il est dû d'une part au nombre limité de principes réellement efficaces et de leur coût très élevé et d'autre part, il est lié à l'émergence de souches résistantes à certains antimycosiques usuels (Maubon, F. Morio.2019).

A ce jour quatre classes d'antifongiques (échinocandines, antifongiques azolés, polyènes et pyrimidines) sont utilisées pour la prise en charge des infections fongiques invasives et recommandées en première ligne pour le traitement des candidoses invasives. (Maubon D et al. 2014 ;Pappas P.G et al. 2015). L'utilisation de ces antifongiques a également induit une émergence de souches résistantes voire multi-résistantes parfois associées à des échecs cliniques. Des progrès considérables ont été effectués au cours des dernières années dans la prise en charge des infections fongiques, notamment grâce à l'utilisation de nouvelles thérapeutiques à base de produits de la ruche. De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel depuis des millénaires par de nombreuses civilisations afin d'élucider ses propriétés biologiques et thérapeutiques. (Lequet, 2010).

Le présent travail a été consacré à l'étude de l'activité antifongique de trois échantillons de miel d'origine Algérienne sur *C.albicans*.

CHAPITRE I :
APPERCUS SUR
LES CANDIDOSES

CHAPITRE I : APPERCUS SUR LES CANDIDOSES

I. Aperçus sur les candidoses :

I.1/ Généralités

Les candidoses représentent les infections fongiques les plus fréquentes en pathologie humaine (Marc Pihet, Agnes Marot 2013). Elles sont dues à des levures du genre *Candida*, responsables d'atteintes superficielles et profondes (Hochedez P et al., 2007). Le genre *Candida* (Tableau 1) compte un peu moins de 200 espèces. Ce genre regroupe des levures non pigmentées, non capsulées, à bourgeonnement multilatéral, produisant sauf pour *C. glabrata* des filaments et donnant des colonies blanches crémeuses en culture [Develoux M., S. Bretagne 2005]. L'espèce majoritaire est *C. albicans*, principale levure impliquée en pathologie humaine. C'est un commensal des muqueuses digestives et génitales et ne se retrouve que rarement sur peau saine. Les autres espèces de *Candida* (Tableau 1) sont cependant de plus en plus souvent identifiées comme *C. glabrata*, *C. tropicalis* et *C. parapsilosis* [Hochedez P et al., 2007]. De nombreuses espèces vivent dans le milieu extérieur (Tableau 1) et peuvent se retrouver accidentellement dans le tube digestif suite à leur ingestion (*C. krusei*) et être exceptionnellement responsable d'une infection le plus souvent chez des patients immunodéprimés ou ayant bénéficié d'un geste avec effraction des muqueuses. Il est difficile de donner l'ensemble des particularités des différentes espèces de *Candida*. Les candidoses sont favorisées par des facteurs locaux et/ ou généraux. Les principaux déséquilibres cutanés et muqueux facilitent la prolifération locale des *Candida*. Sur le plan clinique, le spectre des symptômes rencontrés varie considérablement de la candidose cutanée d'une grande fréquence en pratique de ville à la candidose disséminée rencontrée chez les patients hospitalisés cumulant de nombreux facteurs de risque et dont le pronostic est particulièrement sombre [Develoux M., S. Bretagne 2005].

I.2/ Approche diagnostique et thérapeutique

I.2.1/ Diagnostic biologique

Il repose sur l'examen direct, la culture et l'étude des réactions immunologiques de l'hôte (à l'exception des atteintes superficielles pour lesquelles les sérologies n'ont pas d'intérêt). La

CHAPITRE I : APPERCUS SUR LES CANDIDOSES

valeur de cet examen varie en fonction du type de prélèvement et le caractère pathogène de la levure.

Espèce	Fréquence	État saprophyte	Manifestations cliniques	Remarques
<i>Candida albicans</i>	+++	Tube digestif	Candidoses cutanéomuqueuses Candidoses digestives et Urinaires, candidémies, candidoses systémiques	--
<i>Candida dubliniensis</i>	+	Nouvelle espèce isolée chez les sidéens	Candidoses orales chez des patients infectés par le VIH, candidémies	Souches résistantes au Fluconazole.
<i>Candida glabrata</i>	++	Tube digestif	Voies génito-urinaires, Vaginites, candidoses urinaires, candidémies, candidoses systémiques	Plus fréquent en cancérologie. Souches résistantes au fluconazole.
<i>Candida krusei</i>	++	Produits laitiers, bière	Vaginites, Candidémies	Résistance au fluconazole

Tableau 1 : récapitulatif de différentes caractéristiques de certaines espèces de Candida

Ceci ne pourra être affirmé qu'après confrontation des résultats au contexte clinique. Parallèlement, une mise en culture sur milieu(x) spécifique(s) sera réalisée permettant d'isoler le micro-organisme. Dans un second temps, il conviendra d'identifier précisément l'(les) espèce(s) de Candida en cause en faisant appel aux techniques conventionnelles (tests biochimiques et immunologiques) ou aux nouvelles technologies (biologie moléculaire et protéomique). L'étude de la sensibilité aux antifongiques ne sera envisagée que dans certaines circonstances (infections profondes ou récidivantes, exposition préalable aux antifongiques azolés). En l'absence de prélèvement(s) profond(s) disponible(s), les techniques indirectes (recherche

CHAPITRE I : APPERCUS SUR LES CANDIDOSES

d'anticorps, d'antigènes ou d'acides nucléiques) seront d'une aide précieuse au diagnostic de candidose profonde [(Marc Pihet, Agnes Marot 2013).A l'heure actuelle ces techniques traditionnelles sont progressivement supplantées par la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF qui connaît un essor important en microbiologie et permet une identification plus rapide et fiable.

I.2.2/ Approche thérapeutique

Historiquement parmi les plus anciens antifongiques rappelons l'existence de l'iode qui n'est plus utilisé dans le traitement des mycoses superficielles, des produits soufrés (pyrithione, tolnaftate, sulfure de sélénium) et des acides organiques (benzoïque, salicylique, undécylinique) encore employés aujourd'hui. A partir des années 50, les nouveaux antifongiques ont révolutionné le traitement des mycoses. Ces produits se répartissent en 2 catégories : les antifongiques d'origine naturelle et les antifongiques de synthèse. Les antifongiques naturels appartiennent à deux familles, les polyènes et les benzohydrofuranes(BIABIANY M. 2011). Les indications des traitements antifongiques sont modulées en fonction de l'agent pathogène et de l'état immunitaire du patient mais également en fonction de la localisation et de l'étendue des lésions Nelly Contet-Audonneau, Jean_LucSchmutz. 2001). Le traitement repose pour les formes localisées sur l'éradication des facteurs favorisants et les topiques locaux d'antifongiques. Ce n'est que lors de récurrences dûment authentifiées que des traitements systémiques peuvent se justifier. Pour les formes disséminées, un traitement antifongique systémique est indispensable (Develoux M., S. Bretagne 2005). Le traitement antifongique quelle que soit la gravité des candidoses ne se conçoit qu'en prenant en compte les facteurs de risque locaux et généraux et leur traitement. La suppression des facteurs locaux a un rôle majeur dans les atteintes cutanées. Il ne faut pas non plus oublier l'intérêt de la chirurgie qui doit être discutée dans certaines localisations (Develoux M., S. Bretagne 2005).

CHAPITRE II :

LE MIEL

CHAPITRE II : LE MIEL

II.1/ Définition

Le miel est un produit rare et authentique, synthétisé par un insecte fascinant, l'abeille. Symbole d'une activité laborieuse et d'une organisation sociale remarquable.

II.2/ Origine du miel

Il existe deux variétés de miel selon l'origine sécrétoire : le miel de nectar et le miel de miellat.

II.2 .1/ Le nectar

Le nectar est un liquide sucré sécrété par les nectaires, il présente une composition complexe mais variable selon les espèces et différente de celle de la sève. On y trouve de l'eau, des sucres, des substances aromatiques et colorantes, des acides, des minéraux ou quelques substances diverses et rares comme des vitamines ou des protéines. La qualité et la composition du nectar influencent donc les propriétés du miel par exemple au niveau des arômes, des sucres (Bessas, 2008) ; Lequet, 2010).

II.2.2/ Le miellat

Certaines espèces d'insectes sont capables de prélever la sève élaborée dans les canaux où elle circule (phloème) à l'aide de pièce buccale piqueuse [(Rossant, 2011) ; (Koechler, 2015)]. La sève subie des transformations dans le système digestif de l'insecte, notamment sous l'action de microorganismes qui y vivent en symbiose puis elle est rejetée sous forme d'excréments liquides et sucrés, le miellat.les abeilles le récolte directement sur les insectes ou sur la végétation (Guerriat, 2000).

II.3/ Formation du miel

L'abeille transporte dans son jabot les matières premières liquides sucrées qu'elle aspire avec sa trompe. Le nectar aspiré par l'abeille ou le miellat excrété par les pucerons des arbres sont

CHAPITRE II : LE MIEL

mélangée aux sécrétions salivaires contenant différents enzymes responsables de modifications importantes du spectre des sucres.

II.4/ Composition chimique du miel

La composition chimique du miel est très complexe. En effet, elle est influencée par les nombreuses étapes de transformation de celui-ci et par des facteurs très variables comme la température et la ventilation de la ruche, la nature de la flore visitée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles ou encore l'état physiologique de la colonie. Certains miels peuvent contenir en plus des éléments décrits ci-dessus : des pollens, des spores, des algues unicellulaires, des levures osmotolérantes (responsables de la fermentation) et des champignons microscopiques.

Les miels vieillissants contiennent de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) provenant de la dégradation des monosaccharides et tout particulièrement du fructose, en milieu acide ou après chauffage. Des polluants comme des métaux lourds sont parfois présents en faible quantité et reflètent la pollution de l'environnement. De la même manière, des résidus de pesticides et d'antibiotiques sont parfois détectés. L'analyse de ces éléments permet de mettre en évidence la qualité du miel. Il est important de noter que chaque miel possède une composition qui lui est propre, lui conférant ses caractéristiques et ses propriétés thérapeutiques. De par sa composition très complexe et sa grande diversité, le miel ne peut donc être reproduit artificiellement.

II.5/ Les différents types de miels

Il existe une innombrable variété de miels correspondant aux fleurs et plantes visitées par les abeilles ainsi qu'à la source récoltée (nectar ou miellat).

On peut ainsi séparer les miels en deux catégories :

- Les miels monofloraux ou unifloraux aussi appelés « miels de cru » qui proviennent de façon prédominante d'une seule espèce florale ;

CHAPITRE II : LE MIEL

- Les miels polyfloraux ou « miels toutes fleurs » ou « miels mille fleurs » qui résultent de la récolte des abeilles sur plusieurs espèces florales (Clément, 2009).
- Les miels Algériens : L'activité apicole est intimement dépendante des ressources mellifères dont dispose le pays et qui sont très riches et variées. L'apiculture est prédominante dans les régions suivantes :

* Zone de littoral: miel d'agrumes et eucalyptus,

*Zone de montagne: Kabylie : miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère,

* Hauts plateaux: miel de sainfoin, romarin et jujubier ;

* Maquis et forêts : miel toutes fleurs et miellat.

II.5/ Les propriétés thérapeutiques du miel

Les propriétés curatives du miel sont nombreuses, elles peuvent toutes fois varier en importance selon la variété de miel considéré, elles incluent :

* Action anti-inflammatoire liée à la teneur antioxydant élevée du miel (Molan, 1999),

* Propriété curatif de blessure en stimulant la croissance de tissu due à une variété d'hypothèse (Postmes et al., 1984),

* Barrière visqueuse contre l'invasion (Bergman et al., 1983),

* Action de désodorisation : une conséquence d'action antibactérienne (Molan, 1999),

* Antiseptique,

* Antianémique,

* Antipyrétique (stimule l'appétit),

* Apéritif (combat la fièvre),

* Antalgique (calmant la douleur),

* Dynamogénique (augmente la force et l'énergie) (Donadieu, 1981).

PARTIE
EXPERIMENTALE

MATERIEL ET METHODES

MATERIEL ET METHODES

I/ Objectif

Dans le cadre de la recherche de l'effet antifongique du miel sur la souche de candida albicans, nous avons testé leur effet in vitro par utilisation de trois échantillons de miels du sud Algérien.

II/ Lieu et durée d'étude

Notre étude a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie à l'institut des Sciences vétérinaires de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret durant une période d'un mois (Avril à mai 2021).

III/ Matériels

III.1/ Matières premières

III.1.1/ Echantillons de miels

Trois Echantillons de miel d'origine botanique ont été utilisées (Tableau 2):

Miel de cidre,

Miel du cresson,

Miel d'euphorbe.

Les échantillons de miel ont été prélevés dans des ruches de différents sites des régions de l'ouest algérien par des apiculteurs, envoyés directement au laboratoire de l'institut. Tous les miels provenaient de la récolte 2010 où ils ont été conservés dans des flacons en verre à l'abri de la lumière, bien mélangés, non dilués et stockés à une température ambiante. L'origine géographique et botanique ainsi que l'année de récolte sont présentées dans le tableau ci-dessous.

MATERIEL ET METHODES

III.2/ Appareillages et verreries

Les appareils qu'on a utilisés sont mentionnés dans le tableau 3:

Echantillons		Origine botanique	
Ech 1	Miel de cidre	Ziziphus	
Ech 2	Miel d'euphorbe	Euphorbia L	
Ech 3	Miel de cresson	Nasturtium officinale	

Tableau 2 : Echantillons de miels utilisés

Appareillages	Etuve (Heraeus), Balance analytique (SAUTER RE2021), Vortex (tecno Kartell TK 3S), Bain marie (Heidolph), Autoclave (SANOCLAV), Spectrophotométrie (Pharmacia Biotech Nova spec), Micropipette (5-40 μ l).
Verrerie	Flacon, bécher, éprouvette, pipette pasteur, tubes à essai, seringues, écouvillon
Autre matériel	Bec bunsen, boîte pétri (90 mm), écouvillon
Solutions	Eau de javel, eau distillée, eau physiologique (9% NaCl), HCl (0.05N), NaOH (0.05N),

Tableau 3 : Appareillages et verreries utilisées

MATERIEL ET METHODES

III.3/ Matériel Biologique

III.3.1/ Souche fongique

Dans la présente étude, nous avons pris une souche pure de *Candida albicans* fortement formatrice de biofilm à partir d'une culture positive (laboratoire privé d'analyse biologique de Dr BOUZIANE). La souche a été conservée immédiatement à 4°C et elle a subi par la suite un repiquage sur la gélose Sabouraud simple afin d'obtenir des cultures jeunes.

III.3.1.1/ Préparation des milieux de culture

Les tests antifongiques ont été réalisés sur milieu de culture Sabouraud simple convenant à la croissance des champignons. Le milieu a été préparé en homogénéisant dans 1 litre d'eau distillée 50 g de gélose en poudre. Ce mélange a été porté à ébullition avec agitation jusqu'à une homogénéisation complète par l'utilisation d'un agitateur magnétique chauffant. Le milieu ainsi préparé a été réparti dans des flacons stériles et stérilisé pendant 15 minutes à une température de 121°C.

IV/Méthodes

Notre étude a été surtout guidée par évaluation in vitro du potentiel antifongique de miel pur et dilué. Notre démarche expérimentale est résumée à travers le diagramme comme suit : (figure 1)

IV.1/ Le mode opératoire

IV.1.1/ Préparation des échantillons du miel

Des solutions de miel ont été préparées immédiatement avant chaque étape de notre étude aux concentrations requises (figure 2): 50%, 25% et 12.5% (v/v). Tous les échantillons ont été alors incubés dans l'obscurité pour 30 minutes à 37°C (figure 3) vu la sensibilité du peroxyde d'hydrogène et l'oxydase de glucose à la lumière (White, J.W. (1975).

MATERIEL ET METHODES

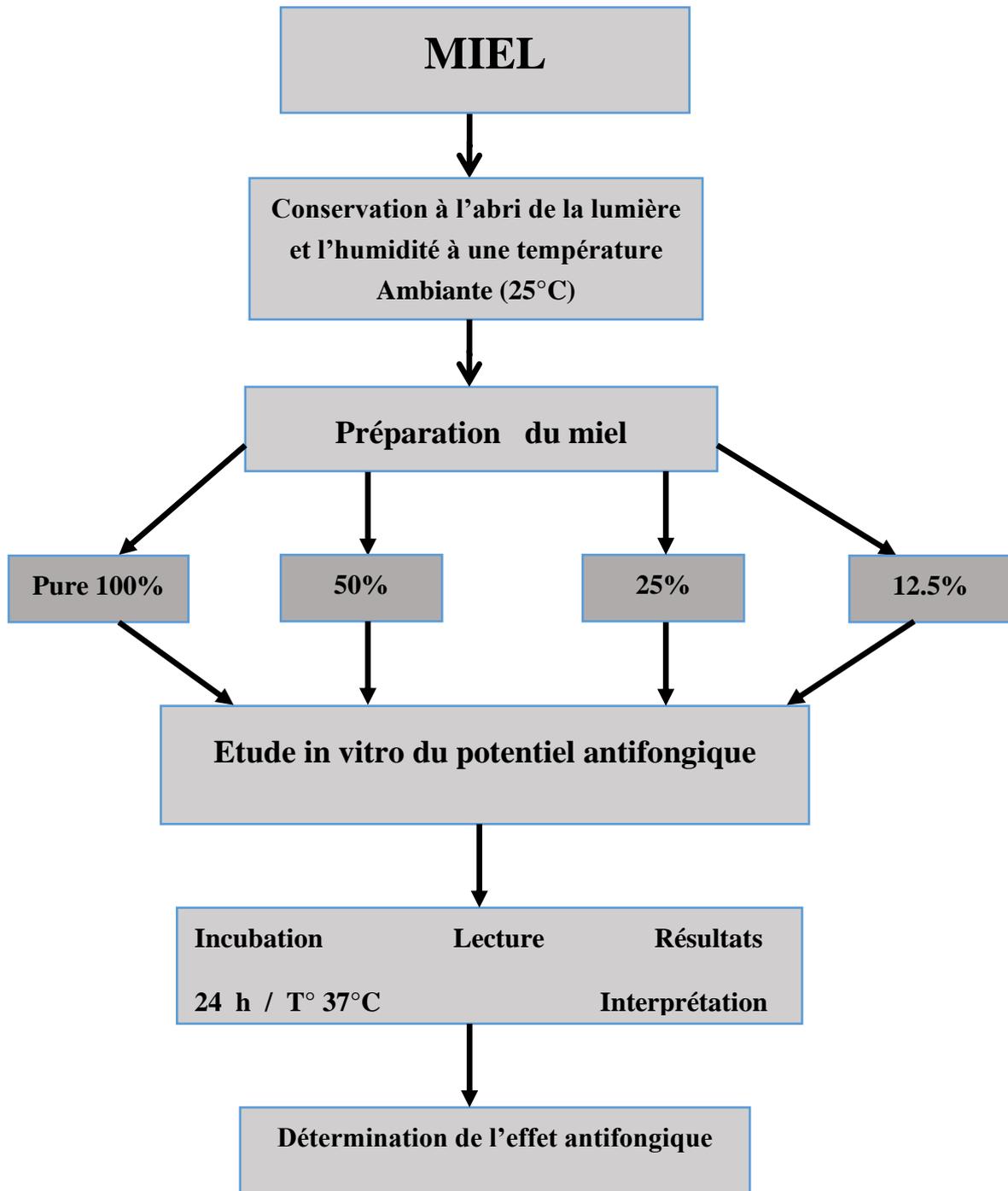


Figure 1: Diagramme récapitulatif des étapes de dilution du miel

MATERIEL ET METHODES



Figure 2 :Préparation des dilutions de miels avant incubation

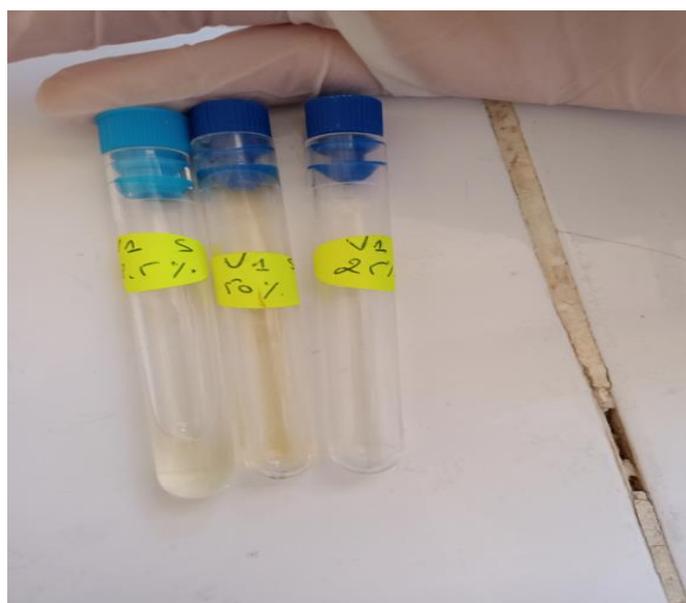


Figure 3 : Préparation des dilutions de miels après incubation

MATERIEL ET METHODES

IV.1.2/ Préparation des inoculums fongiques (standard)

Les suspensions fongiques ont été inoculées dans de l'eau physiologique sous une température ambiante (figure 4). La charge fongique a été ajusté à une densité optique de 0.08 à 0.1 (0.5 Mac Farlant) par le spectrophotomètre (figure 5) ce qui correspond à une charge d'environ 108 UFC/ml (Eucast, 2000 ; Sib , 2007).

IV.1.3./Technique de diffusion en milieu solide (méthode des puits)

* La gélose Sabouraud (20 ml) coulée en boîtes de Pétri de 90 mm de diamètre sur une épaisseur de 4mm estensemencée par écouvillonnage (figure 6) de la surface par la suspension fongique avec une densité de 108 UFC/ml).

* Les boites sont ensuite mises à sécher pendant 15 minutes à température ambiante.

* Nous avons aménagé par la suite des cavités (puits) de 5 mm de diamètre à l'aide d'une pipette dans la gélose. Les puits doivent être espacés de 24mm centre à centre.

* Puis nous avons rempli les puits avec du miel (0.1ml) à partir de différentes concentrations de chaque échantillon Les boites ont été incubées par la suite à une température de 37°C pendant 24 heures. L'action du miel se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour des puits.

L'activité antifongique du miel a été déterminée en mesurant le diamètre de la zone d'inhibition déterminée par les différentes concentrations du miel à l'aide d'une règle transparente.

Les témoins négatifs sont préparés dans des puits isolés contenant le milieu de culture et la souche fongique testée mais sans addition du miel.

MATERIEL ET METHODES



Figure 4: Préparation d'inoculum



Figure 5: Lamesure de la densité optique de la souche fongique



Figure 6: Technique d'ensemencement par écouvillonnage

RESULTATS ET DISCUSSION

RESULTATS ET DISCUSSION

L'évaluation de l'effet inhibiteur des différents miels testés à différentes concentrations (100 %, 50%, 25% et 12.5%) sur *C.albicans* en comparaison à l'activité antifongique d'un produit de synthèse (Mycocid) est exprimée par le diamètre des auréoles d'inhibition (Figure 7). Les résultats obtenus sont résumés dans la Figure 8.

En comparant les diamètres de zone d'inhibition pour tous les échantillons testés dans la présente étude, nous avons observé les résultats suivants :

-Les miels purs pour les trois échantillons testés dans notre étude ont donné des diamètres plus proches de 23, 24 et 26 mm respectivement pour le miel de cidre, de cresson et d'euphorbe (Figure 8). Cependant la valeur maximale a été attribuée au miel (Ech3) testé sans dilution. L'action antifongique la plus faible a été enregistrée par le miel (Ech1) montrant ainsi un diamètre d'inhibition de 23 mm (Figure 8).

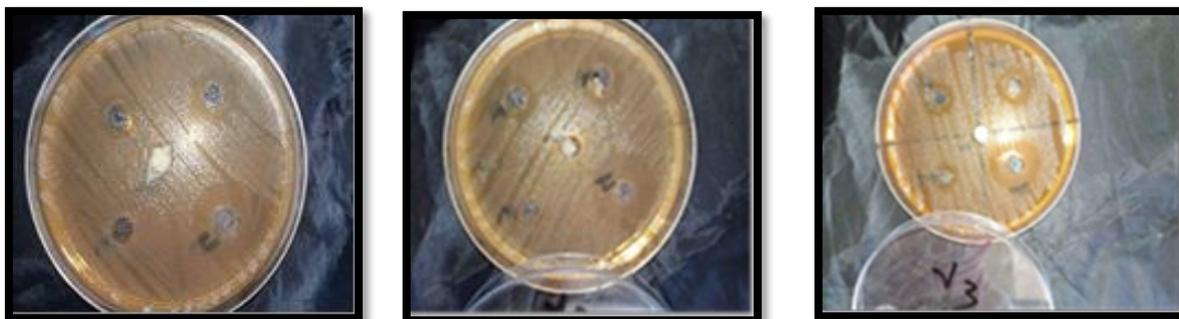
-Les miels dilués à 50% pour les trois échantillons testés ont donné une activité antifongique plus ou moins acceptable avec des diamètres allant de 17 à 18mm. Par contre, les miels dilués à 25% ont donné une activité antifongique moyenne avec des zones allant de 13 à 15mm de diamètre.

-A cette concentration (12.5%), les échantillons 1 et 3 n'ont révélé aucune inhibition sur *C.albicans*,, excepté l'échan 2 qui avait une action faible (11mm) (Figure 8).

Les figures 7 et 8 illustrent entre autres l'aspect de la zone d'inhibition causée par les trois échantillons de miel sur *C.albicans*.

Cependant, le produit antifongique de synthèse (Mycocid) n'a donné aucun résultat.

RESULTATS ET DISCUSSION



Echantillon 1:

Miel de cidre

Echantillon 2 :

Miel de cresson

Echantillon 3 :

Miel d'euphorbe

Figure 7 : Les auréoles d'inhibition observées pour les trois échantillons testés

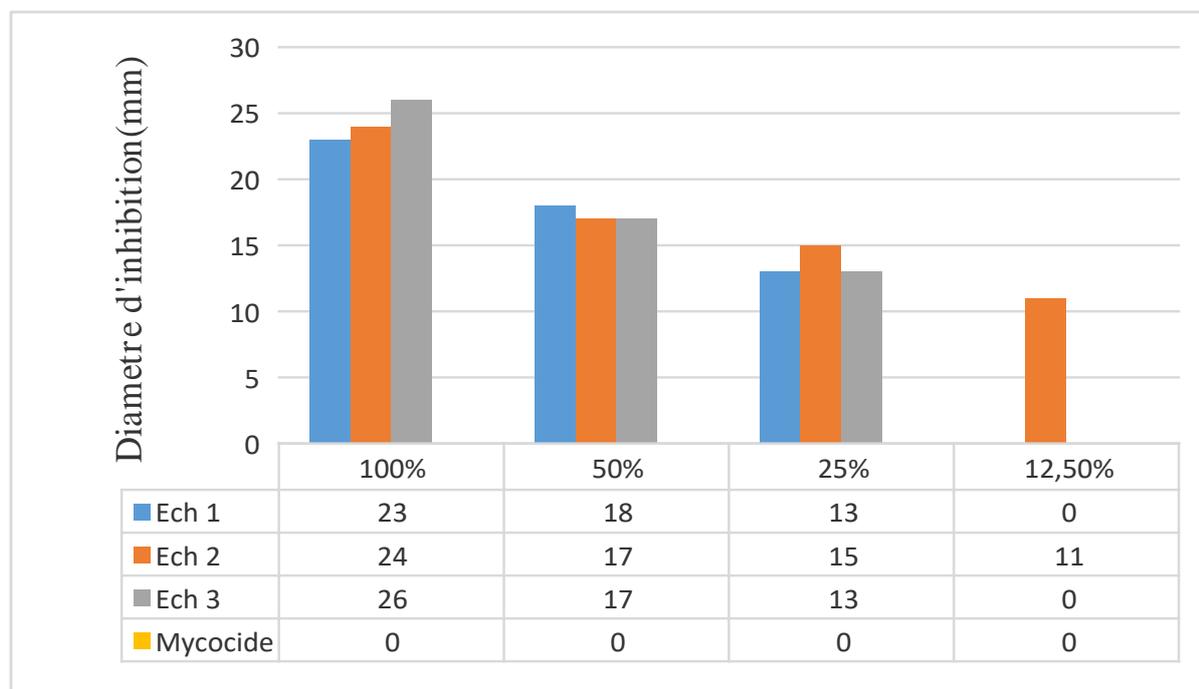


Figure 8 : Diamètre d'auréoles d'inhibition en mm des 3 échantillons du miels

RESULTATS ET DISCUSSION

La méthode de puits de diffusion fournit des résultats qualitatifs interprétables et la quantification de l'inhibition de la croissance microbienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition (**Dorman et Deans, 2000**).

Les résultats d'évaluation de l'activité inhibitrice montrent que *C.albicans* testée est sensible à l'action antifongique des trois échantillons de miel naturel. Des différences d'inhibition ont été notées d'un type de miel à un autre. L'effet inhibiteur du miel est plus prononcé avec les échantillons concentrés (100%) mais il a nettement diminué dans le cas de la faible concentration (50, 25 et 12.5%).

Des résultats similaires ont été rapportés dans l'étude de **Nadir, 2015** où la levure *C.albicans* est révélée sensible à l'action de 34 échantillons de miel Algérien pur (100%) avec des zones d'inhibition allant de 11 à 15mm de diamètre en utilisant ainsi la méthode de disque de diffusion qui a le même principe de la méthode de puits de diffusion. Les résultats très satisfaisants rapportés par **Siben 2007** montrent que la levure *C.albicans* testée par la même méthode est révélée également sensible à l'action du miel dilué à 35% avec un intervalle de 13 jusqu'à 40mm.

Les travaux de **Al-Waili et al., 2005** montrent des zones d'inhibition très intéressantes de *C.albicans* qui apparaissent également dans des milieux solides à concentration de 30 à 100%. Ce qui a été prouvé aussi par les résultats rapportés par **Theunissen et al., 2001** sur la sensibilité de cette levure.

Le mode d'action du miel comme agent antifongique n'est pas bien élucidé. Cependant, il est actuellement reconnu que le caractère inhibiteur du miel est lié à ses propriétés physico-chimiques ainsi qu'à la présence de plusieurs autres composants antimicrobiens appelés inhibines. Le miel présente la plupart du temps un pH qui varie entre 3 et 4 et les bactéries sont incapables de croître dans un milieu aussi acide. En outre, les miels dilués ont de même montré un effet antimicrobien ce qui laisse penser l'existence d'autres substances antimicrobiennes notamment des inhibines qui sont impliquées dans cette activité (**Molan, 2003**).

RESULTATS ET DISCUSSION

Actuellement, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) constitue la principale inhibine retrouvée dans la plupart des miels.

La production de H₂O₂ est l'un des composants du miel qui influence son activité antimicrobienne. Les différentes concentrations de ce composé dans différents miels pourraient entraîner ses effets antimicrobiens variés.

Cette production de H₂O₂ résulte de la réaction enzymatique entre le glucose et la glucose-oxydase en présence d'eau et d'oxygène (Kerkvliet, 1996). Cette enzyme n'est pas active dans le miel pur par contre elle le devient dans le miel dilué générant ainsi plus de H₂O₂. De plus, la formation d'acide gluconique accroît l'acidité du miel limitant ainsi la croissance de microorganismes. D'autres inhibines dites non peroxydes tels que des lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques et autres substances non identifiées possèdent également cette propriété antimicrobienne (Brudzynski, 2006).

Toutefois, des composés volatils et aromatiques contribuent également au pouvoir inhibiteur du miel (Manyl-Loh et al. 2011).

Dans notre étude il est difficile de comparer les résultats obtenus dans cette étude car ils proviennent de nombreux auteurs utilisant les miels d'origines florale et géographique variées dont le mode de conservation est souvent inconnu et mettant en oeuvre les tests microbiologiques qui ne sont pas tous basés sur la même méthode. Mais, au vu de l'ensemble des résultats obtenus, on peut tout de même conclure que les miels possèdent une activité inhibitrice remarquable *in vitro*. Ces résultats sont encourageants le miel pourrait être une alternative intéressante dans la thérapeutique anti-infectieuse.

CONCLUSION

CONCLUSION

L'apparition des souches fongiques résistantes aux traitements chimiques à base de fongicides synthétiques pousse à la recherche d'alternatives plus efficaces et plus sûres. C'est grâce à sa composition particulière et sa grande complexité que le miel a montré des propriétés antifongiques très intéressantes, ce qui ouvre l'objet à la réalisation de beaucoup de recherches scientifiques dans le monde entier sur le miel de différente origine biologique en vue de connaître leurs activités pharmacobiologiques et notamment son activité antifongique.

C'est dans ce cadre que s'inscrit notre travail qui consiste à tester l'effet antifongique de trois échantillons de miels purs et dilués à des différentes concentrations sur *Candida albicans*, espèce de levures les plus incriminées en pathologies humaines. Les résultats obtenus dans notre étude montrent des effets très intéressants des miels purs et dilués sur la souche de *Candida albicans*. Néanmoins, nos résultats varient en fonction des variétés de miels et de concentrations testés. L'effet antifongique révèle plus efficace pour les échantillons de miels purs, suivis par les miels dilués à forte concentration.

La valeur médicinale du miel comme antifongique naturel continue de plus en plus à se développer scientifiquement pour assurer son utilisation en médecine humaine et plus particulièrement dans le secteur de l'industrie pharmaceutique. Néanmoins, ce produit naturel risque d'être contaminé ou altéré il est préférable d'utiliser des moyens pour le conserver. Cependant, même si le miel a déjà fait l'objet de diverses études ayant mis en évidence leurs propriétés, de nombreuses interrogations persistent encore concernant leur composition et l'action de certains composants.

N'oublions pas que ces produits si précieux ne peuvent être synthétisés artificiellement par l'Homme. Seule l'abeille, véritable alchimiste de la nature est capable de les produire. C'est pourquoi, il est impératif de préserver la survie de cet insecte face à la menace des pesticides, des parasites, virus et prédateurs ou du changement climatique.

En fin, nous souhaiterons que nos résultats puissent trouver une application possible dans le traitement des différentes maladies causées par des germes pathogènes.

CONCLUSION

Au terme de notre étude, nos résultats préliminaires nous encouragent à mener à l'avenir des travaux plus approfondis. Il serait judicieux de compléter ce travail par :

- La recherche d'autres variétés de miels à activité antifongique,
- la caractérisation de chaque type de miel en identifiant le constituant qui est responsable à l'effet antifongique,
- Faire des applications cliniques de nos échantillons (essais in vivo),
- Tester l'efficacité de ces miels contre les souches de candida formatrice et non de biofilm.

REFERENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

PEFERENCES BIBLIOGRAPHIQU

Al-Waili, N.S. (2005). «Le mélange de miel, de cire d'abeille et d'huile d'olive inhibe la croissance de Staphylococcus aureus et Candida albican»s. Arch Med Res, vol. 36, p. 10-3. Pubmed

Al-Waili, N.S. Salom K, G. Butler G, Al Ghamdi A.A. Honey and microbial infections: areviewsupporting the use of honey for microbial control J Med Food, 14 (10) (2011), pp. 1079-1096

Basualdo C, V. Sgroy, M.S. Finola, J.M. MarioliComparison of the antibacterialactivity of honeyfromdifferent provenance againstbacteriausuallyisolatedfrom skin woundsVetMicrobiol, 124 (3-4) (2007), pp. 375-381

BIABIANY M. RECHERCHE ET DEVELOPPEMENT D'EXTRAITS ANTIFONGIQUES ISSUS DE LA FLORE GUADELOUPEENNE : Caractérisations phytochimiques, pharmacologiques et formulation.Thèse Doctorat Biologie, Lille nord de France ;2011 p31

Bergman, A. Yanai, J. Weiss, J. Bell, D. David, M.P. (1983). «Accélération de blessure guérissant par application topique de miel: Un modèle animal». Le journal Américain de la chirurgie, vol. 45, p. 374-376.

Bessas, A. (2008). «Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le Sud Algérien». Mémoire d'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Université Djilali Liabes-Sidi Bel Abbes, Algérie

Brudzynski K. (2006). Effect of hydrogenperoxide on antibacterialactivities of Canadian honeys, Can. J.Microbiol. 52: 1228-1237.

PEFERENCES BIBLIOGRAPHIQU

Cécile GarnaudMurielCornet. Membrane et paroi fongiques : des rôles clés dans la résistance aux antifongiques. Revue Francophone des Laboratoires Volume 2020, Issue 519, February 2020, Pages 50-58

CLEMENT H. Guide des miels. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, 2009, p.464-528.

DevelouxM., S. Bretagne. Candidoses et levures diverses. EMC-Maladies Infectieuses 2 (2005) 119–139

Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents fromplants:antibacterialActivity of plant volatile oils». J App Microbiol, vol.88, n°2, p. 308-16.

Donadieu, Y. (1981). «Quelles sont les vertus du miel». Apitherapie Faculté de Medecine de Paris. En ligne<[http:// www.01santé.com](http://www.01santé.com).

Eucast. (2000). Definitive Document E. Def3.1.2000. «Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) of antibacterial agents by agar dilution».EropeanCommittee for antimicrobialsusceptibilitytesting (EUCAST) of the European society of clinical microbiologie and infection diseases (ESCMID).

Guerriat, H. (2000). « Etre performant en Apiculture». Édition Rucher du Tilleul. 415p.

Hochedez P., Datry A., Caumes E. Mycoses superficiellesEMC (2007) 4-1380.

Koechler, S. (2015). « Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? ». Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Lorraine.

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

PEFERENCES BIBLIOGRAPHIQU

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

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

Marc Pihet, Agnes Marot Diagnostic biologique des candidoses. REVUE FRANCOPHONE DES LABORATOIRES - MARS 2013 - N°450

Martin-Loeches I., Antonelli M., Cuenca-Estrella M., et al. ESICM/ESCMID task force on practical management of invasive candidiasis in critically ill patients Intensive Care Med, 45 (6) (2019), pp. 789-805.

Maubon D., Garnaud C., Calandra T., et al. Resistance of Candida spp. to antifungal drugs in the ICU : where are we now? Intensive Care Med, 40 (9) (2014), pp. 1241-1255

Maubon D, F. Morio. 2019. Résistance des micromycètes aux antifongiques. – EMC Maladies infectieuses 1 Volume 16 n°1

Molan, P. (1999). «Le rôle du miel dans la gestion des blessures». Journal du soin de blessure, vol. 8, n°8, p.415- 418.

Molan ,P. (2003). «Antibacterial properties of honey». Hivelights, vol.15, n°1, p.19

Nadir, S. (2014).« Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, Algérie

Nelly Contet-Audonneau, Jean_Luc Schmutz. Antifongiques et mycoses superficielles. Revue Française des Laboratoires, Avril 2001, N°332

PEFERENCES BIBLIOGRAPHIQU

Pappas P.G., Kauffman C.A., Andes D.R., et al. ExecutiveSummary : Clinical Practice Guideline for the Management of Candidiasis : 2016 Update by the InfectiousDiseases Society of America Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am, 62 (4) (2016), pp. 409-417

Postmes, T. Van Den Bogaard, E.A. Hazen, M. (1984). «Le miel pour la conservation de blessures, d'ulcère et de greffe de peau». The Lancet, vol. 341, p. 756- 757

Rossant, A. (2011). «Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Limoges. En français

Sib, A. (2007). «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.

Theunissen, F. Grobler, S. Gedalia, I. (2001). «The antifungal action of three South African honeys on Candida albicans». Journal of Apidologie, vol. 32, p. 371–379.

White, J.W. (1975). «Physical Characteristics of honey». In: Crane, editor, Honey, a comprehensivesurvey. UK: Heinemann London, p. 157-206

RESUMES

RESUMES

فعالية مضادات الفطريات لعسل الصحراء مقارنة بمضادات اصطناعي

على كانديدا ألبيكانس (Candida albicans)

الهدف من دراستنا هو اختبار التأثير المضاد للفطريات من عينات من عسل جنوب الجزائر على

كانديدا ألبيكانس.

اختبرت في هذه الدراسة ثلاث عينات من عسل النحل من أصول نباتية مختلفة بطريقة البئر الانتشاري

(عسل السدر ، عسل الجرجير ، عسل اللبينة). تم تقييم اثني عشر (12) عينة بين (03) عسل نقي

ومخفف (09) بتركيزات مختلفة

بمعدل أربعة اختبارات لكل مستحضر (%50 ، %25 ، 12.5)

أظهرت العينات الثلاثة المستخدمة نشاطاً مضاداً للفطريات مثيراً للاهتمام على السلالة المختبرة بالعسل

النقي والمخفف بتركيزات متفاوتة ، وبالتالي تظهر مناطق تثبيط تتراوح من 11 إلى 26 مم

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح تأثير العسل النقي مقارنة بالعسل المخفف على نمو،

كانديدا ألبيكانس.

تم الإبلاغ عن نتائج مماثلة في الأدبيات. ومع ذلك ، يظل هذا التأثير المثبط الملحوظ متغيراً اعتماداً على

نوع العسل الذي

تم اختباره وأصله البيولوجي وتركيزه

سيتم إجراء مزيد من الدراسات المتعمقة في المستقبل للتحقيق في الآثار العلاجية المحتملة الأخرى للعسل

، وبالتالي باستخدام عدد كبير من العينات بتركيزات مختلفة وبطرق تقييم مختلفة

الكلمات المفتاحية: عسل ، مضاد للفطريات ، كانديدا ألبيكانس ، عسل الجرجير ، عسل اللبينة ، عسل السدر

RESUMES

Résumé

Activités antimycosiques du miel de sahara comparées avec les antifongiques sur candida albicans

Le but de notre étude est de tester l'effet antifongique de miels provenant du sud Algérien sur la Candida albicans (C.albicans) en comparaison avec l'effet d'un antifongique de synthèse. Trois échantillons de miel de différente origine botanique , comparés au Mycocid ont été testés dans cette étude par la méthode de puits par diffusion (miel de cidre, miel du cresson et miel d'euphorbe). Un total de Treize (13) échantillons entre miels purs (03) , dilués (09) à différentes concentrations (12.5%, 25% , 50%) et Mycocid a été évalué à raison de quatre tests pour chaque préparation.de miels.

Les trois échantillons utilisés présentent ainsi une activité antifongique intéressante sur la souche testée par des miels purs et dilués à des concentrations variables en montrant ainsi des zones d'inhibition allant de 11 à 26mm.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel pur par rapport aux miels dilués sur la croissance C.albicans. Cependant, le Mycocid n'a donné aucune zone d'inhibition. Des résultats similaires ont été rapportés dans la littérature concernant l'utilisation du miel. Néanmoins cet effet inhibiteur constaté reste variable selon le type de miel testé, son origine biologique et sa concentration.

D'autres études approfondies seront réalisées à l'avenir en vue de rechercher les autres éventuels effets thérapeutiques du miel en utilisant ainsi un grand nombre d'échantillons à différentes concentrations et par différentes méthodes d'évaluation.

Mots clés : antifongique, Candida albicans, miel du cresson, miel de cidre, miel d'euphorbe, Mycocid.

RESUMES

Abstract:

Antimycotic activities of Sahara honey compared with antifungals

on *Candida albicans*

The aim of our study is to test the antifungal effect of honey from southern Algeria on *Candida albicans* (*C. albicans*) in comparison with the effect of a synthetic antifungal. Three samples of honey of different botanical origin, compared to Mycocid, were tested in this study by the diffusion well method (cider honey, watercress honey and spurge honey). A total of Thirteen (13) samples between pure honeys (03), diluted (09) at different concentrations (12.5%, 25%, 50%) and Mycocid were evaluated at the rate of four tests for each preparation of honeys.

The three samples used thus exhibit interesting antifungal activity on the strain tested with pure and diluted honey at varying concentrations, thus showing zones of inhibition ranging from 11 to 26 mm.

The results obtained clearly show the impact of pure honey compared to diluted honey on *C. albicans* growth. However, Mycocid did not give any zone of inhibition. Similar results have been reported in the literature regarding the use of honey. However, this observed inhibitory effect remains variable depending on the type of honey tested, its biological origin and its concentration.

Further in-depth studies will be carried out in the future to investigate other possible therapeutic effects of honey, thus using a large number of samples at different concentrations and by different evaluation methods.

Keywords: Honey, antifungal, *Candida albicans*, sider honey, euphorbia honey, cress honey, Mycocid.