

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE 8 MAI 1945 GUELMA
FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCES DE LA TERRE ET
DE L'UNIVERS
DEPARTEMENT DE BIOLOGIE



Mémoire de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Biologie moléculaire des procaryotes

Thème : Effet antibactérien du miel

Présenté par :

Boussaha khadidja

Boumzaoute Ahlem

Layada Heyem

Devant le jury composé de :

Présidente : M^{me} Boussadia M

(M.A.A) Université de Guelma

Examinatrice : M^{me} Hamdikan M

(M.A.A) Université de Guelma

Encadreur : M^{me} Dafri Ayed H

(M.A.A) Université de Guelma

Juin 2015

Remerciement

Nous remercions le bon Dieu de nous avoir offert la vie, la foi et la force pour aller de l'avant et être la fierté de nos proches

Nous tenons à exprimer notre remerciement respectueux, Et profonde reconnaissance à notre encadreur Madame Ayed ; qui nous a orienté et conseillé tout au long de ce travail.

Nous remercierons également les membres de jury Mme Hamdikhan Et Mme Boussadia Qui nous ont fait L'honneur de juger notre travail.

On tient à remercier très respectueusement Mme HIMER Ratiba technicienne du laboratoire de biochimie d'université de Guelma pour nous avoir soutenus durant notre période de travail au laboratoire ainsi les techniciennes des laboratoires (Ghania, Wafa) qui nous ont facilité notre travail.

Un grand merci à Mr.Saidia chef service de Bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr, pour son aide précieux.

Nous ne saurions oublier toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin, à la réalisation de ce travail

Dédicace

Je dédie ce simple travail spécialement :

*Aux personnes que j'ai tant aimé qu'elles assistent à ma
soutenance*

*À mes très chères mamans, mon père et mon oncle qui
m'ont toujours soutenu tout le long de ma vie*

À mes sœurs et frères et toute ma famille

*À mes chères amies : Lobna , Selma, Heyem , Amel , Ahlem
et tous mes amies pour leur soutien aux moments difficiles
de mon travail et tous ceux qui ont nous aidé de près ou de
loin...*

Khadidja



Dédicaces

Je Dédie ce modeste travail à :

*A mon très cher parent, pour leur endurance, leur amour,
leurs sacrifices et leurs encouragements.*

*A mon marie Mouhamed alghani qui m'a toujours
encouragé.*

A mes chères sœurs : Nada, Basmala, et mon frère Wassim.

A mes chères amies : khadidja , Heyem , Karima .

*A toute ma famille, tous mes chers amis, et tous mes
proches.*

*A Tous ceux qui m'ont aidé dans la réalisation de ce
mémoire.*

A tous ceux qui me connaissent de près ou de loin.



Ahlem

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

La prunelle de mes yeux, l'espoir de ma vie

Celle qui m'a entourée de son amour et de sa tendresse, à
ma chère mère

Que dieu la garde

A celui qui m'a toujours appris comment

Réfléchir avant d'agir, à celui qui m'a soutenu tout au
long de ma vie scolaire, à celui qui

N'a jamais épargner un effort pour mon bien,
mon cher père

que dieu me le garde

Mes chers frères: Akram, Rahim, Mahdi.

Mes chères amies: Khadidja, Ahlem, Meriem.

A tous ceux qui ont participé pour que je puisse terminer ce
travail.



Heyem

Introduction

Les produits de la ruche sont depuis des millénaires exploités par l'homme. Ils sont issus de substances naturelles, produits par les abeilles. Leurs utilisations variées assurent un bon marché et représentent un revenu d'appoint pour l'apiculteur. Au nombre de ces produits, le miel est l'un des aliments les plus anciens de l'humanité qui a toujours été apprécié, d'une part pour ses qualités gustatives et d'autre part, pour ses nombreuses vertus thérapeutiques (**Donadieu, 1984**).

Aujourd'hui, le miel un aliment de consommation courant .il reste un aliment apprécié pour ses qualités gustatives originales et pour sa richesse en énergie.

Selon l'Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), la production du miel a augmenté durant les dernières années .Le premier continent de production du miel dans le monde est l'Asie puis l'Europe, et l'Amérique du sud et Centrale.

Selon les statistiques de l'organisation arabe pour le développement agricole (OADA), les pays du moyen orient sont les plus grands consommateurs de miel, sa production est passée de 20590 tonnes dans la période de 1998 à 2002 à 22310 en 2005 (**Achouri, 2015**).

Le saint Coran et le Hadith du prophète présentent le miel en tant que guérisseur des maladies ; dans le coran :« de leur ventre ,sort une liqueur ,aux couleurs variées ,dans laquelle il y a une guérison pour les gens , il y a vraiment là une preuve pour les gens qui réfléchissent » SOrat nahl (verset 68-69) , dans le Hadith le prophète (bénédictioin et paix sur lui) a dit : « le miel est un remède pour chaque maladie, et le coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit , c'est pourquoi je vous recommande les deux remède :le coran et le miel »

(Rapporté par l'Imam Bukhari) .

L'impact des maladies ne cesse de croître dans le monde .cela est dû généralement au phénomène de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques des produits naturels. Le miel compte parmi ces produits les plus importants .en raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques.de nombreuses études se sont intéressés aux propriétés thérapeutiques du miel (**Badawy, 2004 ; Baltrusaityte, 2007**).

La présente étude, repose sur l'analyse physicochimique et phytochimique des cinq échantillons du miel ainsi que la détermination de l'activité antibactérienne vis-à-vis certains microorganismes. Trois parties seront développées :

La première partie : est une étude bibliographique sur le miel et le monde microbien.

La deuxième partie : traite le matériel d'étude et les méthodes suivies pour l'analyse physicochimique, chimique, et l'activité antibactérienne.

La dernière partie est consacrée pour les résultats obtenus et leur discussion.

Table des matières

| | |
|--|----|
| Introduction..... | 1 |
| Partie I : Synthèse bibliographique | |
| Chapitre I : Généralités sur le miel | |
| I. Définition..... | 3 |
| II. Fabrication du miel..... | 3 |
| II.1.l'abeille..... | 3 |
| II.2. l'apiculteur..... | 4 |
| III .Les differents types du miel..... | 4 |
| III.1.Miel de fleurs ou miel de nectar..... | 4 |
| a.Miels mono floraux..... | 4 |
| b.Miels multi floraux..... | 5 |
| III.2.Miel de miellat..... | 5 |
| IV. Composition chimique..... | 5 |
| IV.1.Eau..... | 5 |
| IV.2. Hydrates de carbone..... | 6 |
| IV.3.Protéines et les acides aminés..... | 6 |
| IV.4. Enzymes..... | 6 |
| IV.5. Acides organiques et autres matières organiques..... | 7 |
| IV.6. Vitamines..... | 7 |
| IV.7. Sels minéraux et les oligo-éléments..... | 8 |
| IV.8. Lipides..... | 9 |
| IV.9.Substances aromatiques..... | 9 |
| IV.10. Acides phénoliques et les polyphénols..... | 9 |
| V. Propriétés du miel..... | 10 |
| V.1. Propriétés physico-chimiques..... | 10 |
| V.1.1.Viscosité..... | 10 |

| | |
|--|----|
| V.1.2.Densité | 10 |
| V.1.3.Activité de l'eau | 10 |
| V.1.4.Conductivité électrique | 10 |
| V.1.5.pH..... | 11 |
| V.2. Propriétés organoleptiques..... | 11 |
| V.2.1. Couleur..... | 11 |
| V.2.2. Odeur..... | 11 |
| V.2.3. Goûts | 12 |
| V.3. Propriétés alimentaires et diététiques | 12 |
| V.4. Propriétés thérapeutiques..... | 12 |
| V.4.1. Propriétés anti-diarrhéiques | 12 |
| V.4.2. Propriétés cicatrisantes des blessures et anti-inflammatoire..... | 12 |
| V.4.3. Action antianémique | 13 |
| V.4.4. Action apéritive et digestive..... | 13 |
| V.4.5. Propriétés antitussives, expectorantes et adoucissantes | 13 |
| V.4.6. Action préventive vis à vis des cancers..... | 13 |
| V.4.7.Propriétés antioxydants. | 13 |
| V.4.8. Propriétés antimicrobienne du miel | 14 |
| V.4.9. Action antifongique | 16 |
| VI. Les miels toxiques..... | 16 |
| VII. Principales transformations physiques et chimiques du miel | 17 |
| VII.1.Cristallisation | 17 |
| VII.1.1.Teneur en sucres | 17 |
| VII.1.2. Température..... | 17 |
| VII.1.3. Teneur en eau | 17 |
| VII.2. Fermentation | 17 |

Chapitre II: Le monde Bactérien

| | |
|---|----|
| Introduction..... | 19 |
| I. Les souches bactériennes étudiées et leurs rôles pathologiques..... | 19 |
| I.1. Bactéries à Gram négatifs..... | 19 |
| I.1.1. Genre Pseudomonas..... | 19 |
| I.1.2. Famille des Entérobactéries..... | 19 |
| I.1.2.1. Genre Escherichia..... | 20 |
| I.2. Bactéries à gram positif..... | 20 |
| I.2.1. Genre Staphylococcus..... | 20 |
| II. Mécanismes de défense contre les micro-organismes..... | 21 |
| II.1. Agents antimicrobiens..... | 21 |
| II.2. Types d'agents antimicrobiens..... | 21 |
| II.2.1. Agents physiques..... | 21 |
| II.2.2. Agents chimiques..... | 21 |
| II.2.3. Agents chimio thérapeutiques..... | 21 |
| II.3. Mode d'action des agents antimicrobiens..... | 22 |
| II.3.1. Action germicide..... | 22 |
| II.3.2. Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)..... | 22 |
| II.3.3. Détermination des doses minimales inhibitrices et bactéricides..... | 22 |

Partie II : Matériel et Méthodes

| | |
|---|----|
| I. Matériel..... | 24 |
| I.1. Les échantillons de miels..... | 24 |
| I.2. Les souches bactériennes utilisées..... | 25 |
| I.3. Les Milieux de cultures utilisés..... | 25 |
| II. Méthodes Analytiques..... | 26 |
| II.1. Analyses physico–chimiques du miel..... | 26 |
| II.1.1. Odeur et goût..... | 26 |
| II.1.2. Détermination du pH..... | 26 |

| | |
|---|----|
| II.1.3. Détermination de l'acidité libre..... | 27 |
| II.1.4. Détermination de la conductivité électrique..... | 27 |
| II.1.5. Mesure de la densité optique (DO) des miels..... | 27 |
| II.2. Analyse phyto-chimique du miel | 27 |
| II.2.1. Intensité de la couleur ABS450 | 27 |
| II.2.2. Dosage des polyphénols totaux | 28 |
| II.3. Etude de l'effet antibactérien des échantillons étudiés | 29 |
| II.3.1. Repiquage des souches bactériennes | 29 |
| II.3.2. Profils de résistances aux antibiotiques..... | 29 |
| II.3.3. Etude de l'effet antibactérien du miel..... | 31 |
| II.3.3.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé..... | 32 |
| II.3.3.2.Méthode La méthode de dilution en milieu liquide..... | 33 |
| II.3.3.3. Concentration minimale bactéricide (CMB)..... | 34 |

Partie III: Résultats et Discussion

| | |
|--|----|
| I. Analyses physico–chimiques du miel..... | 35 |
| I.1. Odeur et goût | 35 |
| I.2. Détermination du pH..... | 35 |
| I.3. Détermination de l'acidité libre..... | 37 |
| I.4. Détermination de la conductivité électrique..... | 38 |
| I.5. Mesure de la densité optique(DO)..... | 40 |
| II. Analyses phyto-chimiques..... | 42 |
| II.1. Intensité de la couleur ABS450..... | 42 |
| II.2. Teneur en polyphénols | 43 |
| III. Etude bactériologique des échantillons du miel | 45 |
| 1. Profil de résistance aux antibiotiques | 45 |
| 2. Activité antibactérienne des échantillons du miel | 48 |

| | |
|--|----|
| 2.1. Méthode de diffusion sur gélose | 48 |
| 2.1.1. Méthode de diffusion par disque..... | 48 |
| 2.1.2. Méthode de diffusion en puits | 57 |
| 2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)..... | 63 |
| 2.3. Concentration minimale bactéricide (CMB) | 66 |

Conclusion.

Références bibliographiques.

Annexes.

Résumé.

Cu : cuivre.

Fe : fer.

K : potassium.

Na: sodium.

Mg: Magnesium.

Zn: Zinc.

Ca : Calcium.

A_w : activité de l'eau.

CE : la conductivité électrique.

ATB : Antibiotique.

BN : Bouillon Nutritif.

MH : Muller Hinton.

GN : gélose nutritive.

CMB : Concentration Minimal Bactéricide.

CMI : Concentration Minimal Inhibitrice.

ABS : absorbance.

mAU : milli absorbance unit.

GAE : Equivalent acide gallique.

S/cm : siemens par centimètre.

mèq/Kg : milliéquivalents d'acide par Kg de miel.

Na₂CO₃ : Carbonate de Sodium.

NaOH : Hydroxyde de Sodium.

nm : nanomètre.

pH : Potentiel hydrogène.

H₂O₂ : peroxyde d'hydrogène.

DO : densité optique .

E. coli : *Escherichia coli*

P. aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*.

S.aureus : *staphylococcus aureus*.

Liste des figures

| Numéro | Titre | Page |
|------------------|---|--------|
| Figure 1 | Composition du miel | 9 |
| Figure 2 | Les échantillons du miel | 24 |
| Figure 3 | Courbe d'étalonnage de l'acide gallique | 28 |
| Figure 4 | Technique d'antibiogramme | 31 |
| Figure 5 | Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme | 32 |
| Figure 6 | Protocole de la CMI | 34 |
| Figure 7 | pH des échantillons du miel | 36 |
| Figure 8 | Acidité libre des échantillons du miel | 38 |
| Figure 9 | Conductivité électrique des échantillons étudiés | 39 |
| Figure 10 | Densité optique des échantillons du miel | 41 |
| Figure 11 | Intensité de couleur des échantillons du miel | 42 |
| Figure 12 | Contenu phénolique total en mg d'équivalent d'acide gallique / 100g des cinq échantillons du miel | 44 |
| Figure 13 | Antibiogramme sur les trois souches bactériennes | 45- 46 |
| Figure 14 | Histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibition des ATBs | 47 |
| Figure 15 | Effet du miel sur <i>Escherichia coli</i> (méthode de diffusion par disques) | 49 |

Liste des figures

| Numéro | Titre | Page |
|------------------|--|--------------|
| Figure 16 | Effet du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> (méthode de diffusion par disques). | 49-50 |
| Figure 17 | Effet du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (méthode de diffusion par disques). | 50 |
| Figure 18 | Histogramme représentant les diamètres de la zone d'inhibition des échantillons du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (méthode de diffusion par disque). | 52 |
| Figure 19 | Histogramme représentant les diamètres de la zone d'inhibition des échantillons du miel sur <i>E. coli</i> (méthode de diffusion par disque). | 52 |
| Figure 20 | Histogramme représentant les diamètres de la zone d'inhibition des échantillons du miel sur de <i>staphylococcus aureus</i> (méthode de diffusion par disque). | 53 |
| Figure 21 | Effet antibactérien sur les trois souches étudiées (méthode de diffusion en puits) | 57-58 -59 |
| Figure 22 | Représentation graphique des diamètres des zones d'inhibition des échantillons du miel (pur) vis-à-vis les trois souches bactérienne | 62 |
| Figure 23 | Résultats de la CMI des échantillons du miel sur les souches étudiées | 63- 64 |
| Figure 24 | Résultats de CMB sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 66 |
| Figure 25 | Résultats de CMB sur <i>Staphylococcus aureus</i> | 66 |
| Figure 26 | Résultats de CMB sur <i>E.Coli</i> | 67 |

Liste des tableaux

| | |
|--|-----|
| Tableau 1 : Vitamine dans le miel en mg /100 g..... | P8 |
| Tableau 2 : les sels minéraux et oligo-éléments du miel..... | P8 |
| Tableau 3 : Présentation des échantillons du miel étudiés..... | P25 |
| Tableau 4 : Les Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme..... | P30 |
| Tableau 5 : Odeurs et goûts du miel étudié..... | P35 |
| Tableau 6 : pH des échantillons du miel..... | P36 |
| Tableau 7 : Acidité libre des cinq échantillons du miel..... | P37 |
| Tableau 8 : Conductivité électrique des cinq échantillons du miel S/cm..... | P39 |
| Tableau 9 : Densité optique des échantillons du miel..... | P40 |
| Tableau 10 : Caractéristiques physico-chimiques des différents échantillons du miel..... | P41 |
| Tableau 11 : Intensité de la couleur des échantillons étudiés..... | P42 |
| Tableau 12 : Teneur en polyphénols en mg GAE/ 100g du miel..... | P44 |
| Tableau 13 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques..... | P46 |
| Tableau 14 : Résistance et sensibilité des trois souches étudiées aux antibiotiques..... | P47 |
| Tableau 15 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) des différents échantillons de miels vis-à-vis les trois souches..... | P50 |
| Tableau 16 : Activité antibactérienne des échantillons selon l'échelle de Mutai et <i>al.</i> | P55 |
| Tableau 17 : Effet des cinq échantillons du miel naturel sur les trois souches testés..... | P56 |
| Tableau 18 : les diamètres d'inhibition du miel sur les trois souches bactérienne par la méthode des puits..... | P60 |
| Tableau 19 : Effet des cinq échantillons du miel naturel sur les trois souches (la méthode des puits)..... | P61 |
| Tableau 20 : Inhibition de la croissance des trois souches par les échantillons du miel par la méthode de dilution en milieu liquide..... | P65 |

I. Définition

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou d'excrétions laissées sur celle-ci par les insectes suceurs qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche (Gout, 2008).

II. Fabrication du miel

Deux grands acteurs interviennent dans la production du miel : l'abeille et l'apiculteur.

II.1. L'abeille

Dans une ruche, il y a différents types d'abeilles qui s'organisent pour fabriquer leur miel, dans ce que l'on appelle une colonie d'abeilles composée de 4000 à 6000 individus.

Une abeille, au cours de sa vie qui ne dure que quelques semaines, est amenée à prendre part à toutes les activités de la ruche. Elle change de fonction au fur et à mesure de son évolution physique. Ainsi, l'ouvrière passe de la fonction de nettoyeuse à celle de butineuse, en fin de carrière, en passant par bâtisseuse, ventileuse, sentinelle, c'est-à-dire gardienne (1).

Dans un premier temps, pour récolter le nectar ou le miellat, elle utilise sa langue appelées aussi trompe. Cette langue fonctionne comme une minuscule pompe capable d'aspirer un liquide sucré, même présent en quantité infime. Cette langue doit en partie son efficacité à sa pilosité et à sa forme évoquant celle d'une cuiller.

Cette dernière prélève le nectar dans les fleurs, parfois au cœur même de la fleur, parfois sur les pétales ou même sur les tiges ou les feuilles quand des nectaires y participent aussi à l'émission du nectar. L'abeille pompe ce nectar et le stocke dans son jabot pour le rapporter à la ruche (Gout, 2008). Ensuite, elle retourne à la ruche pour donner sa récolte à d'autres abeilles qui vont se charger de modifier les sucres qui composent le miellat ou le nectar grâce à leurs enzymes salivaires.

Dans un second temps, entre en jeu l'abeille magasinnière, qui travaille à l'intérieur de la ruche. Elle s'affaire à sécher le miel en le régurgitant plusieurs fois pour l'étaler dans des sortes de cellules appelées des alvéoles, créées par les abeilles bâtisseuses à partir des cadres de la ruche. Et enfin, l'abeille ventileuse crée des courants d'air et augmente la température de

la ruche en agitant très rapidement ses ailes, tête tournée vers l'ouverture. Et ceci pendant quelques jours, pour régler l'humidité de l'air, la température et le taux de gaz carbonique à l'intérieur du nid. Pour finir, lorsque les alvéoles sont pleines, les cirières, comme leur nom l'indique, les recouvrent d'une fine couche de cire pour bien les conserver, c'est l'operculation (1).

II.2. L'apiculteur

L'apiculteur récolte le miel dans la ruche. La récolte se fait en été et selon les étapes suivantes : enfumage des abeilles pour travailler tranquillement, décollage et brossage des cadres et transport dans un véhicule étanche jusqu'à la miellerie (2).

III. Les différents types du miel

Selon l'origine florale, il existe deux types de miel ; miel de nectar et miel de miellat.

III.1. Miel de fleurs ou miel de nectar

Il se distingue comme venant des nectaires des fleurs, ou les glandes des plantes qui sécrètent une substance appelée « nectar ». La grande majorité du miel que nous consommons est le miel de fleur (Altaman, 2010). Le nectar recueilli par les abeilles sur les fleurs est une solution aqueuse sucrée dont la composition est variée en fonction des plantes. Ce dernier contient une toute petite quantité de pollen que l'on retrouve dans le miel, le pollen se trouve dans les anthères de toutes les plantes où les abeilles butinent. Le miel « moderne » ne contient qu'une infime quantité de pollen. On peut identifier le pollen au moyen d'un microscope ; famille végétale, genre ou espèce d'origine (Mutsaers *et al.*, 2005).

a) Miels monofloraux

Le miel réalisé à partir d'une seule espèce de fleur est un miel mono-floral (on dit encore uni-floral), dans cette catégorie, on trouve le miel de kapok, de banane ou de café, le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (Altman, 2010).

Ces miels maintiennent toujours même caractéristiques physicochimiques et organoleptique (l'apparence, la couleur, le goût) et sont bien appréciés pour le commerce. Il est possible de déterminer leur origine des fleurs par la reconnaissance des grains de pollen dominants (Altman, 2010).

b) Miels multi floraux

Ils contiennent le pollen du nectar de plusieurs végétaux, ces miels dits « toutes fleurs ». Les propriétés de ces miels sont beaucoup plus variables, par rapport aux espèces d'abeille, la fleuraison respective et les facteurs climatiques (Altman, 2010).

III.2. Miel de miellat

Il s'agit d'un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Ces insectes piqueurs perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève, et rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés, le miellat. Le miel de miellat est sombre, moins humide que le miel du nectar (Rossant, 2011). La cristallisation rapide de ce miel qui est souvent trouble, aigrelet et que se conserve moins longtemps (Mutsaers et al., 2005).

IV. Composition chimique

Le miel est un mélange biochimique complexe. Sa composition varie selon l'origine des plantes butinées par les abeilles, et par le procédé de la fabrication dont cette dernière demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur la composition chimique.

Le miel contient approximativement 181 composés. C'est un produit liquide naturel, hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines, les enzymes, les flavonoïdes les acides phénoliques, les pigments. Ainsi que des substances volatiles donnant au miel son arôme (Nair, 2014).

IV.1. Eau

L'eau est le deuxième composant principal du miel (17,2 g /100). Elle dépend non seulement des facteurs environnementaux, tels que le temps et l'humidité à l'intérieur de la ruche, mais également des traitements appliqués pendant la collection et le stockage du nectar et du miel. C'est un paramètre de qualité important, car il prévoit la durée de vie du produit et la capacité du miel de rester stable et exempt de fermentation. La teneur en eau la plus élevée augmente la probabilité que le miel commencera la fermentation lors du stockage. Malgré tout, la mesure simple et rapide de la teneur en eau s'est avérée suffisante pour doser le risque de fermentation de miel (Ronald, 2011).

IV.2. Hydrates de carbone

Les hydrates de carbone sont les constituants principaux du miel, ils correspondant à 95 -99 % de la matière sèche. En termes moyens, ils ont composés principalement de fructose (38,2g/100), le glucose (31,3g/100), et le sucrose (0,7 g/100), les autres hydrates de carbone en miel constituent environ 12% en masse (**Ronald, 2011**). Beaucoup moins important en poids sont les disaccharides. Ils incluent le sucrose, à environ 1 pour cent, et le maltose et beaucoup d'autres (tel que le gentiobiose, l'isomaltulose, le kojibiose, le lactose, le maltulose, le melibiose, le nigerose, le trehalose et le turanose) à environ 7 pour cent.

Certains autres monosaccharides (tels que l'arabinose, le galactose et le mannose), trisaccharides (y compris centose, dextrantriose, kestose, maltotriose, panose et theanderose), tetrasaccharides (tels que le stachyose, et encore de sucre plus complexe comprenant l'isomaltotetraose (**Stanway, 2013**)).

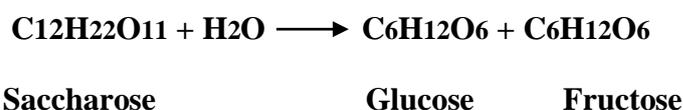
IV.3. Protéines et acides aminés

Le miel contient environ 0,2 % de protéines. Les protéines et acides aminés dans le miel sont attribuables aux abeilles et aux sources florales, la majorité d'entre eux étant le pollen. Les acides aminés représentent 1%. La proline est le principal contributeur avec 50 % à 85 % du total des acides aminés. En plus de la proline, les acides aminés présents dans le miel dans l'ordre décroissant de concentration sont phénylalanine, tyrosine, lysine, arginine, acide glutamique, histidine et la valine. La concentration de la proline est un facteur supplémentaire de qualité et dans certains cas comme critère pour estimer la maturité du miel, mais aussi un indicateur pour détecter adultération de sucre (**Boukraa, 2010**).

IV.4. Enzymes

Les enzymes sont une partie plus importante de miel comme celles-ci sont ajoutées lors de la transformation du nectar en miel par les abeilles. Les enzymes les plus importants signalés dans les miels sont les suivantes :

- **Invertase** : le saccharose est converti en glucose et fructose par l'invertase, ajouté par l'abeille et la conversion se poursuit même après extraction.



- **Glucose oxydase** : qui convertit le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène, lorsque le miel est dilué avec de l'eau et son acidité tombe, et quand il n'y a sodium suffisante (**Stanway, 2013**).



- **Catalase** : elle décompose le H_2O_2 dans le miel.

D'autres enzymes dans le miel ont inclus l'acide phosphatase qui enlève du phosphate des phosphates organiques. Le phosphate alcalin dans le miel a été aussi annoncé (**Pradip, 2005**). Les miels plus sombres contiennent des niveaux plus élevés d'enzymes. Les enzymes sont inactivés par la lumière et la chaleur excessive, qui est en partie pourquoi l'intérieur d'une ruche est très sombre et sa température est régulée par les abeilles ouvrières (**Stanway, 2013**).

IV.5. Acides organiques et autres matières organiques

Les acides organiques représentent une faible proportion dans le miel et l'acidité de ce dernier est principalement due à des acides organiques dont la quantité est inférieure à 0,5%. L'acidité contribue à la saveur de miel, la stabilité contre les microorganismes, l'amélioration des réactions chimiques, les activités antibactériennes et anti-oxydante et granulation (**Boukraa, 2010**).

IV.6. Vitamines

Le miel est relativement pauvre en vitamines si on le compare à d'autres aliments. On n'y trouve aucune vitamine liposoluble (**Tab 1**), mais un peu de vitamines du groupe B un peu de vitamine C, la thiamine, la riboflavine, la pyridoxine, l'acide pantothénique, l'acide nicotinique, la biotine et l'acide folique. Les vitamines du miel ont presque toujours leur origine dans les grains de pollen qu'il contient en suspension (**Amri, 2006**).

Tableau 1 : Vitamine dans le miel en mg /100 g (Nair, 2014).

| | |
|-------------------------------|-----------|
| Thiamine (B1) | 0.00-0.01 |
| Riboflavine (B2) | 0.02-0,01 |
| Pyridoxine (B6) | 0.01-0.32 |
| Niacine | 0.10-0.20 |
| Acide panthothénique | 0.02-0.11 |
| Acide ascorbique (vitamine C) | 2.2-2.5 |
| Phyloquinone (vitamine K) | 0.025 |

IV.7. Sels minéraux et oligo-éléments

Les miels de fleurs contiennent 0,1 à 0,35 g de sels minéraux et d'oligo-éléments /100 g de miel, les miels de miellat quant à eux jusqu'à 1 g/100 g et plus. La substance minérale principale est le potassium. Actuellement, on cherche beaucoup plus la conductivité électrique du miel qui est plus facilement mesurable et est utilisée principalement pour la caractérisation des miels mono-floraux. Selon l'origine géographique et botanique des miels, la teneur en matières minérales et la conductivité seront différentes. Il existe un rapport linéaire entre la conductivité électrique et la teneur en matières minérales d'un miel sur la base duquel il est possible de calculer la teneur en matières minérales à partir des mesures de la conductivité électrique (Amri, 2006). Les miels foncés contiennent généralement plus de minéraux que les miels clairs. Ces minéraux est K, Na, Ca, mg, Fe, Cu, Zn, phosphore... etc. (Tab 2). Le miel contient beaucoup moins de sodium que de potassium, c'est pourquoi il est conseillé d'utiliser le rapport Na/K pour détecter adultération de miel avec le sirop de maïs riche en fructose (Pradip, 2005).

Tableau 2 : les sels minéraux et oligo-éléments du miel (Nair, 2014).

| Les constituants minéraux | Quantité en mg/kg | Les constituants minéraux | Quantité en mg/kg |
|---------------------------|-------------------|---------------------------|-------------------|
| Potassium | 200 – 1500 | Manganèse | 0.2-10 |
| Sodium | 16 – 170 | Chrome | 0.1-0.3 |
| Calcium | 40-300 | Cobalt | 0.01-0.5 |
| Magnésium | 7-130 | Nickel | 0.3-1.3 |
| Fer | 0.3-40 | Aluminium | mars-60 |
| Zinc | 0.5-20 | Cuivre | 0.2-6.0 |
| Plomb | <0.02-0.8 | Cadmium | <0.005-0.15 |

IV.8. Lipides

De très faible quantité de lipides ont été isolés à partir du miel, principalement l'acide palmitique et oléique et très peu d'acide laurique, myristoléique, stéarique et linoléique (Nair, 2014).

IV.9. Substances aromatiques

Les substances aromatiques ne sont pas importantes quant à leur poids. On dénombre plus de cinquante substances aromatiques qui peuvent permettre l'identification de l'origine des miels, car elles proviennent presque exclusivement de la plante (Huchet *et al.*, 1996). Donadiou (1984), ajoute que ces substances donnent l'arôme et le goût spécifique d'un miel, mais qui ont par ailleurs des vertus thérapeutiques. Elles se conservent le mieux si le miel est stocké au froid dans des récipients fermés. Si l'on chauffe le miel, une part de ces substances est dégradée (Amri, 2006).

IV.10. Acides phénoliques et polyphénols

Les chercheurs ont classés les composés phénoliques présents dans le miel en trois groupes ; les flavonoïdes, acides cinnamiques et acides benzoïques ou en deux groupes : les acides phénoliques y compris les esters phénoliques et les flavonoïdes. Les miels foncés contiennent plus des acides phénoliques mais moins de flavonoïdes que les miels clairs. Des composés phénoliques ont été employés pour la justification de l'origine botanique et certains d'entre eux ont été également proposés comme marqueurs d'origine botanique de miel (Barcelo, 2013).

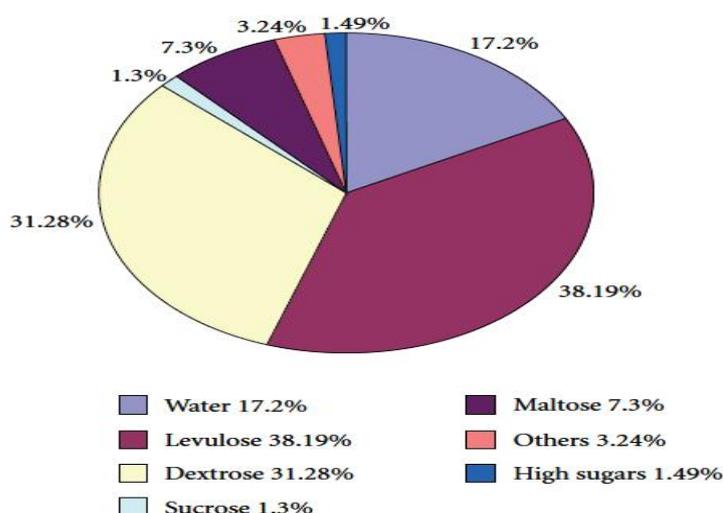


Figure 1 : Composition du miel (Saravana et Mahitosh, 2009).

V. Propriétés du miel

V.1. Propriétés physico-chimiques

V.1.1. Viscosité

Le miel est un liquide visqueux. Sa viscosité dépend d'une grande variété de substances et par conséquent varie dans sa composition et particulièrement avec sa teneur en eau et la température. Elle est indispensable à son traitement et il y a un lien important vers ses applications technologiques, extraction, pompage, réglage, filtration, mixage et mise en bouteille. Le miel de haute qualité est habituellement épais et visqueux. Si la concentration de l'eau est augmentée, le miel devient moins visqueux. Les protéines et d'autres substances colloïdales augmentent la viscosité de miel, mais leur quantité en miel peut être insignifiante (**Boukraa, 2010**).

V.1.2. Densité

La densité du miel est une mesure de la densité du miel par rapport à l'eau et dépend de la teneur en eau. La densité du miel est de 1,40 à 1,45 g/cm³, il est plus lourd que l'eau.

Autres facteurs tels que la source florale affectent légèrement la densité du miel, les miels de différentes origines ou lots devraient être bien mélangés pour éviter la superposition (**Boukraa, 2010**).

V.1.3. Activité de l'eau

L'activité de l'eau dans un produit est le rapport entre la pression de vapeur d'eau à la surface du produit et la pression de vapeur de l'eau pure (vapeur saturée) à la même température T du produit (**Amrouche, 2010**). L'influence de la composition du miel sur la valeur a_w a été étudiée dans les travaux de **Ruegg et al (1981)**. Les valeurs a_w du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' a_w est $< 0,60$ peuvent être du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement (**Bogdanov et al., 2003**). Auparavant, la mesure de l'activité de l'eau était longue et frustrante. Les nouvelles technologies de mesure ont grandement amélioré la rapidité, la précision et la fiabilité des mesures (**Chouia, 2014**).

V.1.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la capacité d'un matériel à transporter la circulation d'un courant électrique. Dans le miel, la conductivité électrique dépend principalement de la teneur

en minéraux du miel. Elle est le paramètre de qualité principale pour le miel, qui est spécifié dans le codex alimentaire. la valeur de l'EC devrait être pas plus de 0,8 mS.cm-1 pour le miel de nectar et le mélange des miels de fleur et miel de miellat et pas moins de 0,8 mS.cm-1 pour des miels de miellat et de châtaigne (**Boukraa, 2010**).

V.1.5. pH

Bogdanov et al (1999) qui ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5, par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 5 et 5,5.

Ibrahim et al (2012) indiquent que le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne. Le pH des échantillons du miel est important au cours du processus d'extraction, car elle affecte la texture, la stabilité et la durée de vie. Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (**Malika et al., 2005**).

V.2. Propriétés organoleptiques

V.2.1. Couleur

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. La couleur du miel est un autre paramètre de qualité. Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs, elle va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts ; mais le plus souvent le miel est blond . Elle est due aux matières minérales qu'il contient. La teneur en cendres des miels est inférieure à 1%, la moyenne étant 0.1%, la variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit des miels très clairs ; les plus foncés étant les plus minéralisés (**Chouia, 2014**).

V.2.2. Odeur

Dans les différents miels, les odeurs varient considérablement mais s'évaporent rapidement. Elles sont végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes, vulgaires. Une odeur de fumée ou de fermentation est un défaut (**Guerzou et Nadjji, 2009**).

V.2.3. Goûts

Il s'agit des arômes, de la saveur (acide, sucré salée, amère) et de la flaveur par voie rétronasale. Ils sont végétaux, floraux, empyreumatiques, fins, puissants ou persistants exogènes. L'arrière-goût peut être amer ou acide et laisse en fin de bouche de tanin, de rance, de fumée (**Guerzou et Nadji, 2009**). Donc l'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les tournesols, par exemple, donne un miel jaune d'or ; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate (**Chouia, 2014**).

V.3. Propriétés alimentaires et diététiques

Le miel non contaminé est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories. Il contient des glucides, des protéines, des lipides, des enzymes et des vitamines. Une cuillère à soupe du miel fournit 60 calories et contient 11 g de glucides, 1 mg de calcium, 0.2 mg du fer, 0.1 mg de Vitamine B et 1 mg de vitamine C. Il est largement disponible mais son potentiel médical est encore peu exploitable. Son mode d'action n'est pas encore complètement élucidé et ses propriétés curatives demandent plus d'évaluation et d'investissement.

Aux propriétés bénéfiques du miel miraculeusement exprimées dans le Saint Coran et la Sunna il y a 14 siècles, s'oppose une réticence de la science moderne pour accepter et exploiter le "remède traditionnel" (**Lina et al., 2011**).

V.4. Propriétés thérapeutiques

V.4.1. Propriétés anti-diarrhéiques

A une concentration de 40%, le miel a un effet bactéricide sur différentes bactéries de l'intestin souvent associées à la diarrhée et la dysenterie comme *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli enteropathogène* et *Vibrio cholera*. Une étude a montré que le miel donné avec un liquide de réhydratation aux enfants réduit la durée de la diarrhée bactérienne (**Lina et al., 2011**).

V.4.2. Propriétés cicatrisantes des blessures et anti-inflammatoire

Grâce à sa capacité à absorber l'humidité de l'air, le miel facilite la guérison et la cicatrisation des blessures. A l'origine de ce phénomène est la capacité du miel à stimuler le développement des cellules épithéliales formant la nouvelle peau sur une blessure en cours de cicatrisation. De cette manière, et ce même en cas de blessures étendues, le miel permet d'éviter le recours à une transplantation (**Harun, 2003**).

Le miel à un effet anti-inflammatoire, ce qui réduit la tuméfaction d'une blessure. Ceci améliore la circulation et ainsi active le processus de cicatrisation. Il réduit aussi la douleur. Il ne colle pas aux tissus sous-jacents à la blessure, donc le tissu nouvellement formé n'est pas rattaché, et aucune douleur n'est ressentie lorsque les pansements sont chargés (**Harun, 2003**).

V.4.3. Action antianémique

Cette action serait en relation avec la présence de fer et de cobalt dans le miel. Le cobalt est un composant normal de la vitamine B12 qui intervient dans l'organisme lors de la biosynthèse de nombreuses substances et dans différents mécanismes, notamment comme activateur de l'hématopoïèse (**Maameri, 2014**).

V.4.4. Action apéritive et digestive

Les acides présents dans le miel influencent favorablement l'appétit et la digestion (**Maameri, 2014**).

V.4.5. Propriétés antitussives, expectorantes et adoucissantes

En effet, le miel calme la toux, facilite l'expectoration, et soulage les maux de gorge (**Maameri, 2014**).

V.4.6. Action préventive vis à vis des cancers

Le risque de cancers est accru dans une population qui présente un déficit en vitamines, en oligo-éléments et en certains nutriments indispensables au métabolisme cellulaire et à la production d'enzymes et d'hormones. Ces nutriments qui ont une action inhibitrice sur le processus cancérigène se trouvent pour la plupart dans le miel. On peut notamment citer les flavonoïdes, qui ont la capacité de ralentir le processus d'évolution des tumeurs (**Maameri, 2014**).

V.4.7. Propriétés antioxydants

Le mécanisme protecteur antioxydant du miel utilise à la fois les enzymes tels que la catalase et la peroxydase, les composants phénoliques, les flavonoïdes, les acides organiques comme l'acide ascorbique et des acides aminés comme la proline. Toutefois, les composés phénoliques sont les plus importants dans cette activité. Les antioxydants sont des substances qui, présentes à faible concentration, sont capables de supprimer, retarder ou empêcher les

processus d'oxydation et ses conséquences. Les sources d'antioxydants sont nombreuses et variées : extrait d'herbe, de miel, de fruits, de légumes, de thé.

En règle générale, les miels foncés et les miels ayant une forte teneur en eau ont une capacité anti-oxydante plus grande que celle des autres miels. De plus, l'activité anti-oxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique (Maameri, 2014).

V.4.8. Propriétés antimicrobienne du miel

Depuis Van Ketel qui pour la première fois en 1892 avait fait état de l'activité antibactérienne du miel ; les différents aspects des propriétés antibactériennes du miel ont été abondamment étudiés. Mais les raisons de l'activité antibactérienne du miel sont controversées. ALLEN a montré qu'il existe différents types de miels avec ou sans activité antibactérienne, et a émis l'hypothèse que l'activité antibactérienne du miel dépend du type de fleur, source de nectar. Ainsi donc les fleurs à partir desquelles les abeilles butinent le nectar contribuent à la différence de l'activité antibactérienne des miels (Bogdanov, 1984). Cependant selon (Badawy et al., 2004), Il est évident que l'activité antibactérienne du miel décroît avec le temps et que, les différentes espèces de bactéries diffèrent dans leur sensibilité au miel. On ne connaît pas encore tous les composants antibactériens du miel et ses vertus curatives continuent de constituer une énigme pour les chercheurs (Bogdanov et Blumer, 2001).

Selon Bogdanov (1997) il existe deux sortes d'agents antibactériens appelés «inhibines». A noter que le concept « inhibines » a été introduit pour la première fois en 1937 par DODD et ses collaborateurs pour qualifier les agents antimicrobiens. L'une d'elles est sensible à la lumière et à la chaleur, et trouve son origine dans le peroxyde d'hydrogène, produit par le glucose oxydase du miel. L'activité antibactérienne non peroxyde est insensible à la lumière et à la chaleur et reste intacte après stockage du miel pour de longues périodes.

Selon Descottes (2004), plusieurs facteurs sont mis en avant à savoir :

➤ Osmolarité

L'effet osmotique est la conséquence de la forte teneur en sucre 84% étant un mélange de fructose et glucose dans le miel. Ce dernier agit comme une solution hypertonique et l'eau contenue représente habituellement 15 à 21% du poids La forte interaction de ces molécules de sucres avec les molécules d'eau laisse très peu de molécules d'eau disponible pour les

micro-organismes et conduit à une déshydratation qui absorbe l'eau vitale de ces derniers. L'effet osmotique joue un rôle fondamental dans l'action anti bactérienne du miel, toutefois un certain nombre de bactéries n'étant pas inhibées dans des milieux à faible coefficient hydrique, il est clair que d'autres mécanismes interviennent (**Brudzynski, 2006**).

➤ **Effet du pH**

Le pH du miel est relativement acide, il varie entre 3,2 et 5,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone. D'autres études retrouvent la persistance d'une activité antibactérienne marquée lorsque le miel a été neutralisé. Malgré ces observations cela ne signifie pas que l'acidité ne contribue pas à l'activité antibactérienne du miel.

Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces pathogènes (**Brudzynski, 2006**). Cependant certains miel ont un pH nettement plus élevé, entre 5 et 6 (ex : miel de châtaignier, miel de miellat, mais ceux-ci possèdent néanmoins un effet antibactérien (**Bogdanov et Blumer, 2001**)).

➤ **Peroxyde d'hydrogène H₂O₂**

L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène. L'eau oxygénée aussi appelée peroxyde d'hydrogène est considérée comme la principale inhibitive du miel. Elle est produite par réaction enzymatique ; c'est la glucose-oxydase, sécrétée par les glandes hyopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :



La réaction montre que la production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. La catalase réduit l'eau oxygénée, ainsi la concentration en peroxyde dépend donc de l'activité de ces deux enzymes (**Brudzynski, 2006**).

➤ **Autres facteurs antibactériens**

L'activité peroxydasique n'est pas la seule responsable de l'effet antibactérien, car lorsque l'on chauffe un miel, on inactive le glucose oxydase sans pour autant inhiber totalement les propriétés antibactériennes de ce miel. De même le pouvoir antibactérien du miel ne semble pas affecté quand on le traite avec des catalases qui détruisent le peroxyde d'hydrogène. D'autres facteurs contribuent à faire du miel un produit antibactérien. Des

travaux ont montré la présence d'autres facteurs antibactériens dans des miels à l'état naturel : flavonoïdes, acides phénoliques.

Certains miels sont doués d'une activité qualifiée de "non peroxydasique", c'est-à-dire qu'ils conservent un fort pouvoir antibactérien même quand leur activité peroxydasique est neutralisée (catalase, chauffage...) ; c'est le cas notamment de miels néo zélandais et australien issus d'arbustes *Leptospermum spp* (Hoyet, 2005).

V.4.9. Action antifongique

Il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique. Une solution de miel comparée à une solution isotonique de saccharose inhibe complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albican*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (Maameri, 2014).

VI. Les miels toxiques

Il existe de très rares cas d'empoisonnement par le miel ; le plus souvent, il s'agit de miel provenant de plantes de la famille des Ericacées. En effet, les principes toxiques de certaines plantes peuvent se retrouver dans le nectar des fleurs et par conséquent, dans le miel. Les substances incriminées sont des diterpènes, les grayanotoxines. Le constituant majoritaire responsable de la toxicité est la grayanotoxine I (andromédotoxine notamment l'acétyl-andromédol). Accroissant la perméabilité membranaire aux ions sodium, cette molécule dépolarise la plupart des cellules électriquement stimulables. On la retrouve dans certaines espèces de rhododendrons d'Asie mineure (*Rhododendrum luteum* et *Rhododendrum ponticum*), et d'Amérique du Nord (*Rhododendrum maximum*).

D'autres plantes peuvent être à l'origine de miels toxiques comme l'azalée (*Azalea nudiflora*) et la datura stramoine (*Datura stramonium*) aux Etats Unis, ou encore, les fleurs du rewarewa (*Knightia excelsa*) en Nouvelle-Zélande, troène, ailante, buis, aconit, ciguë, belladone, digitale. Heureusement, seule une présence massive de ces espèces végétales rend le miel toxique ; autrement, même si les abeilles butinent ces plantes, le produit final ne comporte pas la moindre contre-indication (Rossant, 2011).

VII. Principales transformations physiques et chimiques du miel

VII.1. Cristallisation

Selon **Huchet et al. (1996)**, la cristallisation des miels est un phénomène très important car c'est de lui que dépend en partie la qualité du miel. Il dépend des facteurs suivants :

VII.1.1. Teneur en sucres

Plus la teneur en glucose est élevée, plus rapide sera la cristallisation du miel, les miels avec plus de 28% du glucose se cristallisent très rapidement, mais aussi, plus la concentration en fructose par rapport à celle du glucose (rapport fructose/glucose) est élevée, plus la cristallisation est lente. En principe, le miel reste liquide au-dessus d'un rapport fructose /glucose proche de 1,3 (**Bogdanov, 1999**).

VII.1.2. Température

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18 °C. Une température constante de 14 °C est idéale pour un miel à teneur en eau moyenne. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78°C (**Huchet et al. 1996 ; Bogdanov, 1999**).

La température idéale pour une bonne conservation du miel doit être comprise entre 12 et 16°C, elle est ralentie à plus basse comme à plus haute température. Mais dans ce dernier cas, la dégradation du miel se caractérise par un taux d'HMF croissant dans le temps (**Djerd, 2008**).

VII.1.3. Teneur en eau

Les miels avec une teneur en eau de 15 à 18 % ont une bonne cristallisation. ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement, ceux au contenu hydrique faible deviennent durs, alors que ceux avec plus de 18 % d'eau restent mous (**Bogdanov, 1999**).

VII.2. Fermentation

Tous les miels naturels contiennent des levures, des champignons microscopiques responsables de fermentation alcooliques. Ces derniers proviennent du nectar, mais également de pollutions accidentelles dues aux abeilles ou intervenant après la récolte (**Louveaux, 1985**).

La fermentation peut intervenir lorsque plusieurs facteurs favorables sont réunis :

- une teneur en eau du miel est supérieure à 18 %.
- La présence de levures vivantes en quantité suffisantes.
- Une température voisine de 16°C, et comprise de toute façon entre 10 et 25°C.

Le miel qui est fermenté dégage des bulles de gaz carbonique ; sa surface se soulève, son goût change et il n'est pas commercialisable, La fermentation réduit les sucres fermentescibles comme le glucose, le mannose, le fructose en alcools et CO₂, glycérol (3 à 5%), acide succinique (0,5%) et autres produits secondaires (Butane 2.3 -diol) (0,5%) **(Rakotondraparany, 2011)**.

Introduction

L'homme vit dans un environnement peuplé d'un grand nombre de microorganismes qui sont présents dans l'air, dans le sol, dans les eaux douces, dans les eaux marines, à la surface de la peau et les muqueuses ainsi qu'au niveau du tube digestif, de l'arbre respiratoire et de l'appareil urinaire. Ces microorganismes sont constitués par les bactéries, les virus, les champignons et les parasites. Ils sont soit des hôtes naturels de l'homme et donc saprophytes (flore digestive par exemple), soit ils déterminent une infection et donc Pathogènes (**Khiati, 1998**).

I. Les souches bactériennes étudiées et leurs rôles pathologiques

I.1. Bactéries à Gram négatifs

I.1.1. Genre *Pseudomonas*

Ce genre appartient à la famille des *Pseudomonadaceae*. Les bactéries de cette famille sont des bâtonnets, mobiles par cils polaires, aérobies strictes.

P.aeruginosa se cultive facilement sur milieux usuels, en aérobiose, à la température de 30°C, il est fréquemment isolé sur la peau et les muqueuses de l'homme ou de l'animal, il est aussi particulièrement résistant aux antibiotiques et même aux antiseptiques. En milieu hospitalier il est à l'origine de des infections et de suppurations locales ou profondes, isolé essentiellement chez des patients présentant une immunodéficience locale ou générale (brûlés, cancéreux, etc.), et très fréquemment impliqué dans les infections nosocomiales (infections pulmonaires, cutanées...). De même qu'il est phytopathogène avec beaucoup d'autres espèces du même genre (**Leclerc et al., 1995**).

I.1.2. Famille des Entérobactéries

Ce sont des hôtes du tube digestif de l'homme et des animaux, mais aussi de nombreuses souches de cette famille ont été isolées de l'environnement aquatique ou terrestre. Les bactéries de cette famille se cultivent facilement sur milieux ordinaires et utilisent une très large variété de composés organiques simples comme source d'énergie: sucres, acides aminés, acides organiques. Elles sont anaérobies facultatives, bâtonnets, mobiles par cils péritriches ou immobiles, possédant des fimbriae appelés aussi pili communs, qui leur confèrent des propriétés d'adhésion aux cellules animales. La plupart des Entérobactéries pathogènes se multiplient à la température optimale de 37°C (**Leclerc et al., 1995**).

I.1.2.1. Genre *Escherichia*

Ce genre comprend 5 espèces, mais *E. coli* est la plus importante. Cette espèce est subdivisée en sérotypes sur la base des antigènes présents. *E. coli*, un hôte commun de l'intestin de l'homme et des animaux ; elle est recherchée à ce titre, comme germe témoin de contamination dans l'eau et les aliments.

A l'intérieure de l'espèce il y a des pathotypes souvent associés à des sérotypes particuliers. Certains de ces pathotypes sont responsables d'infections intestinales (gastroentérites et diarrhées), leur pouvoir pathogène est induit par des facteurs d'adhésion et/ou la production d'entérotoxines. *E.coli* entérotoxigène (diarrhées infantiles), *E.coli* entérotoxino-gène (turista), *E.coli* entéroinvasif (invasion des cellules intestinales), *E.coli* entérohémorragique (diarrhées sanglantes), *E. coli* entéroadhérent (diarrhée du voyageur). D'autres responsables de méningites néonatales, provoquent des infections du tractus urinaire, ou encore des septicémies qui correspondent à un nombre restreint de sérotypes (Leclerc et al., 1995).

I.2.Bactéries à gram positif

I.2.1.Genre *Staphylococcus*

Les staphylocoques sont des bactéries sphériques, qui se divisent sur plusieurs plans pour former des amas réguliers ou irréguliers en grappe de raisin sont immobiles et se cultivent sur des milieux contenant 5% de Na Cl et pour certains jusqu'à 10 et même 15%. Ils sont aérobies ou anaérobies facultatifs. Ils sont des germes ubiquistes largement distribués dans l'environnement naturel de l'homme, mais ils le sont plus fréquemment et en plus forte densité sur les surfaces cutano-muqueuses des mammifères.

Les staphylocoques ont un pouvoir pathogène opportuniste extrêmement large qui s'exerce avec une grande fréquence en milieu hospitalier. L'espèce *S.aureus* responsable d'infections pyogènes de la peau et des muqueuses, mais aussi osseuses (ostéomyélite), digestives un agent de plus en plus fréquent d'infections nosocomiales. Cette espèce bactérienne est l'une des espèces les plus sensibles à l'action antibactérienne du miel ; il a été souvent fait état de la complète inhibition de *staphylococcus aureus* par des miels dilués à des concentrations très basse (Leclerc et al., 1995).

II. Mécanismes de défense contre les micro-organismes

II.1. Agents antimicrobiens

On désigne par agent antimicrobien tout agent chimique, physique ou biologique inhibant la croissance et/ou la survie des micro-organismes (**Asada et al., 1998**). Ces substances ayant une affinité pour les cellules des parasites et le pouvoir de les tuer plus fort que les dommages qu'elles causent à l'organisme ; ce qui rendra possible la destruction des parasites sans perturbation sérieuse de l'organisme (**Perry et al., 2002**).

II.2. Types d'agents antimicrobiens

Il existe trois types d'agents antimicrobiens : physiques, chimiques et chimio thérapeutiques.

II.2.1. Agents physiques

De nombreux agents physiques exercent un effet antagoniste vis-à-vis des microorganismes. La chaleur ou certains types de radiations ont une action létale qui permet leur emploi dans la stérilisation de différents milieux. D'autres agents moins agressifs, comme la dessiccation limitée sont utilisés à d'autres fins.

Les principaux agents physiques sont la chaleur (humide ou sèche), les radiations (micro-ondes, rayons ultra-violets, rayons gamma, rayons bêta, rayons alpha ; rayons X). Chaque type de radiation a une longueur d'onde spécifique qui détermine son énergie, son mécanisme d'action et son domaine d'application (**Bousseboua, 2001**).

II.2.2. Agents chimiques

Ils correspondent aux substances utilisées comme désinfectants et antiseptiques. Les désinfectants sont des agents antimicrobiens utilisés sur les matériaux inertes ; leur action est létale ou inhibitrice de la croissance microbienne. Les antiseptiques ont la même nature chimique que les désinfectants mais leur toxicité plus réduite permet leur emploi sur les tissus vivants. Les désinfectants et antiseptiques les plus largement employés sont les alcools, les composés phénoliques qui agissent par dénaturation des protéines et altération des membranes cellulaires, les aldéhydes, les halogènes et les détergents (**Bousseboua, 2001**).

II.2.3. Agents chimio thérapeutiques.

Un agent chimio thérapeutique est un composé chimique ou de synthèse qui inhibe le développement des microorganismes. Ce composé agit à faibles doses, il exerce une action

très spécifique sur le fonctionnement cellulaire tout en ayant une toxicité sélective. Il inhibe le développement de sa cible ou la tue tout en étant inoffensif pour l'hôte. Dans ce groupe, on retrouve les antibiotiques, les antifongiques et les antiviraux ; Il existe actuellement deux grandes catégories d'agents chimio thérapeutiques antibactériens : les sulfamides et les antibiotiques ; ils ont des modes d'action comparables et se distinguent principalement par leur origine. Les sulfamides sont des produits de synthèse alors que la majorité des antibiotiques sont d'origine naturelle (les plus anciens) d'autres de synthèse ou d'hémi synthèse. Les agents chimio thérapeutiques comprennent cinq groupes selon qu'ils affectent la synthèse de la paroi, les échanges cellulaires, la réplication et la transcription de l'ADN, la synthèse des protéines ou certaines réactions du métabolisme intermédiaire (**Prescott et al., 1995**).

II.3. Mode d'action des agents antimicrobiens

Les agents antimicrobiens agissent par différents mécanismes et peuvent être utilisés de diverses manières, selon les objectifs recherchés et leur spécificité d'action qui peut être germicide ou germistatique.

II.3.1. Action germicide

Cette action caractérise les agents ayant une action létale sur les microorganismes. En fonction de la catégorie de microorganismes ciblés, les agents antimicrobiens exercent une action bactéricide (agent antibactérien), algicide (agent anti-algues), fongicide (agent anti champignons), virucide (agent anti-virus) ou antiparasitaire (agent anti-protazoaires). (**Bousseboua, 2006**).

II.3.2. Action germistatique (bactériostatique et fongistatique)

Dans ce cas, les agents inhibent la croissance du microorganisme sans le tuer (bactérie ou Champignon). Les substances bactériostatiques inhibent temporairement le développement microbien, les microorganismes recommenceront à se développer dès que la concentration de la substance aura diminué ou dès que l'application du procédé physique sera interrompue (**Guiraud 1998**).

II.3.3. Détermination des doses minimales inhibitrices et bactéricides

La construction des courbes de croissance in vitro en présence de concentration croissante en agents antimicrobiens permet de définir des concentrations limites : c'est-à-dire la concentration pour laquelle on n'observe pas de croissance visible. La concentration

inhibitrice 50 % ou CMI correspond à une croissance égale à la moitié de la croissance du témoin et la concentration minimale bactéricide (la CMB) correspond à la concentration permettant de tuer tous les micro-organismes. Celle-ci est appréciée par étalement après culture. Ces méthodes sont adaptables aussi bien aux antibiotiques qu'à d'autres substances bactéricides (**Perry, 2002**).

Cette étude a été réalisée dans le laboratoire de biochimie université 08 mai 1945 et de bactériologie de l'hôpital Ibn Zohr de Guelma. Elle a été divisée en deux parties, dont l'une était sacrifiée pour l'étude physico-chimique, phyto-chimique des cinq échantillons du miel Algérien, et l'autre pour l'étude bactériologique de ces variétés du miel a effet antibactérien.

I. Matériel

I.1. Les échantillons de miels

Dans le but de tester et de prédire l'activité antibactérienne du miel naturel ; il a été utilisé cinq variétés de miel naturel d'origine botanique récoltés de deux sites du l'Est algérien; il s'agit de la région de Guelma (Boumahra Ahmed , Hammam Nbail), et Al Tarf (Bouteldja , Barrihane , Al Tarf), La collecte des échantillons de miel a été effectuée au cours l'été de l'année 2014.

Chaque échantillon du miel récolté est conservé dans des flacons en verre stériles (**Fig 2**), hermétiquement fermé et gardé à la température ambiante, cette technique est utilisée pour protéger les composés sensibles à la chaleur et à la lumière.



Figure 2 : Les échantillons du miel.

Le tableau suivant présente les cinq échantillons de miel prélevés en 2014 provenant de différentes régions :

Tableau 3 : Présentation des échantillons du miel étudiés.

| | Région de récolte | L'origine |
|---------------------------|--------------------------|------------------------------|
| Echantillon 1 (E1) | Bouteldja (El Tarf) | Mono florale (Eucalyptus) |
| Echantillon 2 (E2) | Boumahra Ahmed (guelma) | Miel de montagne |
| Echantillon 3 (E3) | Berrihane (El Tarf) | Miel de montagne |
| Echantillon 4 (E4) | Hammam Nbail (Guelma) | Miel de montagne |
| Echantillon 5 (E5) | El Tarf | Miel de montagne |

I.2. Les souches bactériennes utilisées

Les souches bactériennes testées ont été identifiées par le laboratoire de bactériologie de l'hôpital d'Ibn Zohr de Guelma, où elles ont été isolées. Il s'agit d'isolats cliniques responsables d'infections nosocomiales, deux souches à **Gram négatif** : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ; une autre à **Gram positif** : *Staphylococcus aureus*.

I.3. Les Milieux de cultures utilisés

Les bactéries d'intérêt médical les plus fréquemment responsables d'infection arrivent à se développer sur des milieux de culture ; ces milieux de culture sont indispensables à la multiplication bactérienne ce qui permet par la suite une identification bactérienne ainsi que l'étude de la sensibilité aux antibiotiques lorsque la bactérie est isolée en culture pur (Francois et al., 2007).

Milieu de base (bouillon nutritif) : le milieu liquide de base est représenté par le bouillon nutritif ordinaire qui est composé de trois composants principaux, les peptones, les extraits de viande et les extraits de levure, ce milieu de base est utilisé pour un grand nombre de micro-organismes ne présentant pas d'exigences particulières (**Francois et al., 2007**).

- ✓ **Milieu d'isolement (Gélose de base):** Les milieux d'isolement ; contrairement aux précédents ; sont des milieux solides qui permettent d'obtenir des colonies isolées permettant d'effectuer les tests d'identification ou d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des bactéries d'intérêt médical (**Francois et al. 2007**).
- ✓ **Gélose nutritive(GN) :** c'est un milieu d'isolement non-sélectif ; l'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée (**3**).
- ✓ **Gélose de Muller-Hinton (MH) :** l'utilisation de cette gélose est recommandée par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de microbiologie (milieu utilisé pour tester la sensibilité des bactéries aux antibiotiques) (**Francois et al., 2007**).

II. Méthodes Analytiques

II.1.Analyses physico–chimiques du miel

Durant la période d'échantillonnage, six paramètres physico-chimiques ont été déterminées ; l'odeur et le goût, le pH, l'acidité libre, la conductivité électrique et la densité optique.

II.1.1.Odeur et goût : L'odeur du miel est variable (**Blanc, 2010**). L'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar, Les tournesols par exemple donne un miel jaune d'or ; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate (**Bradbear, 2005**).

II.1.2.Détermination du pH : Le pH du miel a été mesuré avec une électrode de pH reliée à un pH-mètre dans une solution préparée avec 10 g de miel dans 75 ml d'eau distillée (**Gomes et al., 2010**).

II.1.3. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre a été déterminée par titrage potentiométrique. Dix grammes de miel ont été dissous dans 75 ml d'eau distillée, puis une solution alcoolique de phénolphthaléine (4 à 5 gouttes) a été additionnée. La solution a été titrée avec NaOH 0,1 N. L'acidité (exprimée en milliéquivalents d'acide par kg de miel) a été déterminée comme 10 fois le volume de NaOH utilisé dans le titrage ($L'acidité = ml \text{ de NaOH } 0,1 \text{ M} \times 10$) (Gomes *et al.*, 2010).

II.1.4. Détermination de la conductivité électrique (CE) : La conductivité électrique est un bon indicateur de l'origine botanique du miel, très souvent utilisé dans le contrôle de routine du miel. Cette mesure nécessitant seulement instrumentation peu coûteuse, c'est une méthode très facile et rapide.

La CE est décrite en Bogdanov et Baumann (1997). Elle est déterminée par un conductimètre à 20°C d'une solution du miel à 20%, la lecture est faite directement après l'immersion de la cellule dans la solution. Les résultats ont été exprimés en milliSimens /Cm (Benaziza et Schweitzer, 2010).

II.1.5. Mesure de la densité optique (DO) des miels : C'est la capacité d'un milieu à absorber la lumière qui le traverse ; la mesure de l'absorbance a été faite selon la méthode de la FAO (1969) ; Peser 5g de miel et dissoudre dans 100 ml d'eau distillé pour une solution de 5% de concentration. la mesure de l'absorbance est réalisée à l'aide d'un Spectrophotomètre à 575nm après avoir étalonné l'appareil avec l'eau distillée (Guerzou et Nadji, 2009).

II.2. Analyse phyto-chimique du miel

II.2.1. Intensité de la couleur ABS450 : La couleur joue un rôle très important dans la détermination de la capacité antioxydante du miel. De nombreuses études ont analysé la corrélation entre l'activité antioxydante du miel et l'intensité de la couleur ; une couleur foncée indique une forte activité antioxydante et la présence des pigments (caroténoïdes, flavonoïdes) .

Les échantillons de miel ont été dilués à 50 % (p/v) avec de l'eau chaude (45 - 50°C). La solution obtenue a été filtrée à travers un papier filtre pour assurer une absence totale de particules grossières dans les solutions de miel. L'absorbance est mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre à 450 et 720 nm et la différence d'absorbance est exprimée en milli absorbance unit (mAU) (Moniruzzaman *et al.*, 2014).

L'intensité de couleur exprimée en mAU est donnée par la formule suivante :

$$\text{ABS450 (mAU)} = (\text{Abs450} - \text{Abs720}) \times 100$$

II.2.2. Dosage des polyphénols totaux

Le dosage des polyphénols totaux dans les différents types de miel a été effectué à l'aide de spectrophotomètre selon la méthode de Folin Ciocalteu (**Singleton et Rossi, 1965**).

Ce dosage est basé sur la réduction en milieu alcalin de la mixture phosphotungstic et phosphomolybdic du réactif de Folin par les groupements oxydables des composés phénoliques ; conduisant à la formation de produits de réduction de couleur bleu ; ces derniers présentant un maximum d'absorptions dont l'intensité est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (**Georgé et al., 2005**).

Brièvement 200 μl de chaque échantillon du miel (on a choisi une concentration de 0,2g/ml) ont été ajoutés à 1ml de réactif de Folin (dilué 10 fois) ; les solutions ont été mélangées et incubées pendant 4 minutes.

Après l'incubation 800 μl d'une solution de carbonate de sodium Na_2CO_3 (0,75%) sont additionnées au milieu réactionnel, Après 2 heures d'incubation à température ambiante l'absorbance est mesurée à 765nm.

L'acide gallique est utilisé comme standard et les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 100 gramme de miel (mg GAE/100g), en utilisant l'équation de la régression linéaire de la courbe d'étalonnage tracée de l'acide gallique (**Fig.3**).

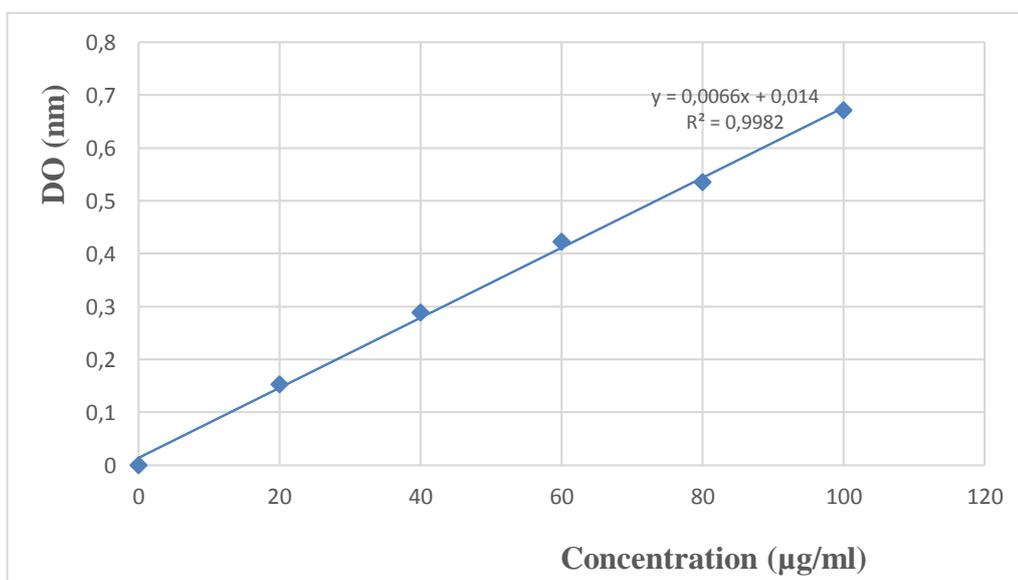


Figure 3 : Courbe d'étalonnage de l'acide gallique.

II.3. Etude de l'effet antibactérien des échantillons étudiés

II.3.1. Repiquage des souches bactériennes

Cette manipulation implique un travail dans des conditions stériles, ce repiquage se fait par le prélèvement d'une souche bactérienne à l'aide d'une anse de platine stérile et l'ensemencement de la souche sur un milieu gélosé (incubation à 37°C pendant 24h) (**Ahmed et al., 2012**).

II.3.2. Profils de résistances aux antibiotiques

C'est une méthode analytique permettant la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques.

Principe : il consiste à placer la culture de bactéries en présence d'un ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci.

✓ Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure des bactéries à tester sur milieu d'isolement (ayant au maximum 24h), des colonies bien isolées, ont été prélevées à l'aide d'une anse ou pipette pasteur ; puis déchargées dans 5ml d'eau physiologique stérile à 0,9% la suspension a été homogénéisée, afin d'avoir une opacité équivalente à 0.5MFarland. L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum (**Rahal et al., 2005**).

✓ L'ensemencement par écouvillonnage

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée sèche de haut en bas en stries serrées.
- L'opération a été répétée deux fois en tournant la boîte de pétri à 60° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**Rahal et al., 2005**).

✓ Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'ATB doivent être espacés de 24 mm centre à centre.

- Tester la liste des ATB selon la bactérie isolée.
- Presser chaque ATB à l'aide d'une pince bactériologique stérile pour s'assurer de son application. Une fois appliqué, le disque ne doit pas être déplacé (**Fig.4**).
- incuber pendant 18 h à 37°C (**Rahal et al, 2005**).

Les disques d'antibiotiques ont été assurés par le laboratoire de microbiologie de l'université 8 mai 1945 de Guelma (**Tab.4**).

Tableau 4 : Les Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

| Les antibiotiques | Abréviations |
|--------------------------------|--------------|
| Amoxicilline /AC. Clavulanique | AMC |
| Pénicilline | P30 |
| Chloramphénicol | C30 |
| Erythromycine | E15 |
| Gentamycine | GM |
| Acide fusidique | FA |
| Doxycycline | DO |
| Tétracycline | TE |

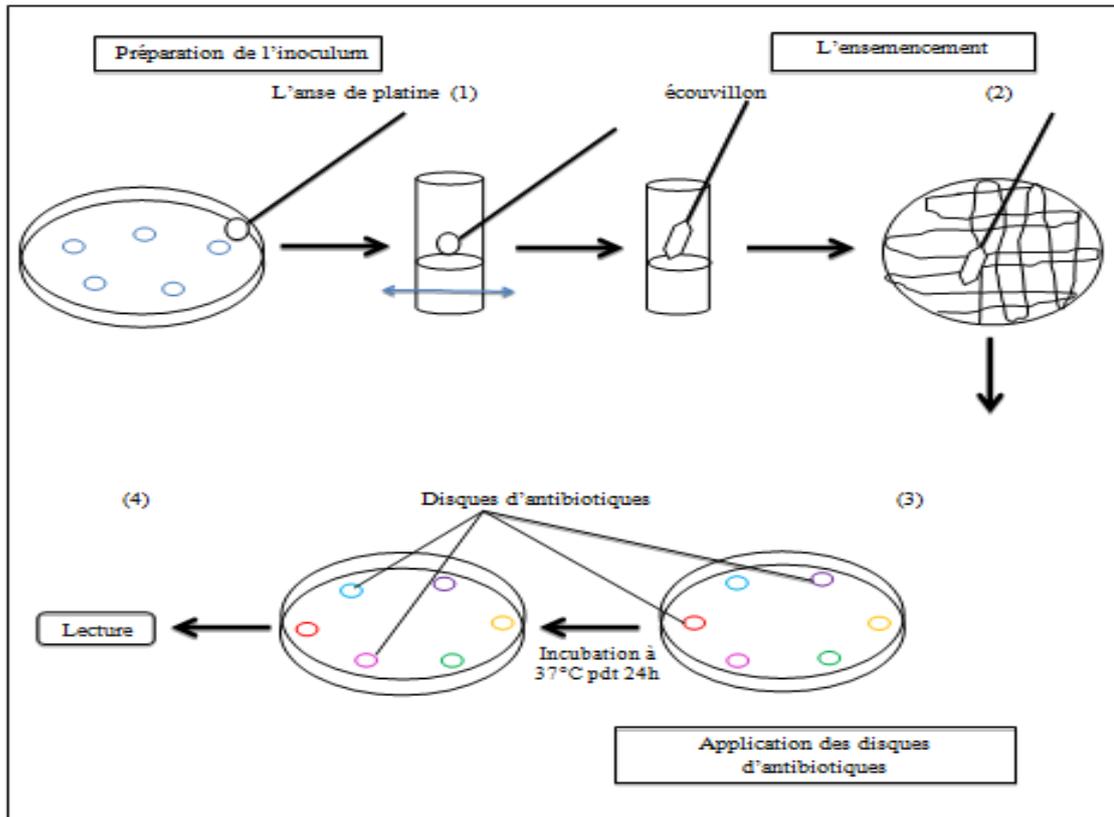


Figure 4 : Technique d'antibiogramme.

✓ Lecture et interprétation

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition, qui se fait en millimètre avec précision à l'aide d'une règle double décimètre à l'extérieur de la boîte fermée.

La souche est alors classée comme sensible **S**, intermédiaire **I**, ou résistante **R** par comparaison aux valeurs critiques expérimentales diffusées par le Comité Français de L'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (**Rahal et al., 2005**).

II.3.3. Etude de l'effet antibactérien du miel

L'évaluation du pouvoir antibactérien des cinq échantillons du miel sur les trois souches bactérienne, est réalisée par la technique de diffusion sur milieu gélosé et la méthode de dilution sur milieu liquide.

L'expérimentation est déroulée dans le laboratoire de bactériologie hôpital Ibn Zohr sur une période d'étude d'un mois.

Le profil de sensibilité des bactéries aux antibiotiques ou au miel peut être déterminé par la mesure de la zone d'inhibition aux tours des disques et des puits sur la boîte.

II.3.3.1. Méthode de diffusions sur milieu gélosé

➤ Méthode de diffusion par disque (aromatogramme)

L'aromatogramme est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale appelée antibiogramme. Elle permet de tester l'effet d'un produit antibactérien sur une souche grâce la mesure des zones d'inhibitions autour des disques imprégnés des différents produits à tester . L'inhibition quand elle est présente, se manifeste par des zones de stérilité autours des disques imprégnés de principes actifs (**Fig.5**). Leur diamètre nous permet d'évaluer le degré d'action des composés traités sur la croissance des bactéries.

En fonction du diamètre d'inhibition, la souche sera qualifiée de sensible ou résistante (**Fauchère, 2002**).

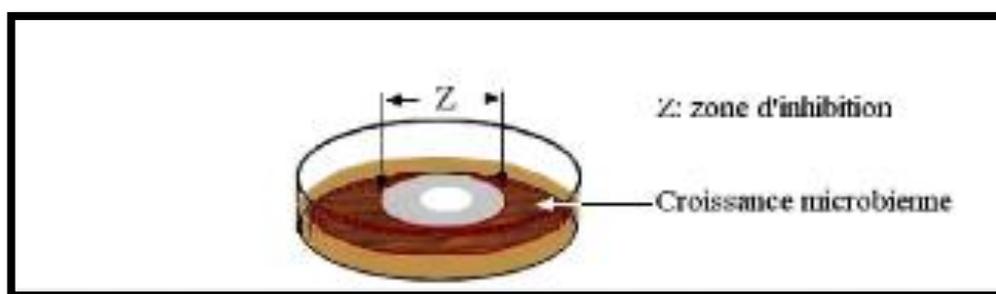


Figure 5 : Schéma simplifié du principe de la méthode de l'aromatogramme (**Zaika, 1988**).

✓ Préparation des différentes dilutions du miel

Pour chaque échantillon du miel il été préparé les dilutions (A, B, C, D) sont respectivement (25%,50%,75%,100%).

✓ Préparation des disques d'aromatogramme

Les disques sont fabriqués à partir de papier Whatman , avec un diamètre de 5.5 mm, suivant le diamètre de l'emporte-pièce. Ils sont ensuite mis dans un tube à essai (ou plus si nécessaire), et stérilisés à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes

Dépôt des disques

Après l'ensemencement sur des boites du milieu d'MH par la méthode d'écouvillonnage, les disques stériles en papier filtre sont imprégnés dans des dilutions différentes (**Merah et al., 2010**). Ils été déposés dans les boites en appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile (**Boufaghes et Mherigue, 2011**)

Après l'incubation, l'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque, identique à celui de la gélose stérile.

On a fait les mêmes étapes pour chaque souche bactérienne et chaque échantillon de miel étudié.

➤ **Méthode de diffusion en puits**

La méthode utilisée est celle de diffusion par puits sur gélose telle que décrite par **Berghe et Vlietinck (1991)**. Le milieu MH est coulé sur boîte de pétri à une épaisseur de 4 mm .

Après inoculation par écouvillonnage avec une suspension de 0,5 Mac Farland, des puits de 6 mm de diamètre sont réalisés de manière concentrique sur les milieux puis à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

Le miel est déposé avec les mêmes quantités dans tous les puits à l'aide d'une seringue graduée (des puits d'un diamètre de 6 mm et une hauteur de 4 mm). Les boîtes sont incubées à 37°C pendant 24h à l'étuve (**Feddaoui et Kerdouci , 2013**).

✓ **La lecture**

Elle consiste à mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition qui apparaissent autour des disques d'aromatogramme ou des puits à l'aide d'une règle graduée.

Nous avons considéré une souche sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 10 mm ; résistante si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm .La sensibilité est intermédiaire si le diamètre est égal à 10 mm (**Merah et al., 2010**).

II.3.3.2. Méthode de dilution en milieu liquide (détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance bactérienne)

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est définie comme étant la plus faible concentration d'un agent antibactérien capable d'inhiber toute croissance visible après un temps d'incubation de 18 à 24 heures.

Sa détermination s'effectuait à partir de la mesure de la turbidité induite par la croissance des germes étudiés. La CMI correspondra donc à la plus petite concentration pour laquelle il y a absence de turbidité (**Moroh et al., 2008**).

Sur des tubes stériles une suspension de 0,5 MC Farland de chaque souche est préparée avec un volume de 500 µl (chaque souche dans un tube) et un volume de 5 ml d'un

bouillon nutritive on ajoutant dans chaque tube 1ml de chaque dilution du miel (25%,50% ,75%,100%) (**Fig.6**).les tubes sont incubés à 37°C pendant 18 h (**Feddaoui et Kerdouci , 2013**) .

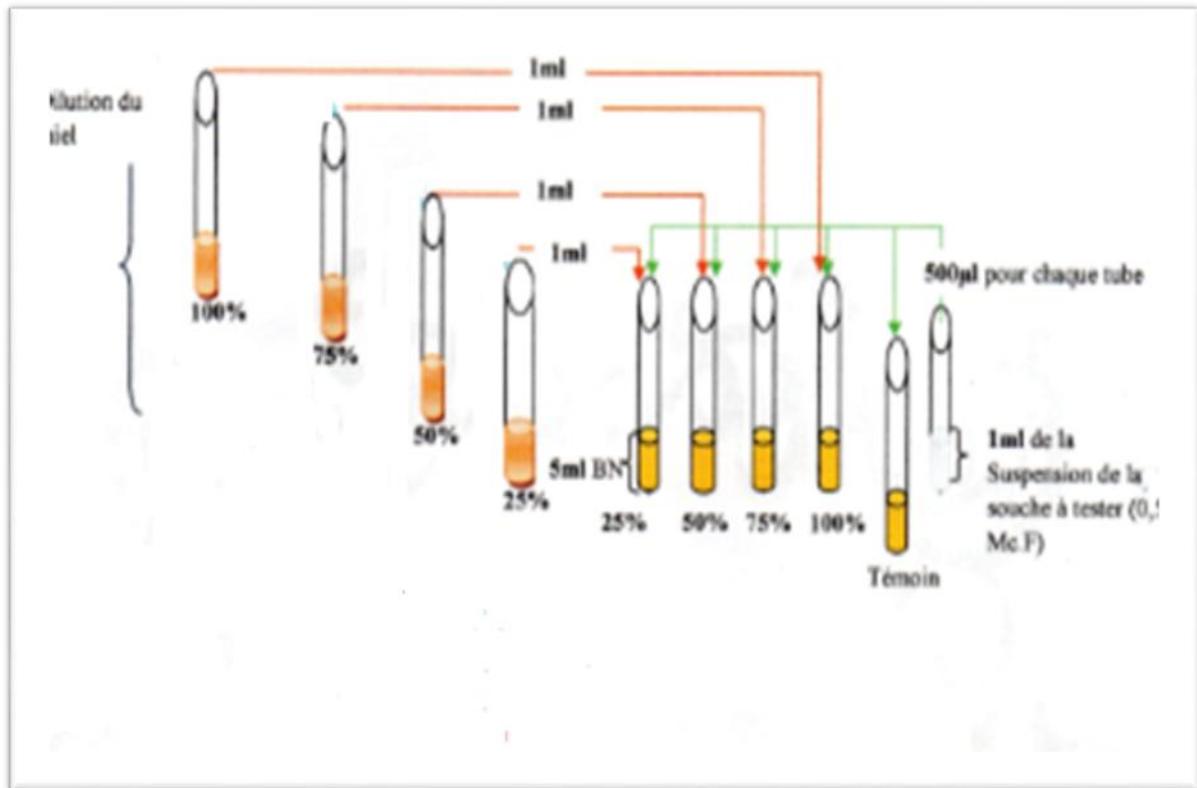


Figure 6 : protocole de la CMI (**Feddaoui et Kerdouci , 2013**).

II.3.3.3. Concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB), est la concentration de l'agent antibactérien qui laisse au plus 0.01% de germes survivants .Pour sa détermination, des boites de gélose nutritive sont ensemencées par le contenu des tubes ayant une concentration \geq CMI dans la série de dilution précédente. La CMB est déterminée après une incubation de 24 heures à 37°C. C'est la plus petite concentration qui inhibe totalement la croissance (**Biyiti et al.,2004**)

Conclusion

Le miel, un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

Les caractéristiques physico-chimiques du miel de l'est algérien : le pH, l'acidité libre et la conductivité électrique sont conformes aux normes proposées par la commission du Codex Alimentaire.

Les résultats de l'étude de l'effet antibactérien du miel ont montré que ce dernier exerce un effet bactériostatique remarquable sur *S.aureus* et *E.coli* et l'action du miel sur *Ps.aeruginosa* été faible, Cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre, l'activité inhibitrice était plus importante avec les échantillons non dilués.

Les résultats obtenus avec les échantillons du miel ouvrent des perspectives très intéressantes pour continuer ce travail sur plusieurs aspects :

- Evaluation de leur activité antibactérienne sur d'autres bactéries pathogènes notamment les klebsielles , les selmonelles ,mycobactérium ,vibrio.....
- Evaluation de leurs activités antifongiques et antiparasitaires.
- Etude de la synergie d'action avec les antibiotiques .
- Réalisation des tests biologiques in vivo.

BIBLIOGRAPHIE

- **Achouri I., Aboussaleh Y., Sbaibi R., Chemissi.H, and Bengueddour R. (2015).** Comparaison de la qualité physicochimique du miel de *Ziziphus* sp (Sider) et d'*Acacia* sp (Samar) consommés aux Émirats Arabes Unis (UAE). *International Journal of Innovation and Applied Studies* ;(10) 184-191. ISSN 2028-9324.
- **Ahmed M., Djebli N., Meslem A., Aissat S.(2012).** Antibacterial activity of various honey types of Algeria against pathogenic Gram-Negative Bacilli: *Escherichia coli* and *pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*;211-214.
- **Altman Nathaniel.(2010).**The honey prescription: the amazing power of honey as medicine. Healing Arts Press: division of Inner traditions international.Vermont.P25.ISBN: 978-1-59477-346-4.
- **AMRI Assia.(2006).**Évaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de magistère : biochimie .Universite badji mokhtar.Annaba.
- **Amrouche L. et Kessi L.(2003).**Etude de la qualité physico-chimique de quelques miels. Mémoire.Ingénieur. U.S.T.H.B. ALGER. p49.
- **Antony SM., Han IY., Rieck JR. and Dawson PL.(2000).** Antioxidative effect of Maillard reaction products formed fromat different reaction times. *J. Agr.Food Chem* ;48: 3985-3989.
- **ASADA Y., Oshikawa T., Welli.(1998).**Antimicrobial flavonoids from *Glycyrrhiza glabra* hairy root cultures. *Planta medica*; 64(8). P: 746.

B

- **Badawy O., Shasii S., Tharwat E. et Kamal M.(2004).**Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* o157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. *Rev.sci.tech.off.int.epiz*; 23 (3), 1011-1022 p1018.
- **Baltrusaityte V., Venskutonis P. et Ceksteryte V.(2007).** Antibacterial Activity of honey and beebread of different origin against *S. aureus* and *D. epidermidis*. *Food technology, Lithuania*:45 (2) 201-208 .
- **BARCELO.D.(2013).**Comprehensive analytical chemistry volume 60 : Food Protected Designation of Origin: Methodologies and Applications.*Elsevier*.P527-528.ISBN :978-0-444-59562-1.ISSN :0166-526X .

- **Bedjaoui MH.(2014).**Analyses des caractéristiques physico-chimiques ,organoleptiques et pollinique du miel de *Ceratonia siliqua* « Caroube » de la région de Tlemcen .Mémoire master en biologie. Université Abou-Bekr Belkaid.Tlemcen .
- **BENAMEUR ASSIA.(2014).**Etude physico-chimique et pollinique du miel d'eucalyptus de la région de Tlemcen.Th.Université Abou Bakr Belkaid.Tlemcen.
- **Benaziza B.D. et Schweitzer P.(2010).** Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. Cahier Agricultures :6 (19) :432-8.
- **Benzeggouta. N.(2005).** Étude de l'activité antibactérienne des huiles infusées de quatre plantes médicinales connues comme aliments. Mémoire de magister en pharmacologie. université Mentouri : Constantine. p153.
- **BERETTA J., GIANGIACOMO G., FERRERO M., ORIOLI M., and MAFFEI FACINO R. (2005).** Standarization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *An. Chimica Acta* ; 533 :185-191.
- **Blanc M.(2010)** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat. Univ. Limoges, 142 p.
- **Bogdanov S, Baumann S.E.(1997).**Harmonised methods of the European honey commission.Determination of sugars by HPLC.*Apidologie* (extra Issue), 42-44.
- **Bogdanov.(1999).** Stockage , cristallisation, et liquéfaction du miel .Centre suisse de recherche apicoles . P05.
- **Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., Iff D., Kanzig A., Seiler K., Stockli H. et Zurcher K.(2003).**Produits Apicoles. 23 A Miel, 1-37.
- **Boufaghes Beida.,Mherigue Messaouda.(2011).**Effet antimicrobien des extraits phénoliques du miel.Universite kasdi merbah, Ouargla.
- **Boukraâ Laïd.(2010).** Honey in Traditional and Modern Medicine .CRC Press.P26 - 32. ISBN : 978-1-4398-4016-0.
- **Bousseboua H. (2001, 2006).**Eléments de microbiologie générale.32, P160-167.
- **Bradbear N.(2005).**Apiculture et moyens d'existence durable. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.Rome.p64.ISSN 1813-6001.

- **Brudzynski K.,(2006).**Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*:12(52):1228-1237.

C

- **CHOUIA Amel.(2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout.Th.Université Mohamed Khider.Biskra.
- **CODEX ALIMENTARIUS. (2001).** Codex stan 12-1981,Rev.1(1987), Rev.2.

D

- **Descottes B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Th.doc médecine.Université Toulouse III-Paul SABATIER. Limoges. p -6-7-8-9-24, 32-3, 42- 8 ,52.
- **Djeridane A., Yousfi M., Nadjemi B., Boutassouna D., Stocker P. and Vidal N. (2006).**Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compound.*Food Chem*; 97:654-660.
- **DJERD A, (2008).**Contrôle de qualité des miels de la région de Djelfa, comparaison avec des miels nationaux et des miels importés. Th.d'Ingéniorat :biologie.Université Djelfa.
- **Djossou J.A., F.P. Tchobo1., H. Yédomonhan., A.G. Alitonou & M.M. Soumanou (2013).**Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou *Tropicultura* ; 31(3) :163-169.
- **Donadieu Y.(1984).**Le miel : thérapeutique naturelle. 1984. Paris: Maloine S.A.
- **Doukani Koula., Tabak Souhila., Derrriche Asma., Hacini Zahira.(2014).**Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement* :(10).Tiaret.ISSN:1112-5888.

F

- **Fauchère J.-L. et J.-L. Avril (2002).** Bactériologie générale et médicale .Ellipses Editions Paris. 365.
- **Feddaoui Chafia ;Kerdouci Sana(2013).**Effet antibactérien du miel . Université 8 Mai 1945.Guelma.
- **Francois Denis ., Marie-Cécile ploy ., Christian Martin., Edouard Bingen Roland quentin.(2007).**Bactériologie médicale.Elsevier Masson SAS.P14.ISBN : 978-2-294-01172-6.

G

- **Gomes Susana., Luis G. Dias , Leandro L. Moreina, Paula Rodrigues , Leticia Estivinho.(2010).** Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and chemical toxicology*, volume 48, Issue 2, Pages 544-548.
- **Gonnet M. (1984)** Un miel de soleils. *Rev. Fr. Apic.* (434) 483-485.
- **Georgé S., Brat P., Alter P Etamiot J.M.(2005).** Rapid determination of polyphenols and Vitamin C in plant-derived products. *J. Agr. Food Chem.* 53, P: 1370-1373.
- **Goût Jacques (2008).** 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles .Gerfaut compagnie de la lesse. P42,178. ISBN 978-2- 35191-043-6.
- **Guerzou Mohamed Nabil et NADJI Noureddine.(2009).** Etude comparative entre les miels locaux et les miels importés. Mémoire en vue d'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agropastoralisme. Université Zyan Achour. Djelfa. P25-26.
- **Guiraud J.P. (1998).** Microbiologie alimentaire. Ed. Dunod. P 71-75.

H

- **Harun Yahia., Adnan Oktar. (2003).** Les miracles du coran. SANA. Paris. p208.
- **Hoyet clémence. (2005).** Le miel : de la source a la thérapeutique .Université Henri Poincare Nancy.
- **Huchet E., Coustel J., Guinot.L.(1996).** les constituants chimiques du miel : Méthode d'analyse chimique. Ecole Nationale supérieure des Industries agricoles et alimentaire. France. p16.

I

- **Ibrahim khalil MD., moniruzzaman M., boukraa l., benhanifia M., asiful islam MD., nazmul islam MD., Sulaiman S.A. and hua gan s.(2012).** Physicochemical and antioxidant properties of algerian honey. *Journal molecules*; (17), 11199-11215.
- **Irina D., Georgiia G., Livia P., Alina M. E. and Rodica S. (2010).** The antioxydant activity of selected Romanian honeys. *Food Tech*; 34(2): 77-83.

K

- **KHIATI M.(1998).** Guide des maladies infectieuses et parasitaires. OPU, Alger.

L

- **Leclerc, Henri. (1976).**Précis de phytothérapie : essai de thérapeutique par les plantes françaises Paris : Masson.p363.
- **Leclerc H, Gaillard J-L, Simonet M.(1995).**Microbiologie générale, la bactérie et le monde bactérien. Doin Editeurs, Paris.
- **Lina S.M.,Molan P.C et Curson R.T.,(2011).**The controlled in vitro susceptibility of gastrointestinal pathogens to the antibacterial effect of Manuka honey.Eur J Clin Microbiol infect dis (2011) 30 : 569-574.
- **Louveaux Jean. (1985).**Apiculture Les abeilles et leur élevage .OPIDA.
- **Louveaux. (1968).**composition propriétés et technologie du miel. Les produits de la ruche in traitée de biologie de l'abeille. Tom 03 Ed Masson et Cie. P389.

M

- **MAAMERI Zine.(2014).**Pistacia lentiscus L . Evaluation pharmaco toxicologique.Thèse.doc en Sciences. Constantine.
- **Madigan MT, Martinko JM, Parker J.(1997).**Brock Biology of Microorganisms. Prentice Hall International.
- **Magalon Guy ; Vanwijck Romain. (2003).**Guide des plaies : du pansement à la chirurgie .john libbey Eurotext, paris.p104.
- **Malika N., Faid M. and EL Adlouni C., (2005) .**Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal Of Agriculture &Biology*; 5(7):773–776.
- **Mbogning Elise., J. Tchoumboue., F. Damesse., M. Sanou Sobze & Antonella Canini. (2011).***Tropicultura*.3(29),168-175.
- **Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A.(2010).**Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltes du territoire algérien. Annales des Sciences et Technologie : 2(2), Décembre .Ouargla.
- **Meyer Alphonse., José Deiana., Alain Bernard.(2008).**Cours de microbiologie générale avec problèmes et exercices corrigés.2^{ème} édition. Wolters Kluwer France. p15-16.ISBN 2-7040-1170-2.ISSN :1629-7954.
- **Mighri Hédi., Ayadi Ahlem et Mechlouch Fethi Ridha.(2014).**Caractérisation physico-chimique et activité antibactérienne de trois variétés de miel (Eucalyptus, orange et thym). 24 – 27.Djerba.
- **Moniruzzaman M.,Sulaiman S.A., Md Ibrahim Khalil M.I. and Gan S.H.,(2013).**Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other

Malaysian honeys: a comparison with manuka honey. Chemistry Central Journal ;
7:138-150.

- **Moniruzzaman Mohammed, 1 Chua Yung An,1 Pasupuleti Visweswara Rao,2,3 Mohammad Nurul Islam Hawlader,4 Siti Amirah BintiMohd Azlan,1 Siti Amrah Sulaiman,1 and Siew Hua Gan2.(2014).**Identification of Phenolic Acids and Flavonoids in Monofloral Honey from Bangladesh by High Performance Liquid Chromatography:Determination of Antioxidant Capacity.p11.
<http://dx.doi.org/10.1155/2014/737490>
- **Mutai C., Vagias C., Abastis D. et Roussis V. (2009).**Antimicrobial activity of Acacia melledera extract and triterpens.,J.Ethnopharmacol.
- **Mutsaers Marieke ; Henk Van Blitterswijk ; Leen Van't Leven et al.(2005).**Produits de l'apiculture : propriétés ,transformation et commercialisation .Fondation Agromisa et CTA.Wageningen.P22.

N

- **Nair Samira. (2014).**identification des plantes mellifères et analyse physico-chimiques des miels algériens .Thèse de doctorat. Université d'Oran.
- **Nauciel C. (2000),** bactériologie médicale, 3^{ème} édition. Masson, P : 5, 11, 17, 21, 35, 45, 55, 65,75.

O

- **Oudjet Kahina.(2012),**le miel, Une Denrée à Promouvoir, Infos-CACQE N°:00. Octobre.

P

- **Perry J., Staley J., Lorry S. (2002).** Microbiologie. Cours et question de révision. P : 159.
- **Pocidalò J. (1989).**Des infections d'origine microbiennes ou virale. In: Brisset.C et Stoufflet .J (Directeurs) Santé et médecine, l'état des connaissances et des recherches. Editions La Découverte / INSERM / ORSTOM.
- **Pradip.V. Jabde. (2005).**Text book of applied zoologie, vermiculture, apiculture, sericulture, lac-culture, agricultural pests and their controls. Discovery publishing house. daryaGanj ;New Delhi. P: 04,105 .ISBN: 81-7141-970-4.
- **Prescott., Harley & Klein (1995).** Microbiologie. Bruxelles. De Boeck Université.

R

- **Rahal et al. (2005).**Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale .selon les recommandations de L'OMS.4^{ème} édition.P7-P8.
- **Rakotondraparany Mitantsoa Lalaina. (2011).**Caractérisation alimentaire des miels malgaches en vue d'une authentification : cas du miel de litchi. Université d'antananarivo faculté des sciences .P:11.
- **Ronald s. Jackson.(2011),** Advanced in food nutrition research, volume 63: speciality wines. Academic press. P: 104 – 105. ISBN : 978 – 0-12-384927-4. ISSN : 1043- 4526
- **Rossant Alexandra. (2011).**Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes .Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie.
- **RUEGG M. and Blanc B., 1981.**The water activity of honey and related solutions, Lebensmitt. Wiss. Technol. 14, 1-6.

S

- **Saba z.h., Yusoff k.m., Makpol s. and Yusoff m.a.y. (2011).** Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. Journal molecules, 16, 6378-6395.
- **Saravana kumar., Jaganathan., Mahitosh Mandal. (2009).**Antiproliferative Effects of Honey and of Its Polyphenols .Hindawi Publishing Corporation. Journal of Biomedicine and Biotechnology. Volume, Article ID 830616, 13 pages.doi:10.1155/2009/830616.
- **Saxena S., Gautam s., Andharma A. (2010),** Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. Food Chem; 1(3): 202-203.
- **Singleton v-l.,Rossi J-A. (1965).** Colorometry of total phenolic with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents .American Journal of Enology and Viticulture; 16:44-158.
- **Stanway penny. (2013).**The Miracle of Honey Practical Tips for Health, Home & Beauty. Watkins publishing.UK and USA.ISBN: 978- 1- 78028-500-9.

T

- **Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J., (2003).**Palynological, Physicochemical and color characterization of Moroccan honeys: Orange (Citrus sp.) honey .International Journal of Food Science and Technology; 38:387-394.
- **Tomasik Piotr. (2003).**Chemical and functional properties of food saccharides .CRC Press.P:77.ISBN:978 – 0- 203- 49572-8.

Z

- **Zaika L. (1988).**Spices and Herbs, Their Antimicrobial Activity and Its determination. *Journal of Food Safety.* 9(2): 97-118.

RÉSUMÉ

Le miel est une substance élaboré par les abeilles à partir de nectar ou de miellat, il s'agit d'un composé biologique très complexe, d'une très grande diversité, lui conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique. Grâce aux ces composés et sa nature acide, le miel joue un rôle important dans l'inhibition de la croissance bactérienne.

L'objectif de ce travail vise à faire une étude physicochimique et phyto-chimique de quelques types du miel récoltés dans différentes régions d'Algérie (Guelma, El Tarf). Les résultats de l'analyses physicochimiques (pH, acidité libre, conductivité électrique, la densité optique) ont prouvés qu'il y avait des différences d'un échantillon de miel a un autre et ils répondent aux normes internationales.

L'étude de l'effet antibactérien de cinq échantillons du miel sur les trois souches bactérienne : *E.coli*, *P.aeruginosa* , *S.aureus* était réalisée par la technique de diffusion sur milieu gélosé et la méthode de dilution en milieu liquide.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne .Cet effet inhibiteur a été constaté tous échantillons étudiées, avec des différences d'un échantillon à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. Ces derniers ont montrés un effet bactériostatique vis-à-vis ces souches choisies.

MOTS-CLÉS : effet antimicrobien, miel naturel, analyse physico-chimique, analyse phyto-chimique, bactéries à Gram+, bactéries à Gram-

Abstract

Honey is a substance produced by bees from nectar or honeydew, this is a very complex biological compound, of a wide variety, giving it a multitude of properties, both nutritionally as therapeutically. With these compounds and its acidic nature, honey plays an important role in inhibiting bacterial growth.

The aim of our work is to make a physicochemical and phytochemical study of some types of honey harvested in different regions of Algeria (Guelma , El Tarf).The results of physicochemical analysis (pH, free acidity, electrical conductivity, optical density) have proven that there were differences of a honey sample to another and they met international standards.

The study of the antimicrobial effect of five natural honey samples against three bacterial strains: *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* is achieved by agar diffusion method and dilution method in liquid medium.

The results clearly showed the impact of natural honey on bacterial sensitivity .This inhibitory effect was found for all samples tested, with a difference from one sample to another and from a bacterial strain to another. These have showed a bacteriostatic effect against the three strains tested.

KEYWORDS: antimicrobial effect, natural honey, physicochemical analysis, phytochemical analysis, Gram positive bacteria, Gram negative bacteria

Composition des principaux milieux de culture utilisée

➤ milieux de cultures solides

- **Gélose nutritive**

Composition en g/l :

- ✓ Extrait de viande.....3g
- ✓ Extrait de levures.....3g
- ✓ Peptone.....10g
- ✓ Chlorure de sodium.....5g
- ✓ Agar.....18g
- ✓ pH=7,3

Stérilisation à 121°C pendant 15mn.

- **Mueller Hinton**

Composition en g/l :

- ✓ Extrait de viande.....3g
- ✓ Hydrolysate acide de caséine.....17.5g
- ✓ Agar.....18g
- ✓ pH= 7.4

Stérilisation à 121°C pendant 15mn.

➤ Milieux liquide :

- **Bouillons nutritifs**

Composition en g/l :

- ✓ Extrait de viande..... 5g.
- ✓ Peptone.....10g.
- ✓ Na cl.....5g.
- ✓ Eau distillée.....1000ml.
- ✓ PH : 7,35.

Stérilisation à 110° C pendant 20mn.

Préparation :

- ✓ Mettre 20g du milieu nutritif déshydraté dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée. Agiter lentement jusqu'à dissolution complète. Répartir en tube ou en flacons, stériliser à l'autoclave.

Conserver au réfrigérateur pour un usage ultérieur.

- **Eau physiologique à 0,9%**

Composition en g/l :

- ✓ Chlorure de sodium (NaCl).....9g
- ✓ Eau distillée.....1000ml
- ✓ pH= 7

Stérilisation à 121°C pendant 15mn.

➤ **Solutions préparées :**

- ✓ **NaoH (0.1N) :**

1g du NaoH → 250 ml d'eau distillé

- ✓ **Solution PhénoLphtaléine :**

0.1g de PhénoLphtaléine → 100 ml Ethanol.

- ✓ **Folin (diluée 10 fois) :**

1ml Folin → 9 ml d'eau distillé.

- ✓ **Carbonate de sodium Naco3 (0.75%) :**

0.75g du Naco3 → 100 ml Méthanol

➤ **Tableau indique les valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques**

| | | Sensible | Résistante |
|------------|------------------------------------|----------|------------|
| GM | Streptocoque et Entérocoque | > 17 mm | < 11mm |
| | Autres | >17 mm | < 16mm |
| C30 | | > 23mm | <19mm |
| T30 | | >19mm | < 17mm |
| DO | | >19mm | <17mm |
| E15 | | >22mm | <17mm |
| AF | | >22mm | <15mm |
| AMC | | >23mm | <16mm |
| P10 | | >29mm | <18mm |

➤ **Teneur en polyphénols :**

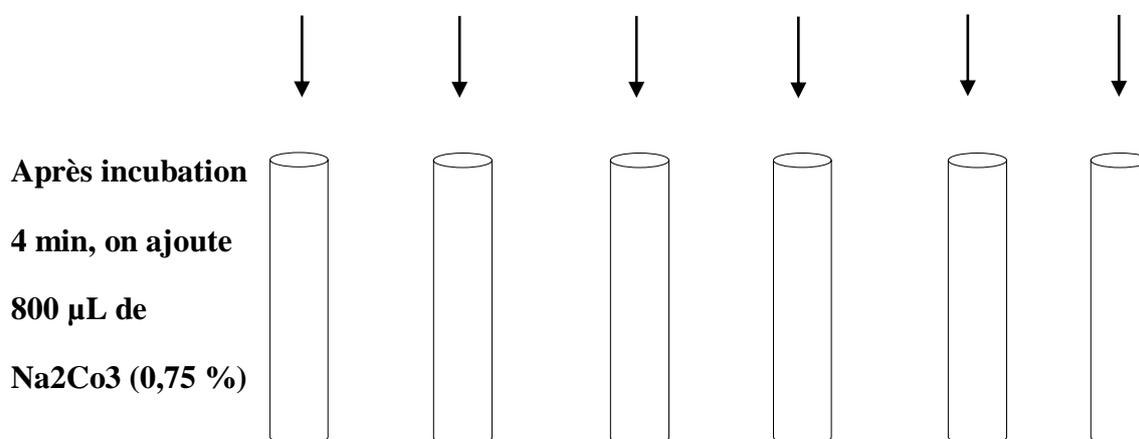
- **Préparation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique**

$C1 = 1 \text{ mg/ml}$, $V2 = 2 \text{ ml}$.

$$C1.V1 = C2.V2 \Rightarrow V1 = C2.V2 / C1 \Rightarrow V1 = 20 \times 10^{-3} \times 2 / 1 = 0,04 \text{ ml} = 40 \mu\text{L}$$

| | Blanc | 20 µg/ml | 40 µg/ml | 60 µg/ml | 80 µg/ml | 100µg/ml |
|-----------------------|--------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Acide gallique | 0 | 40 µL | 80 µL | 120 µL | 160 µL | 200µL |
| Méthanol | 2ml | 1960 µL | 1920 µL | 1880 µL | 1840 µL | 1800 µL |

200µl d'acide gallique +1 ml Folin



Incubation 2 heures à T° ambiante.

- **Les densités optiques d'acide gallique à 765 nm**

| 0 | 20 µg/ml | 40 µg/ml | 60 µg/ml | 80 µg/ml | 100 µg/ml |
|----------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|------------------|
| 0 | 0,153 | 0,289 | 0,422 | 0,535 | 0,671 |

- **Tableau indique les valeurs de la densité optique des cinq échantillons de miel à 765nm.**

| Echantillons | DO à 765 nm |
|---------------------|--------------------|
| Du miel | |
| E1 | 0,208 |
| E2 | 0,263 |
| E3 | 0,222 |
| E4 | 0,297 |
| E5 | 0,419 |