

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**

**MINISTER DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE**

**UNIVERSITE 8MAI 1945**

**FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE ET SCIENCE DE LA TERRE  
ET DE L'UNIVERS**

**DEPARTEMENT ECOLOGIE ET GENIE DE L'ENVIRONNEMENT**



## Mémoire de Master

**Domaine** : science de la nature et de la vie

**Filière** : Biologie

**Spécialité /Option** : Microbiologie de l'environnement

Santé, Eau et Environnement

---

## Thème : Effet antibactérien du miel

---

**Présenté par** : -Feddaoui Chafia  
-Kerdouci Sana

**Devant le jury composé de :**

Présidente : Boumaaza Awatef

(M.A.A) Université de Guelma

Examinatrice: Boussadia Meriem Imen

(M.A.A) Université de Guelma

Encadreur : M. Houhamdi M

(Pr) Université de Guelma

**Juin 2013**

## *Remerciement*

*Nous remercions **DIEU** tout puissant, maître des cieux et de terre, qui nous a permis de mener à bien ce travail.*

*Nos remerciements vont également à nos chers parents de tout les sacrifices qu'ils ont consentis pour nous permettre de suivre nos études dans les meilleurs conditions possibles et n'avoir jamais cessé de nous encourager tout au long de nos années d'études.*

*Nous remercions les Apiculteurs Mr Feddaoui Nabil et autres d'avoir fourni aimablement les échantillons de miel de la région de la wilaya de Guelma et également Mr Chefrou. D à son aide et Mr Kerdouci Abed El Kerim pour son aide au déplacement tout le long de notre étude.*

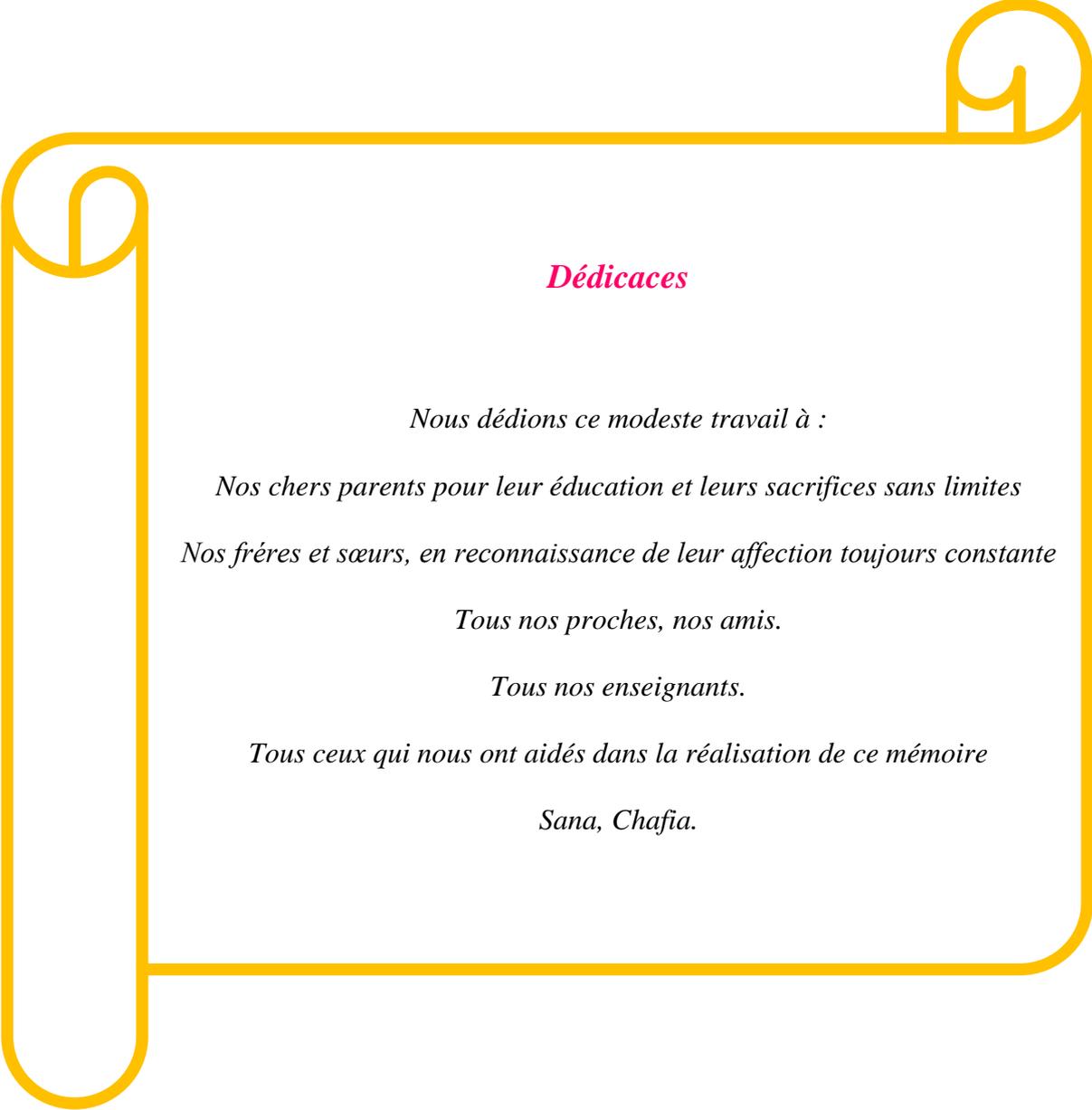
*Nous exprimons nos gratitude à Mme Boussadia. I de l'université 8 mai 1945 Guelma d'avoir accepté d'examiner ce modeste travail et de présider le jury.*

*Nous remercions notre encadreur Mr Houhamdi.M pour son soutien.*

*Nous remercions le jury qui nous a fait l'honneur de participer.*

*Nous tenons à exprimé notre profonde reconnaissance aux techniciennes du laboratoire de microbiologie et des doctorantes de l'université 8mai 1945 Guelma (Amira, Samiha, Mouna, Meriem).*

*Chafia et Sana.*



## *Dédicaces*

*Nous dédions ce modeste travail à :*

*Nos chers parents pour leur éducation et leurs sacrifices sans limites*

*Nos frères et sœurs, en reconnaissance de leur affection toujours constante*

*Tous nos proches, nos amis.*

*Tous nos enseignants.*

*Tous ceux qui nous ont aidés dans la réalisation de ce mémoire*

*Sana, Chafia.*

## Liste des abréviations

**ATCC:** American type culture collection.

**b/ml :** bactéries / millilitre.

**BN :** bouillon nutritif.

**CMI:** Concentration minimale inhibitrice.

**D :** diamètre.

**DO :** densité optique.

**E :** Echantillon.

**FAO :** Food and agriculture organization : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**g :** gramme.

**GN :** gélose nutritif.

**MH :** La gélose Mueller Hinton.

**ml :** millilitre.

**n<sup>o</sup> :** numéro.

**OMS :** organisation mondiale de la santé.

**pH :** Potentiel d'hydrogène.

**µl :** Micro litre.

## Liste des tableaux

	<b>Page</b>
<b>Tableau n°01</b> : Les principaux composants du miel en pourcentage.....	10
<b>Tableau n°02</b> : Propriétés et indications thérapeutiques plus spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux.....	12
<b>Tableau n°03</b> : Activités biologiques des composés polyphénoliques (Frankel et al., 1995).....	15
<b>Tableau n°04</b> : Potentialité de développement des produits forestiers (miels doux et amer), (Selon FAO, 2004).....	18
<b>Tableau n°05</b> : La production agricole 1991-1999 (Tonnes de miel).....	18
<b>Tableau n°06</b> : Importation du miel de l'Espagne (1000 tonnes).....	19
<b>Tableau n°07</b> : les différentes caractéristiques de chaque échantillon.....	20
<b>Tableau n°08</b> : les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.....	24
<b>Tableau n°09</b> : valeurs des diamètres d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les trois espèces bactériennes.....	28
<b>Tableau n°10</b> : valeurs des diamètres d'inhibition du miel vis-à-vis les trois souches (méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	31
<b>Tableau n°11</b> : l'activité antibactérienne selon l'échelle de Mutai <i>et al.</i> .....	34
<b>Tableau n°12</b> : valeurs des diamètres d'inhibition du miel vis-à-vis les trois souches (méthode des puits).....	36
<b>Tableau n°13</b> : les concentrations minimales inhibitrices de huit échantillons vis-à-vis des trois espèces bactériennes.....	39

## Liste des figures

	<b>Page</b>
<b>Figure n°01</b> : les trois castes des colonies d'abeilles.....	05
<b>Figure n°02</b> : anatomie d'une abeille.....	06
<b>Figure n°03</b> : Les phases d'élaboration du miel.....	08
<b>Figure n°04</b> : les huit échantillons de miel... ..	20
<b>Figure n°05</b> : Extraction manuelle du miel.....	21
<b>Figure n°06</b> : les dilutions des huit échantillons de miel.....	24
<b>Figure n°07</b> : protocole de détermination de la CMI.....	26
<b>Figure n°08</b> : antibiogramme des trois espèces bactériennes.....	27
<b>Figure n°9</b> : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des antibiotiques.....	28
<b>Figure n°10</b> : Effet de miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> (Méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	29
<b>Figure n°11</b> : Effet de miel sur <i>Escherichia coli</i> . (Méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	29
<b>Figure n°12</b> : Effet de miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . (Méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	30
<b>Figure n°13</b> : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des huit échantillons sur <i>Escherichia coli</i> (méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	32
<b>Figure n°14</b> : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des huit échantillons sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	32
<b>Figure n°15</b> : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des huit échantillons sur <i>Staphylococcus aureus</i> (méthode de diffusion sur milieu gélosé).....	32
<b>Figure n°16</b> : Effet de miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (Méthode de puits).....	35

<b>Figure n°17</b> : Effet de miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> (Méthode des puits).....	35
<b>Figure n°18</b> : Effet de miel sur <i>Escherichia coli</i> (Méthode des puits).....	36
<b>Figure n°19</b> : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des huit échantillons sur les trois espèces bactériennes (méthode des puits).....	37
<b>Figure n°20</b> : résultats des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur les trois espèces bactériennes étudiées.....	38
<b>Figure n°21</b> : histogramme représentatif des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur <i>Staphylococcus aureus</i> .....	40
<b>Figure n°22</b> : histogramme représentatif des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur <i>Escherichia coli</i> .....	40
<b>Figure n°23</b> : histogramme représentatif des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	40

# Table des matieres

Page

## Introduction

### Chapitre I :

1. Définition.....	2
2. l'origine du miel.....	2
3. les types du miel.....	4
4. La fabrication du miel par les abeilles.....	5
4.1. Généralité sur les abeilles.....	5
4.2. Les étapes de la fabrication du miel par l'abeille. ....	8
5. Qualité du miel.....	10
6. Les propriétés physico-chimiques du miel.....	10
6.1. Les propriétés physiques du miel.....	10
6.2. La composition chimique du miel.....	11
7. Propriétés organoleptiques.....	12
7.1. La couleur.....	12
7.2. L'odeurs.....	12
7.3. Les goûts.....	12
8. Les propriétés biologiques du miel.....	13
8.1. Valeur alimentaire et diététique.....	13
8.2. Valeur thérapeutique.....	13
9. les microorganismes dans le miel. ....	14

10. l'effet antibactérien du miel.....	15
10.1. Les mécanismes d'action.....	16
11. l'altération du miel et les conditions de sa conservation.....	18
11.1. Effet de la température. ....	19
11.2. Effet de la lumière.....	20
11.3. Effet de la fermentation.....	20
11.4. Cristallisation du miel.....	20
12. Production du miel en Algérie.....	21

## **Chapitre II :**

1. Extraction du miel.....	23
2. les espèces bactériennes étudiées.....	24
3. Les milieux de cultures utilisés.....	25
4. Etude de l'activité antibactérienne.....	26
4.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé.....	26
4.2. Méthode des puits.....	29
4.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance bactérienne.....	26

## **Chapitre III :**

1. Activité antibactérienne du miel.....	31
1.1. Effet des antibiotiques sur trois espèces bactériennes étudiées.....	31
1.2 .résultats de détermination de l'activité antibactérienne du miel par méthode de diffusion sur milieu gélosé.....	32
1. 3. Résultats de détermination de l'activité antibactérienne du miel	

par méthode des puits..... 39

**1.4. Résultats de la détermination de la concentration minimale**

inhibitrice de la croissance bactérienne.....42

Conclusion

Références bibliographique

Résumés

Annexes

## INTRODUCTION

De tout temps, les abeilles et les produits de la ruche ont toujours fasciné les hommes. En effet, dans beaucoup de civilisations et de croyances, le miel a toujours une place privilégiée. Il est notamment indissociable des rites et coutumes qui accompagnent la naissance et la mort (10).

Peinture représentant des hommes cueilleurs de miel a été retrouvée en Espagne, et daterait d'environ 10 000 ans avant J-C. Les propriétés du miel sont connues depuis l'Antiquité (10).

Le Saint Coran et el hadith du prophète présentent le miel en tant que traitement des maladies et comme a dit le prophète (bénédiction et paix sur lui) : " 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 remèdes : le Coran et le miel " (rapporte par l'imam Bukhari) (10).

L'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est du généralement aux phénomènes de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent pas généralement des effets secondaires. Le miel compte parmi les produits les plus convoités. En raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques et antibactériennes du miel (10).

Dans cette optique, le présent travail a pour principal objectif l'évaluation du pouvoir antibactérien des huit échantillons de miel contre certains micro-organismes pathogènes d'un Gram différent.

## 1. Définition :

Le mot « miel » est issu de latin mel, qui signifie « miel » et « douceur » apparenté au grec meli, melitos ainsi qu'au gothique milith et Melissa est le nom de l'abeille et l'hydromel se traduit par melition. Le miel est ainsi étroitement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur.

Dans de nombreux pays, la loi fournit une définition légale du miel. Cette dernière a pour objet la protection du consommateur contre les différents types de fraudes susceptibles d'être pratiqués (LOUVEAUX, 1968) .

D'après la commission du Codex Alimentarius F.A.O. – O.M.S. (1969) :

<< Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche >> (Codex, 2001) .

Le miel qui compte parmi les plus anciens aliments de l'humanité, était déjà utilisé par les Egyptiens 1500 0000 ans avant notre ère, provoque à l'heure actuelle un regain d'intérêt en raison de l'orientation d'une partie des consommateurs vers les produits exclusivement naturels.

Les connaissances sur le miel et son origine ont conservé longtemps une valeur mystique; il a été toujours un produit sacré grâce à ces précieuses vertus (GONNET, 1982) .

## 2. L'origine du miel :

Selon (PROST, 1987) le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles Le miel produit par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* (l'abeille domestique) peut provenir de deux sources mellifères distinctes : le nectar recueilli dans la fleur ou le miellat recueilli sur les plantes. Selon qu'il vient du nectar ou du miellat, il existe l'origine directe et indirecte (10).

### . L'origine directe :

Le nectar est un liquide sucré et mielleux, il se produit à la surface des parties spéciales appelés nectaires, qui sont en forme de turgescences, situés soit sur les feuilles, appelés

nectaires **Extrafloraux**, soit sur les fleurs, (sépalés, pétales, carpelles) appelés nectaires **Floraux**, retrouvés par exemple chez la plante de Thym. Pour recueillir un litre de nectar, on estime qu'il faut entre 20000 et 100000 voyage des abeilles (GONNET, 1982, DONADIEU, 1984, LOUVEAUX, 1968, ZIEGLER, 1968) .

Ce liquide résulte de plusieurs transformations biochimiques complexes dues au métabolisme de la plante, ces transformations sont l'origine des différents goûts retrouvés dans les miels (10).

Les principaux constituants du nectar sont l'eau et les sucres (saccharose, glucose, fructose). Selon (ZIEGLER, 1968) .La teneur en eau est fortement variable de 20 à 95%, et selon les espèces et les facteurs de l'environnement (météorologiques, situation géographique,...), le nectar contient aussi des acides organiques, des acides aminés, des protéines, des enzymes, des vitamines et des substances aromatiques. Ces substances sont présentes en faible quantité ne dépasse pas 1%, la composition en sucres est relativement fixé pour une espèce ou même pour une famille botanique donnée (10).

Le nectar attire les abeilles qui le récoltent et le ramènent à la ruche, les butineuses aspirent cette solution sucrée en s'installant sur la plante qu'elles ont choisie. Elles prélèvent une quantité infinitésimale avec leur trompe. Parfois elles profitent des trous percés dans la corolle des fleurs par les bourdons, ou encore sucent le jus des raisins attaqués par les guêpes. C'est par cette dernière pendant la collecte du nectar, que s'effectue la pollinisation des fleurs (GONNET, 1982) .

#### **. L'origine indirecte :**

Le miellat est un produit plus complexe que le nectar faisant intervenir un intermédiaire, généralement, des insectes de la famille des Homoptères tel que les pucerons, leur pièces buccales sont disposées pour piquer et absorber les aliments liquides telle que la sève des végétaux et rejettent l'excédent des matières sucrées sous forme des gouttelettes, que les abeilles récupèrent sur les feuilles des plantes. Nous citons quelques exemples d'arbres qui hébergent les pucerons, tels que, les sapins, les épicéas, les chênes, et aussi les plantes herbacées comme les blés... (VACHE, GONNET, 1985) .

Les miellats représentent une ressource alimentaire importante pour les abeilles lorsqu'elles ne trouvent pas une autre source alimentaire. Certains auteurs distinguent deux types de miellat (10) :

Le miellat de puceron, et le miellat végétal qui se produit dans les journées chaudes à sécheresse prolongée séparée par des nuits relativement froides et humides, selon (GONNET, 1985), en conditions particulières et en absence de tous pucerons par exsudation des feuilles à travers des orifices stomatiques.

Ces miellats sont récoltés par les abeilles qu'en absence des fleurs à leur disposition, et que même certains auteurs tel que (BONNIER, 1927), signalent que le miel qui en résulte du miellat est de mauvaise qualité, par suite de la présence des gommés et dextrines (10).

La composition du nectar est différente de celle de miellat qui se rapproche de celle de la sève végétale. Mais une fois de retour à la ruche, l'abeille les transforme tous deux de la même manière, afin d'obtenir du miel.

### 3. les types du miel :

Beaucoup de scientifiques font appel à l'analyse pollinique et aux propriétés physico-chimiques pour déterminer l'origine florale et le degré de pureté de différentes sortes de miel (RODRIGUEZ OTERO *et al.*, 1992 ; CANO *et al.*, 2001; PERSANO ODDO *et al.*, 1995; YILMAZ et YAVUZ, 1999):

**\*Miel de nectar :** (DONADIEU, 1984), signale que selon cette origine nous avons les miels monofloraux et les miels multifloraux:

**Miels mono-floraux :** appelés aussi miels uni floraux, proviennent principalement d'une espèce végétale déterminée, avec la présence des grains de pollen appartenant à d'autres taxons mellifères mais à un degré moindre. Dans la mesure où ils sont suffisamment purs (nombre de pollen du taxon dominant supérieur à 50%), les miels uni floraux répondent à un certain nombre de critères physico-chimiques et organoleptiques (HUCHET *et al.*, 1996).

**Miels poly-floraux (multi floraux) :** nommés aussi miels toutes fleurs. Ces miels sont cependant les plus nombreux, leur composition est bien sûr variable et complexe, puisqu'elle provient de sources multiples. Leur commercialisation repose souvent sur le charme de leur découverte personnelle par le consommateur (LOUVEAUX, 1980).

**\*Miels de Miellats :** récoltés en été par les abeilles sur les conifères, plus particulièrement sur les sapins et sur les épicéas, dans les grands massifs forestiers. (04)

Pour le miel de sapin, il est sucré, de couleur intense peut aller jusqu'au noir; sa saveur est douce et très agréable. Le spectre de ces sucres est différent de celui des miels de nectar (le fructose est le dominant, près de 11% de disaccharides et 10% de mélézitose). (04)

Le pollen qui accompagne les autres éléments figurés dans ce miel renseigne sur son origine géographique (RENAULT *et al.*, 1992).

#### **4. La fabrication du miel par les abeilles :**

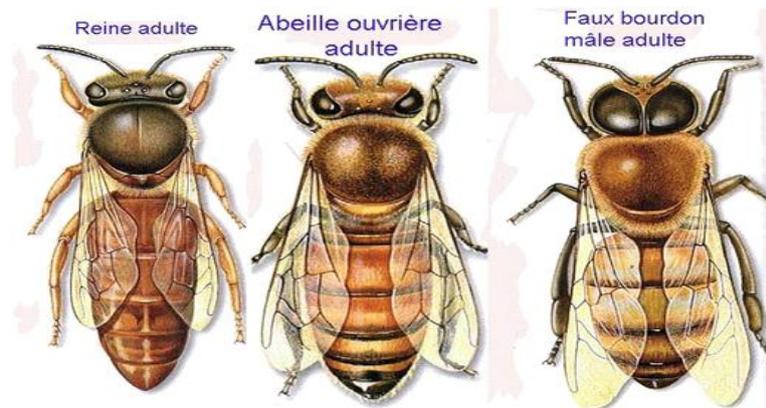
##### **4.1. Généralité sur les abeilles :**

L'abeille est un insecte appartenant à l'ordre des hyménoptères .Actuellement, la tribu des *Apini* contient un seul genre *Apis*, et une seule espèce à laquelle appartient l'abeille domestique. Ce sont les abeilles dites mellifères, que l'on retrouve un peu partout à travers le monde. De plus, c'est l'espèce la plus intéressante à élever, car ce sont elles qui assurent les meilleurs rendements. Elles sont caractérisées par un comportement hautement social, ceci étant caractérisé par la division et la spécialisation du travail. Les principales races d'*Apis mellifera* sont : *Apis mellifera mellifera* (abeille noire d'Europe occidentale), *Apis mellifera ligustica* (abeille Italienne), *Apis mellifera carnica* (abeille présente des Alpes à la mer Noire), *Apis mellifera caucasica* (abeille Caucasienne), *Apis mellifera intermissa* (pays du Maghreb), *Apis mellifera adansonii* (pays d'Afrique tropicale) etc. (Le Conte Y., 2002 ; Pham-Délégué M., 1999).

Dans les colonies d'abeilles, une seule, la reine, est capable de pondre des œufs ; les males, appelés aussi faux bourdons, ont pour principal rôle social celui de féconder la reine, rôle qui d'ailleurs n'est joué que par quelques males, bien que les faux bourdons soient nombreux au sein d'une même famille. Les ouvrières accomplissent des tâches plus diverses, entre autres la récolte de l'aliment, l'organisation du nid, l'entretien des larves, la défense de la ruche contre les attaques d'ennemis éventuels ; leur rôle est donc de veiller à la sécurité et à la prospérité de la famille (2).

Les ouvrières sont aussi classées en fonction de leurs activités : il existe des nourrices, des dames d'honneur de la reine, des ventileuses, des architectes, des mâçons, des cirières, des sculpteurs, des récolteuses de pollen, des chimistes, des operculatrices, des nettoyeuses, des

fossoyeurs, des sentinelles. Ces fonctions ne sont jamais remplies par la reine ni par les faux bourdons (2).



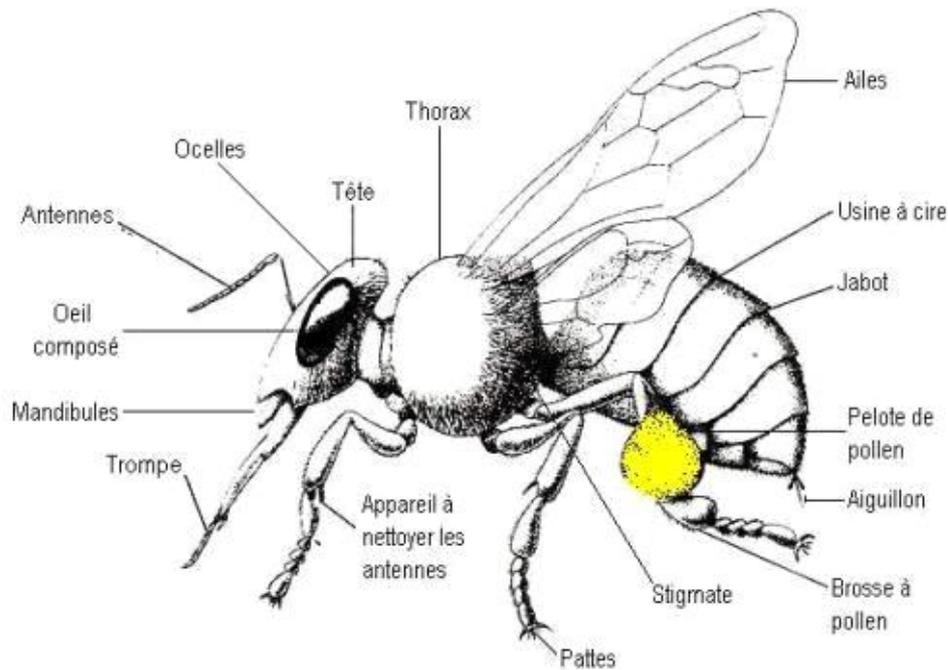
**Figure n°01** : les trois castes des colonies d'abeilles (27).

Les abeilles mènent donc une vie de type communautaire et se répartissent en deux castes: les reproductrices qui n'effectuent aucun travail matériel, et les ouvrières qui sont morphologiquement constituées comme des femelles mais possèdent des organes génitaux atrophiés ; elles participent uniquement à la vie du groupe. Malgré tout, elle semble certain qu'à l'origine de l'espèce la reine n'ait pas été la seule capable de déposer des œufs pour la perpétuation de l'espèce (2).

Précisions à ce propos qu'il existe des familles au sein desquelles cohabitent plusieurs reines fécondes (2). Au fur et à mesure de l'évolution de l'espèce, la morphologie et la physiologie des abeilles ont donc pu subir des transformations considérables en raison de la spécialisation du travail qui leur est, de nos jours, dévolu (2).

Les parties extérieures du corps sont des suivantes : tête, thorax et l'abdomen, trois parties possédant des caractéristiques propres chez l'abeille ouvrière, la reine et le faux bourdon. L'abeille joue d'une capacité de vol exceptionnelle qui lui vient à la fois de la robustesse de ses ailes et de la fréquence de ses battements. Pour l'apiculteur, les ailes constituent un indicateur d'âge essentiel : chez une jeune abeille, elles sont en effet bien repliées sur le corps, alors que chez une vieille abeille, elles demeurent écartées et leur bord est très frangé (2).

La capacité olfactive de l'abeille repose sur les sensilles et se trouvent réduite chez les reines, moyenne chez les ouvrières et exceptionnelle chez le faux bourdon (2).



**Figure n°02 : anatomie d'une abeille (25).**

En Algérie L'élevage des abeilles sont répandu dans l'ensemble des zones agro-écologiques et s'insère harmonieusement dans les systèmes de productions arboricoles des zones de montagnes, des oasis et des plaines. L'élevage apicole contribue, par ailleurs, à valoriser les ressources mellifères (végétations spontanées) des zones littorales, forestières, steppiques et sahariennes. (ABDELGUERFI et RAMDANE, 2003).

Le cheptel apicole algérien, dont on relèvera au passage la forte fluctuation, est constitué de deux races :

- *Apis mellifera sahariensis*, encore appelée « abeille saharienne » implantée au sud ouest de l'Algérie (Bechar et Ain Sefra). Elle vit aussi dans le Sud marocain, plus particulièrement dans le Tafilalet (HACCOUR, 1961).

Sa mise au rang de race a été contestée par (RUTTNER, 1968) qui la considérait à l'époque comme une forme de transition entre *Apis mellifera intermissa* et *A. mellifera adonsonii*. Toutefois, dans un article plus récent (RUTTNER *et al.* 1978), *Apis mellifera sahariensis* est considérée comme une race à part entière.

Les principales ressources apicoles de la région sont d'abord le palmier dattier et plusieurs espèces d'arbres fruitiers. Le maïs, l'orge alimentent les populations et, le long des

routes et des pistes, sont plantés des eucalyptus et des tamarix. Dans les étendues désertiques croissent des genêts, des saxifrages, des composées épineuses, des trèfles qui fleurissent à des époques différentes et assurent une importante production de miel de très bonne qualité.

C'est dans cette ambiance que vit l'abeille saharienne. Celle-ci, de couleur jaune-rouge, s'apparente à ses congénères Cypriotes ou à celles d'Asie Mineure, pays d'où elle a dû vraisemblablement être importée (HACCOUR, 1961).

- *Apis mellifera intermissa*, dite 'abeille tellienne' ou « abeille noire du tell » dont l'aire de distribution se confond avec l'atlas tellien. (04)

De couleur noire, productive, prolifique, résistante aux maladies et aux prédateurs mais néanmoins agressive et présentant une propension à l'essaimage. L'abeille tellienne est la race dominante en Algérie où elle se présente sous la forme de plusieurs variétés (dont cinq identifiées) par les apiculteurs : Maazi, Nalmi, Begri, ainsi que deux variantes sauvages kabyles : thih arzine et harezzine, adaptées aux divers biotopes. (04)

De point de vue biométrique, se sont des écotypes de l'abeille tellienne et non pas des variétés (LOUCIF, 1993).

## **4.2. Les étapes de la fabrication du miel par l'abeille :**

### **A. Transformation du nectar :**

Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes. Le rayon d'action moyen se situe entre 500 m et 2 km, elle prélève sur les fleurs le nectar, sécrète par des glandes dites nectarifères, présenté sur des nombreuses plantes (1).

Le changement de la solution sucrée en miel commence déjà lors du voyage, au cours duquel elle est accumulée dans le jabot de l'abeille. C'est dans son tube digestif que s'amorce la longue transformation, des enzymes agissent sur le nectar. Le saccharose sous l'action de l'invertase, se transforme en glucose, fructose, maltose et autres sucres (1).

### **B. L'emmagasinage :**

Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. A son retour, la butineuse régurgite, la passe aux ouvrières, qui elles-mêmes la communiquent à d'autres et ainsi de suite. D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucres gastriques et de substances salivaires : invertase, diastase, et

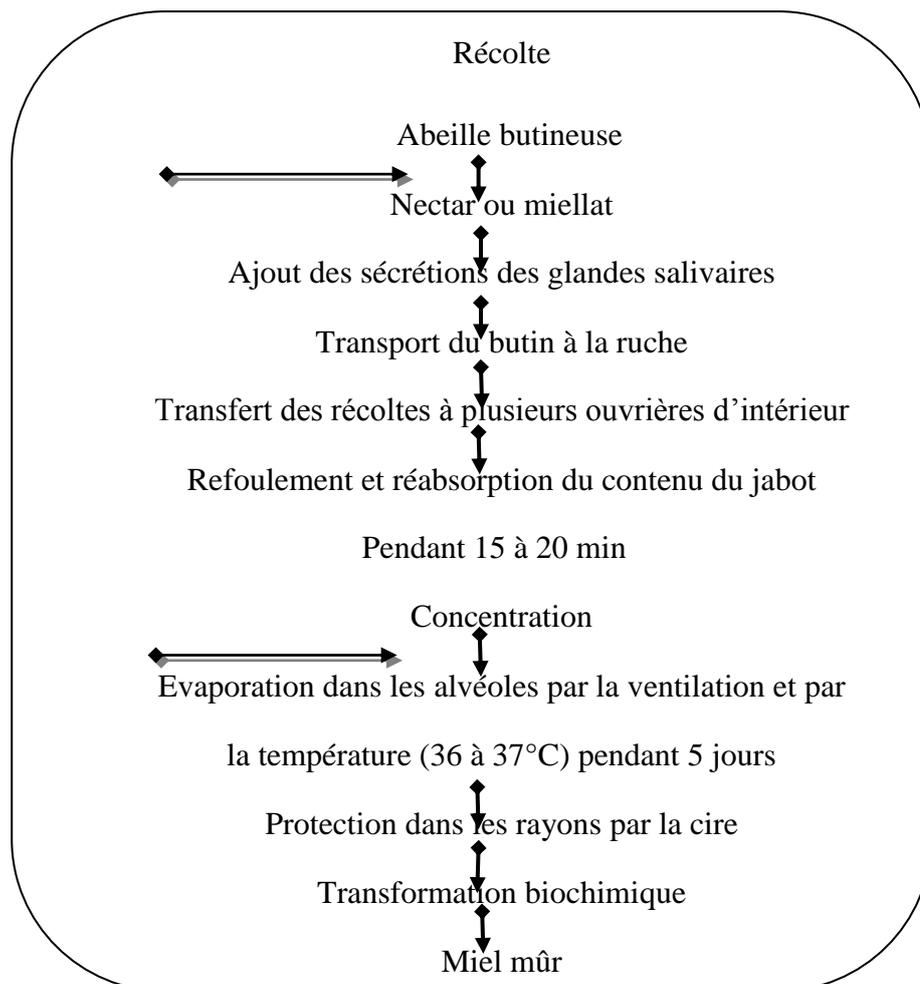
gluco-oxydase. D'autres sucres qui n'ont pas existé au départ sont synthétisés simultanément. La goutte épaisse et déversée ensuite dans une alvéole, d'où l'eau du miel s'évapore (1).

### C. Maturation :

La solution sucrée transformée (contenant 50% d'eau) va subir une nouvelle concentration par évaporation, qui se fait sous double influence :

- D'abord de la chaleur régnant dans la ruche qui est d'environ 36 °C.
- Ensuite de la ventilation par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes.

Dans la ruche, le miel se garde bien, car il est très concentré en sucre. Mais on dit que les abeilles, pour plus de sécurité, injectent dans chaque cellule une gouttelette de venin. Et celui-ci est un produit conservateur ! Quand tout ce travail sera terminé, la cellule pleine de miel sera fermée par un opercule de cire (BERNADETTE et ROGER, 1985).



**Figure n°03:** Les phases d'élaboration du miel (GONNET, 1982).

## 5. Qualité du miel :

Le miel contient au moins 181 substances (LOUVEAUX, 1985). Sa composition dépend de très nombreux facteurs (espèce butinée, conditions écologiques du milieu, race de l'abeille, état sanitaire de la colonie) (04).

Chimiquement, le miel fraîchement récolté comporte des sucres (70-80%), eau (10-20%) et d'autres constituants mineurs (acides organiques, sels minéraux, vitamines, protéines, composés phénoliques, enzymes, acides aminés libres, hydroxy méthyle furfural et les substances aromatiques) (WHITE, 1979 ; HUCHET *et al.*, 1996).

Les monosaccharides, le fructose et le glucose, sont les principaux sucres trouvés dans le miel (JEAN-PROST, 1987; NAGAI *et al.*, 2002; TERRAB *et al.*, 2001).

Selon (HERMOSIN *et al.*, 2003), les acides aminés dans un miel naturel ne dépassent pas 1% (04).

## 6. Les propriétés physico-chimiques du miel :

### 6.1. Les propriétés physiques du miel :

Le passage des miels de l'état liquide à l'état de cristaux dépend de la température et de leur origine. Plus ils sont riches en glucose, plus rapidement ils cristallisent. Au dessus de 25°C, les miels cristallisent difficilement. La température optimale de cristallisation est environs de 14°C (DOYCE, 1931 ; KODOUNIS, 1962). Le poids spécifique du miel est en moyenne de 1,4225 à 20°C (DESCOTTES, 2004).sa viscosité décroît jusqu'à une température de 38°C. À partir de 50°C, sa constitution change, et certains principes bénéfiques à l'homme commencent à être inactivés et détruits. Ainsi l'inverse et la diastase sont déjà inactivés à 50°C. La chaleur massique du miel contenant 17°C d'eau est égale à 0,54, contre 1 pour celle de l'eau à 20°C ; c'est-à-dire qu'il faut approximativement deux fois moins d'énergie pour réchauffer le miel (11).

Il est à noter que les miels ont souvent des goûts multiples et que par cristallisation, certains goûts ou arômes disparaissent alors que d'autres apparaissent (11).

Le type de cristaux varie aussi selon l'origine du miel. Le miel de lavande forme des cristaux très fins ; celui de colza, de trèfle blanc et de luzerne des cristaux fins ; celui de romarin et de bruyère arborescente des cristaux gros, et le miel de robinier cristallise

partiellement en cristaux très gros. Les cristaux les plus fins sont les appréciés. Ils donnent ce que l'on appelle « le miel -crème » que l'on peut obtenir avec n'importe quel miel, par ensemencement. Certains miels sont thixotropes, comme celui de callune, c'est -à-dire qu'au repos, ils sont rigides, ont une consistance gélatineuse et ne coulent pas. Pour rompre cet état physique de « gel », il suffit de les remuer au moyen d'une spatule ; ils prennent alors l'état de « sol », deviennent fluides et s'écoulent normalement. La thixotropie du miel de callune est due à une protéine présente dans le nectar ; ce miel en contient environ 2% (11).

## 6.2. La composition chimique du miel :

La composition chimique du miel varie assez bien selon son origine florale. Jusqu'à présent (CRANE, 1980) ,181 substances y ont été identifiées. Le tableau n°01 donne la composition moyenne du miel obtenue en majeure partie de l'analyse de 490 échantillons différents (WHITE *et al.*, 1962).

**Tableau n°01 :** Les principaux composants du miel en pourcentage (11).

Composant		%
Eau		17,2
sucres	Lévilose (d-fructose) :	38,19
	Dextrose (d-glucose) :	31,28
	Sucrose (saccharose) :	1,31
	Maltose et autres disaccharides réducteurs :	7,31
	Sucres supérieurs :	1,50
	Sucres totaux :	79,59
acides	(gluconique, citrique, malique, succinique, formique, etc.) ; acides totaux calculés en acide gluconique :	0,57
protéines	(acides aminés : acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine et lycine) :	0,26
cendres	(minéraux : potassium, sodium, magnésium, calcium, phosphore, fer, manganèse, cuivre, etc.)	0,17
composants mineurs	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcoolés de sucres, des tanins, des enzymes et diastases dont l'amylase, la peroxydase, la succinyldehydrogénase, la phosphatase et les invertases ; des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, la vitamine K, l'acide folique, la biotine, la pyridoxine et l'acide panthothénique :	2,21

## 7. Propriétés organoleptiques :

### 7.1. La couleur :

Elle varie de blanc ou de nuance très claire à brun sombre selon l'origine du produit. Les miels français de robinier ou << acacia >> - *Robinia pseudoacacia* -, luzerne, romarin, rhododendron, lavande... sont clairs à l'état liquide et blancs lorsqu'ils sont cristallisés ; ceux de fenouil, de bourdaine, de bruyère, de callune, d'eucalyptus, d'arbousier et de miellats sont, au contraire, foncés avec des reflets variés (verdâtres dans le miel de sapin) ; celui de sarrasin est presque noir. Certains miels sont lumineux (miel de tournesol), d'autres, au contraire, le sont peu (miel de colza) (10).

La variabilité de la couleur du miel est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit de miels très clairs; les plus foncés étant les plus minéralisés. (BONIMOND., 1983).

L'intensité de la couleur est mesurée par l'échelle de *Pfund* (*Pfund color grader*) ou par le comparateur visuel de Lovibond. La limpidité, la fluidité, l'homogénéité, la cristallisation et la propreté sont également prises en considération (MOKEDDEM, 1997).

### 7.2. L'odeurs :

Dans les différents miels, les odeurs varient considérablement mais s'évaporent très rapidement. Elles sont végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes, vulgaires. Une odeur de fumée ou de fermentation est un défaut (MOKEDDEM, 1998).

### 7.3. Les goûts :

Il s'agit des arômes, de la saveur (acide, sucrée, 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. (MOKEDDEM, 1998).

## 8. Les propriétés biologiques du miel :

### 8.1. Valeur alimentaire et diététique :

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétique (320 calories par 100 g ou 13400 joules / kg) il est composé essentiellement d'un couple d'hexoses :

- le glucose, qui est assimilé directement ;
- le fructose, qui est assimilé après une légère transformation.

Le miel présente sur le sucre ordinaire l'avantage de contenir des sels minéraux ainsi que des substances aromatique qui rendent sa consommation plus agréable. Le miel est un aliment très favorable à la croissance des jeunes enfants (GONNET, 1982) .

### 8.2. Valeur thérapeutique :

Le miel contient des substances antibactériennes d'où le nom d'inhibine. L'action antibactérienne du miel est certainement à l'origine de quelques unes des propriétés médicinales qui lui sont attribuées (10).

Dans le domaine médical il a été signalé l'action bénéfique du miel dans certains cas de maladies de l'estomac, de l'intestin, des reins ou des voies respiratoires (GONNET, 1982).

Le miel à un pouvoir antiseptique utilisé dans le traitement des plaies depuis l'antiquité (ATTIPOUK *et al.*, 1998). (PROST, 1987), ajoute signale que l'élément essentiel de cette activité antibiotique du miel, est une enzyme, la gluco-oxydase, qui provoque un dégagement d'eau oxygénée.

**Tableau n°02 : Propriétés et indications thérapeutiques plus spécifiques attribuées aux principaux miels unifloraux (DONADIEU, 1984).**

Acacia	-Régulateur intestinal	-Paresse intestinal, notamment chez les jeunes enfants.
Bruyère	-Antiseptique des voies urinaires et diurétiques ; -antianémique. -dynamogénique des voies respiratoires et des voies urinaires.	-Affections de l'arbre urinaire dans son ensemble et dans le régime diététique de l'insuffisance rénale et chronique ; - Certains anémies ; -Etats de fatigue en général ; -Convalescences ; -Sénescences.
Eucalyptus	-Antianémique ; -Antiseptique et anti-inflammatoires des voies respiratoires ; -Diurétique.	- Certains anémies ; -Affection touchant à la sphère respiratoire dans tout son ensemble ; -Affections de l'arbre urinaire dans son ensemble et dans le régime diététique de l'insuffisance rénale et chronique.
Lavande	-Antiseptique et anti-inflammatoire des voies respiratoires ; -Antispasmodique ; Sédatif nerveux.	-Affection touchant à la sphère respiratoire dans tout son ensemble ; -Rhumatismes chroniques (arthrose).
Thym	-Antiseptique général.	-Maladies infectieuses en général touchant aussi bien les sphères respiratoires, digestives et urinaires.
Tilleul	-Antispasmodique ; Sédatif nerveux.	-Etats spasmodiques d'origines diverses ; Nervosisme en général et troubles qui en découlent : insomnies, palpitations.
Trèfle	-Dynamogénique.	-Etats de fatigue ; -Convalescences ; -Efforts physiques (chez les sportifs en particulier).

### 9. Les microorganismes dans le miel :

On trouve dans le miel beaucoup moins de bactéries que dans d'autres produits crus de provenance animale (TYSSET *et al.*, 1981). On note dans quelques publications la présence de *Clostridium botulinum* dans le miel (AMON *et al.*, 1979). Les études menées en Europe ne confirment pas ces résultats (HARTGEN, 1980) cité par (BOGDANOV, 1995), à l'exception d'un miel italien (CRISEO *et al.*, 1993) cité par le même auteur. Certes, les toxines ne peuvent pas se former, étant donné que la forte activité de l'eau empêche la

germination et la croissance; les spores par contre peuvent survivre. (WELFORD *et al.*, 1978). (cité par anonyme)

Le miel contient différentes levures osmotolérantes, responsables de la fermentation (TYSSET *et al.*, 1981). (cité par anonyme)

### **10. l'effet antibactérien 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 (JEFFREY et ECHAZARETTA, 1996).

ALLEN cité par (NZEAKO et HAMDI, 2000) 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).

Beaucoup ont attribués l'action thérapeutique du miel juste à l'effet osmotique du à sa teneur en sucres (SEYMOUR et WEST, 1951, KEAST-BUTLER, 1980, SOMERFIELD, 1991, TOVEY, 1991, CONDON, 1993).

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 par (DODD ,1937) et ses collaborateurs pour qualifier les agents antimicrobiens (THEUNISSEN *et al.*, 2001) (cité par anonyme).

### 10.1. Les mécanisme d'action :

#### ➤ L'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 (19).

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 (19).

La teneur en eau du miel Effet de la richesse en levure, le nombre de germes de fermentation est exprimée par gramme de miel (19).

Moins de 17,1 % Pas de fermentation quelle que soit la richesse en l levures. 17.1 à 18,0 % Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 1000. 18,1 à 19.0 % Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 10. 19,1 à 20.0 % Pas de fermentation si le nombre de levures ne dépasse pas 1 (19).

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 (19).

#### ➤ L'effet du pH :

Le pH du miel est relativement acide, il varie entre 3,2 et 4,5 qui est principalement du à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone (19). Le pH bas du miel associé à l'effet osmotique de ses sucres furent considérés comme le principal facteur antibactérien (YATSUNAMI, ECHIGO, 1984). Mais si le miel est dilué, particulièrement par les fluides du corps le pH ne sera pas ainsi un inhibiteur efficace de beaucoup d'espèces microbiennes (MOLAN, 1996). Cependant certains miels 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).

Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces pathogènes (19).

➤ **Le peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> :**

L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène (BRUDZYNSKI, 2006).

L'eau oxygénée aussi appelée peroxyde d'hydrogène est considérée comme la principale inhibitive du miel. Elle est produite par réaction enzymatique ; c'est le glucose oxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante :

Glucose + O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{Glucose-oxydase}}$  Gluconolactone + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>  $\xrightarrow{\text{Catalase}}$  Acide gluconique (19).

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 (19).

L'eau est indispensable au processus d'oxydation, c'est ainsi que le peroxyde d'hydrogène se forme uniquement dans le miel non-mur ou dilué, dans le miel mur, le processus est bloqué, avec possibilité de réactivation par dilution (BOGDANOV et BLUMER, 2001).

**Tableau n°03** : Activités biologiques des composés polyphénoliques  
(Frankel et al., 1995) .

Polyphénols	Activités	Auteurs
<b>Acides phénols (cinnamique et benzoïque)</b>	Antibactériens Antifongiques Antioxydants	[Didry <i>et al.</i> , 1982] [Ravn <i>et al.</i> , 1984] [Hayase et Kato, 1984]
<b>Coumarines</b>	Vasoprotectrices et antioedémateuses	[Mabry et Ulubelen, 1980]
<b>Flavonoïdes</b>	Antitumorales Anticarcinogènes Anti-inflammatoires Hypotenseurs et diurétiques Antioxydants	[Stavric et Matula, 1992] [Das <i>et al.</i> , 1994] [Bidet <i>et al.</i> , 1987] [Bruneton., 1993] [Aruoma <i>et al.</i> , 1995]
<b>Anthocyanes</b>	Protection des veines et capillaires	[Bruneton., 1993]
<b>Proanthocyanidines</b>	Effets stabilisants sur le collagène  Antioxydants Antitumorales Antifongiques Anti-inflammatoires	[Masquelier <i>et al.</i> , 1979] [Bahorun <i>et al.</i> , 1996]  [DE Oliveira <i>et al.</i> , 1972] [Brownlee <i>et al.</i> , 1992]  [Kreofsky <i>et al.</i> , 1992]

Des recherche ont décelé différents inhibiteurs dites peroxydes tel que lysozymes, flavonoïdes, les acides aromatiques et d'autres composants indéterminés du miel (19).

Certaines Substances ont une origine végétale et d'autres sont ajoutées par abeilles Lors de l'élaboration du miel (BOGDANOV ET BLUMER, 2001).

Prenons le cas des flavonoïdes ; des recherches sur le miel ont permis de mettre en évidence des substances qui sont d'origine botanique et qui contribuent à défense de l'organisme en renforçant lez système immunitaire (LAFFONT, 2000).

## 11. l'altération du miel et les conditions de sa conservation :

La qualité et les propriétés biochimiques du miel sont relié à la maturité de miel, aux méthodes de production, aux conditions climatiques, et celles des traitements et de stockage, aussi bien qu'à la source de nectar du miel (BOGDANOV *et al.*; 1999, CRANE, 1979, PERSANO ODDO et BOGDANOV, 2004, WHITE, 1978).

Comme tout produit biologique, le miel subit au cours du temps des modifications plus ou moins importantes selon sa composition et les conditions de sa conservation (04).

Il est donc utile de bien connaître les conditions de stockage, les phénomènes qui se déroulent au cours du vieillissement du miel et qui influencent la qualité du produit (04).

Le choix du lieu de stockage, des récipients et des emballages utilisés pour la conservation et le conditionnement du miel sont donc très importants (GONNET, 1982). Il convient donc de garder le miel dans des locaux frais où la température ne dépasse pas 20°C. Si le miel à stocker présente un risque de fermentation, il faudra impérativement le pasteuriser ou le conserver à une température de 4 à 5°C (04).

Le miel doit être conservé à l'abri de l'air surtout l'air humide, car il est très hygroscopique (04).

L'absorption d'eau par le miel est toujours un accident grave susceptible d'entraîner des modifications physico-chimiques profondes se terminant par la fermentation du produit (04).

Le choix du lieu de stockage, des récipients et des emballages utilisés pour la conservation et le conditionnement du miel sont donc très importants (GONNET, 1982).

Un autre facteur qui a un effet néfaste sur la qualité du miel est l'oxygène de l'air. Il provoque l'oxydation des sucres qui peut se traduire avec le temps par un brunissement accéléré et une dégradation de la qualité au niveau aromatique du miel (GONNET, 1982).

### **11 .1.Effet de la température :**

Le traitement thermique du miel peut accélérer certaines réactions chimiques susceptibles d'altérer sa qualité au cours de l'entreposage (M.A.RAMIREZ *et al.*, 2000).Quelques études ont montré que la température est le principal élément qui doit être contrôlé pour avoir un miel de bonne qualité (WINKLER cité par RAMIREZ, 2000).Mais le comportement des miels durant l'entreposage diffère selon le type de miel (RAMIREZ *et al.*, 2000)."Il est connu que la chaleur et la lumière altèrent le glucose oxydase et diminuent ainsi la production d'eau oxygénée" (BOGDANOV et BLUMER, 2001).et il ajoute que " la température au cours de l'entreposage a une influence importante sur l'activité enzymatique qui diminue en fonction de la durée d'entreposage et, de la teneur en HMF qui elle, augmente (cité par anonyme).

### 11.2. Effet de la lumière :

La lumière réduit les propriétés antibiotiques du miel, les indices de peroxyde du miel de fleurs en particulier sont fortement réduits lors du stockage à la lumière, ils ne diminuent que de moitié à l'obscurité. Les inhibines non peroxydes ne s'altèrent que légèrement en raison de la lumière et d'un long stockage (BOGDANOV et BLUMER, 2001).

### 11.3. Effet de la fermentation :

Seuls les miels dont la teneur en eau est inférieure à 18% sont de bonne conservation (GONNET, 1982). (BOGDANOV, 1995) revoit ce chiffre légèrement à la hausse puisque selon lui la teneur en eau ne devrait pas dépasser 19g/100g de miel, étant donné que dans le cas contraire, il existe un risque de fermentation à la surface. Si l'on se réfère à (STEPHEN, 1946) cet écart d'une unité n'est pas à prendre à la légère, en effet, selon cet auteur la teneur en levures augmente de cinq fois dans le cas d'un accroissement de la teneur en eau de 1g/100g; en dessous d'une teneur de 17g/100g le risque de fermentation est très faible. Vu ses propriétés très hygroscopiques, le miel absorbe l'humidité de l'air quand celle-ci est très élevée d'où la nécessité de le conserver dans des récipients étanches (BOGDANOV, 1999) (cité par anonyme).

### XI.4. Cristallisation du miel :

Le miel consiste en une solution sucrée sursaturée. La cristallisation du miel est ainsi un processus naturel (BOGDANOV, 1987, HORN, 1991). Elle dépend des facteurs suivants (cité par anonyme) :

#### ❖ Teneur en sucres et en eau :

La vitesse de cristallisation dépend surtout de la teneur en glucose du miel (WHITE, 1962, BOGDANOV *et al.*, 1987). Les miels de fleurs avec plus de 28% de glucose cristallisent très rapidement; le miel de miellat avec une teneur en mélézitose de 10% se transforme en du miel dit miel ciment. Les miels dont la teneur en glucose est  $< 28\text{g}/100\text{g}$  ou dont le rapport glucose eau est  $< 1,7$  restent plus longtemps liquides (HORN, 1991), (BOGDANOV *et al.*, 1995) (cité par anonyme). Les miels ayant une forte teneur en eau cristallisent souvent en deux phases. La phase

supérieure est plus aqueuse et les levures peuvent se multiplier et provoquer la fermentation du miel (BOGDANOV, 1987) (cité par anonyme).

❖ **Température :**

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18°C. Une température constante de 14°C est idéale. A basse température la cristallisation est lente avec formation de cristaux très fins, à température élevée (plus de 25°C°), la cristallisation est également lente, mais le miel se fige sous la forme de cristaux grossiers (BOGDANOV, 1987) (cité par anonyme).

**12. Production du miel en Algérie :**

Selon la (F.A.O. 2004), l'activité apicole en Algérie couvre réellement pour la production globale du miel doux (3 319 050 quaux/an) une superficie de 2 212 700 Ha à raison de production unitaire de 150 Kg/Ha. La production globale du miel amer des forêts est estimée à 530 910 qux/an sur une superficie de 663 638 Ha, avec une production unitaire de 80 Kg/ha (F.A.O, 2004).

Les experts de la F.A.O. estiment la superficie réelle du territoire productrice du miel de (14 751 600 + 1 182 384= 15 933 984 Ha) qui peuvent produire 22 127 400 qux/an de miel doux et 945 907qux/an miel amer des forêts (Tableau n°03); à raison de 150Kg miel doux/ha et 80Kg miel amer/Ha (04).

**Tableau n°04:** Potentialité de développement des produits forestiers (miels doux et amer), (Selon F.A.O, 2004).

ALGERIE		Superficie Territoire ha.	Production Unitaire Kg/ha.	Production Globale qux/an.	Production Utilisable qux/an.
	Potentielle	14 751 600	66.70	9 839 317	9 839 317
MIEL DOUX	Réelle	2 212 700	150	3 319 050	3 319 050
	Potentielle	14 751 600	150	22 127 400	22 127 400
MIEL AMER	Réelle	663 638	80	530 910	530 910
	Potentielle	1 182 384	80	945 907	945 907

Les informations statistiques fournies par la direction en charge des statistiques agricoles au niveau du ministère de l'agriculture montrent l'existence d'une fluctuation dans la production nationale en miel (**Tableau n°05**) (04).

En 1991, la production est arrivée à 2 000 tonnes, suivie par une diminution pendant l'année 1993, puis une augmentation qui a atteint son maximum (2 800 tonnes) en 1994. Ce chiffre n'a cessé de diminuer durant les années qui suivent (MINISTERE DE L'AGRICULTURE, 2002) (04).

**Tableau n°05** : La production agricole 1991-1999 (Tonnes de miel)

(Source, MINISTERE DE L'AGRICULTURE, 2002).

L'année	1991	1992	1993	1994	1995	1996	1997	1998	1999
Tonne	2000	1132	1800	2800	1800	2500	1100	1500	1800

Vu la demande importante sur cette denrée alimentaire et diététique et la faible production au niveau local qui ne remplit pas les besoins du marché national, l'état a été poussé à importer cette denrée de l'Espagne (**Tableau n°06**) ainsi que d'autres pays producteurs de miel (04).

**Tableau n°06**: Importation du miel de l'Espagne (1000 tonnes)

(Source: COMMISSION DES COMMUNAUTES EUROPEENNES, 2001 ; F.A.O, 2004).

L'année	1997	1998	1999	2000	2001	2002
Tonne	347	253	155	271	342	503

### 1. Extraction du miel :

Les miels utilisés dans cette étude sont fournis par des apiculteurs de la région de Guelma. On est arrivé à collecté huit types de miel classés selon la nutrition (multi floraux, ou miel toutes fleurs), les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été), (DONADIEU, 1984). Le tableau suivant présente l'origine et la région de récolte de chaque échantillon (**Tableau n°07**) (**Figure n°04**).

**Tableau n°07** : les différentes caractéristiques de chaque échantillon.

	<b>Région de récolte</b>	<b>La nutrition</b>	<b>Date de Récolte</b>
<b>Echantillon 1</b>	Tebissa (Hmamet)	Monoflorale	29/09/2012
<b>Echantillon2</b>	Selaoua Anouna	Monoflorale (tourne sole)	29/09/2012
<b>Echantillon 3</b>	Nadhor (Guelma)	Mono florale (orange)	07/07/2012
<b>Echantillon 4</b>	Belkhir (Guelma)	Monoflorale (Eucalyptus)	10/07/2012
<b>Echantillon 5</b>	Boumahra ahmed(Guelma)	Multiflorale	06/09/2012
<b>Echantillon 6</b>	Guelma centre Ville	Multiflorale	12/09/2012
<b>Echantillon 7</b>	Guelaat bousbaa (Guelma)	Multi florale	30/08/2012
<b>Echantillon 8</b>	Ouad Echham (Guelma)	Multi florale	29/09/2012

Le miel utilisé était conservé dans sa cire recouvert avec un papier aluminium au réfrigérateur dès le jour de sa sortie de la ruche jusqu'au le jour de son extraction.



**Figure n°04** : les huit échantillons.

L'extraction était réalisée avec une méthode traditionnelle simple. La méthode utilisée est manuelle à l'aide d'une gaze stérile (**Figure n°05**).

- on a porté une gaze stérile.
- couper la cire qui porte l'échantillon en petit tranches ce qui facilite l'extraction.
- on obtient un miel liquide porté dans des boites en verres étiquetées et recouvertes par du papier aluminium et portées dans un milieu sombre à l'abri de la lumière qui peut être l'une des causes du vieillissement du miel.

On a préféré utiliser cette méthode traditionnelle pour éviter toute sorte de pollution.



**Figure n°05** : Extraction manuelle du miel.

## 2. les espèces bactériennes étudiées :

Pour une bonne évaluation de cette étude, le choix des espèces bactériennes a été porté sur des espèces référenciées, deux souches à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853, une autre à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

- ***Escherichia coli* :**

C'est une bactérie appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae* saprophyte du tube digestif de l'homme et des animaux, le plus souvent les souches qui colonisent l'appareil gastro- intestinal sont des commensaux inoffensifs. Toutefois à l'intérieur de ces espèces on trouve des souches pathogènes telles que (14) :

- *Escherichia coli* entéropathogène (ECEP) ;
- *Escherichia coli* entérotoginogène (ECET) ;
- *Escherichia coli* entéroinvasif (ECEI) ;
- *Escherichia coli* entérohémorragique (ECEH).

- *Pseudomonas aeruginosa* (21) :

C'est une bactérie de la famille des *Pseudomonadaceae* provoque des infections au niveau des yeux, des plaies surtout les brûlures et les plaies opératoires, les poumons et des infections gastro-intestinales ; etc.

Ce germe est caractérisé par sa résistance naturelle aux antibiotiques et s'adaptant rapidement aux attaques médicamenteuses.

- *Staphylococcus aureus* :

C'est une bactérie commensale de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux, on le trouve sur la muqueuse nasale d'un tiers environ des sujets normaux, éliminé dans un milieu extérieur et elle peut vivre longtemps dans l'environnement.

Certaines souches agissent par la libération d'une ou de plusieurs toxines (intoxication alimentaire, syndrome de choc toxique ; etc.)

La fréquence de la gravité des infections à staphylocoque sont liées à trois principaux facteurs (14):

- Le caractère ubiquitaire du germe ;
- L'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc ;
- La fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier.

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 basses (MOLAN ,1992).

### 3. Les milieux de cultures utilisés :

Selon les techniques employées et les souches étudiées, les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- **Gélose nutritif (GN):** c'est un milieu d'isolement non-sélectif. L'isolement est réalisé dans le but de contrôler la pureté d'une souche bactérienne (pur s'il y a un type de colonie sur la gélose) ou de purifier la souche bactérienne si elle est contaminée.

Sur cette gélose nutritive on observe un nombre de colonies différentes (de nombreux types de colonies) (22).

- **Bouillon nutritif :** constitue un milieu d'utilisation générale pour un grand nombre de microorganismes ne présentant pas d'exigences particulières. Sa formulation répond aux directives du J.O. du 8 Août 1972 pour la recherche d'un pouvoir inhibiteur intrinsèque des produits cosmétiques (24).
- **La gélose Mueller Hinton (MH):** est reconnue par tous les experts comme étant le milieu de référence pour l'étude de la sensibilité des germes aux antibiotiques et aux sulfamides (23).

#### 4. Etude de l'activité antibactérienne :

L'évaluation de l'activité antibactérienne du miel est réalisée par deux techniques (diffusion sur milieu gélosé et la méthode des puits).

L'expérimentation s'est déroulée dans le laboratoire de microbiologie université 8mai 1945 sur une période d'étude de 2mois.

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 boîte.

##### 4.1. Méthode de diffusion sur milieu gélosé :

La méthode de diffusion sur milieu gélosé est réalisée sur milieu MH, la gélose MH stérile est fondue dans un autoclave et versée dans des boîtes de pétri près du bec bunsen dans des conditions aseptiques après une courte durée pour lui permettre de refroidir jusqu'à ce qu'on soit capable de la porter avec la pomme de main, l'épaisseur du milieu MH dans chaque boîte est de 4mm. Après solidification la surface du milieu de culture estensemencée par méthode d'inondation ou pas écouvillonnage par une des suspensions des souches bactériennes, ces dernières sont préparées dans l'eau physiologique stérile et qui porte une charge bactérienne de l'ordre de 0,5Mc Farland.les suspensions bactériennes sont préparées à partir d'une culture fraîche de 18heurs.

Dans notre travail on a choisi la méthode de nappe (inondation).

- **Ensemencement par inondation :**

On aensemencé les boites du milieu d'MH solidifié en inondant la surface avec l'inoculum liquide dont l'excès est enlevé par une pipete pasteur stérile.

Des disques stériles en papier filtre d'un diamètre de 6mm sont imprégnés dans chaque dilution pendant environ 10minutes vue de la forte consistance qui nous a empêché de prendre des quantités précises de miel et de mes déposer directement sur les disques. A l'aide d'une pince stérile les disques sont déposés à la surface du milieu gélosé MHensemencé.

Les dilutions (A, B, C, D) sont respectivement (100%, 75%,50%, 25%) séparément (**Figure 6**), si on parle de ces dilutions 25% présente 25ml de miel et 75ml de l'eau distillée stérile comme diluant. 50% = (50 de miel et 50 de diluant). 75% = (75 de miel et 25 de diluant). 100% = miel pur le solvant qu'on utilisé est l'eau distillée (**Figure 6**). Les boites ainsi incubée à l'étuve à 37°C pendant 24h. Après incubation, les zones d'inhibitions apparus sont mesurées.

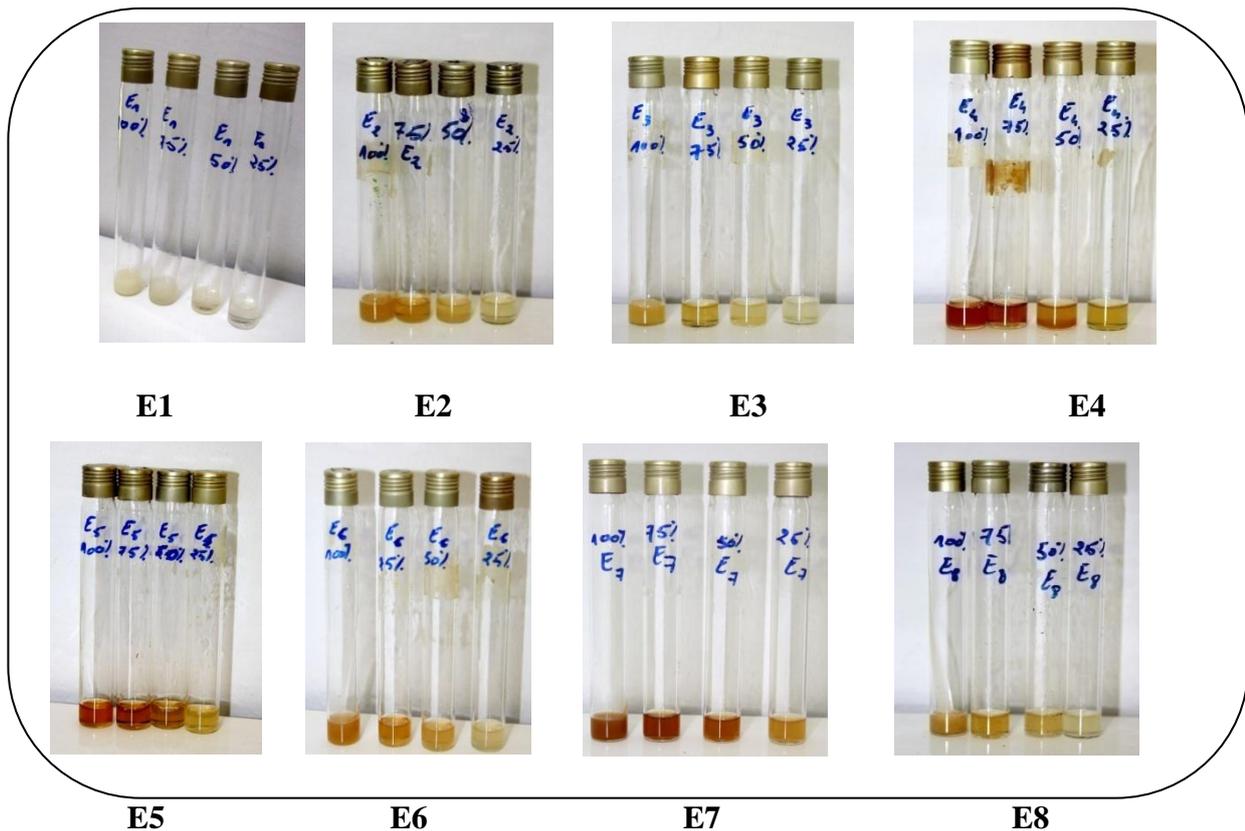


Figure n°06 : les dilutions des huit échantillons.

Deux répétitions sont réalisées pour chaque test. L'effet du miel avec des concentrations différentes est comparé aux résultats d'un antibiogramme qui a été appliqué sur les souches (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*), les disques d'antibiotiques nous ont été assurés par le laboratoire de microbiologie de l'université 8mai 1945 (Tableau 8).

Tableau n°08 : les antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme.

Antibiotique	Abréviation	Antibiotique	Abréviation
Neomycine	N	Amikacine	AN
Chloramphénicol	C30	Vancamycine	VA30
Gentamicine	GM	Cefalexine	CN
Erythromycine	E15	Pristinamycine	PT
Nalidixic acide	NA	Rifampine	RA30
Lincomycine	L10	Tétracycline	TE30
Metromidazole	MTR		

#### 4.2 Méthode de diffusion en puits :

Cette méthode repose sur le pouvoir migratoire du miel à l'intérieur d'une boîte pétri dans un milieu nutritif solide, cette technique a été appliquée par plusieurs auteurs.

Sur une gélose MHensemencée soit par méthode d'inondation ou à l'aide d'un écouvillon avec une suspension de 0,5Mc Farland, des puits de 6mm sont réalisés à la surface à l'aide d'une pipette pasteur stérile.

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

#### 4.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance bactérienne :

La détermination de l'effet antibactérien du miel est révélée par la mise en évidence de la concentration minimale inhibitrice (CMI), qui est la plus petite concentration en miel, pour laquelle on n'observe aucune croissance visible de germes, elle définit l'arrêt du pouvoir de reproduction bactérienne.

Sur des tubes stériles une suspension de 0,5 Mc Farland de chaque souche est préparée avec un volume de 500µl (chaque souche dans un tube) et un volume de 5ml d'un bouillon nutritive on ajoutant dans chaque tube 1ml de chaque dilution du miel (A, B, C, D), les tubes sont incubés à 37°C pendant 18h (**Figure 8**).

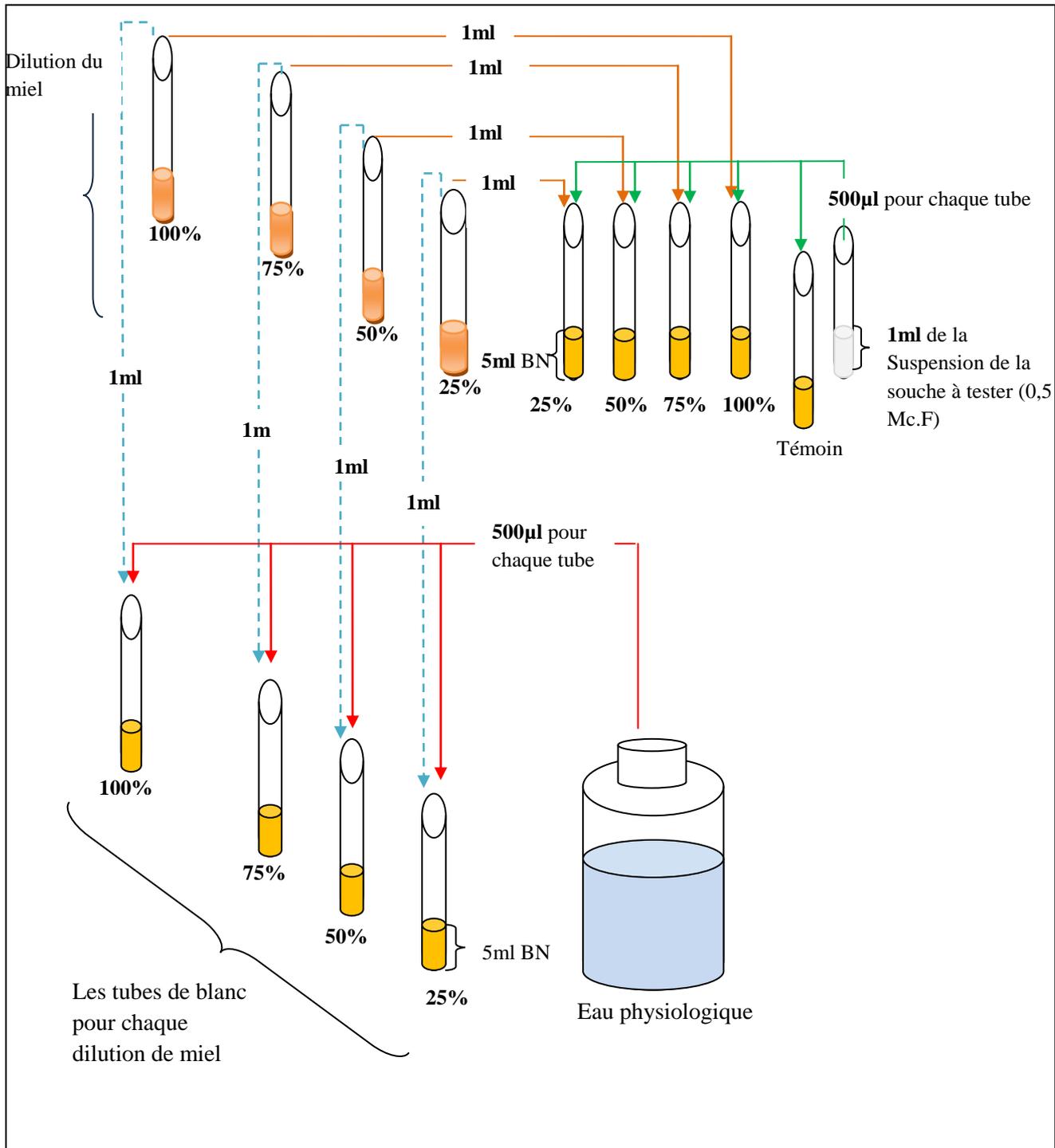


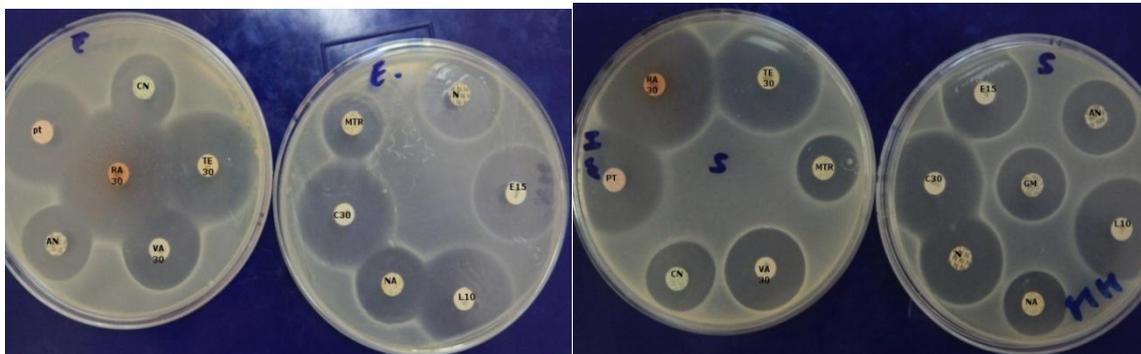
Figure n°07 : protocole de détermination de la CMI.

**1. Activité antibactérienne du miel :**

L'évaluation de l'activité antibactérienne des huit échantillons du miel avec des concentrations différentes a été effectuée sur trois espèces bactériennes choisies selon leurs sensibilité et résistance et de Gram différent, l'une à Gram positif : *Staphylococcus aureus* et deux à Gram négatif *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*.

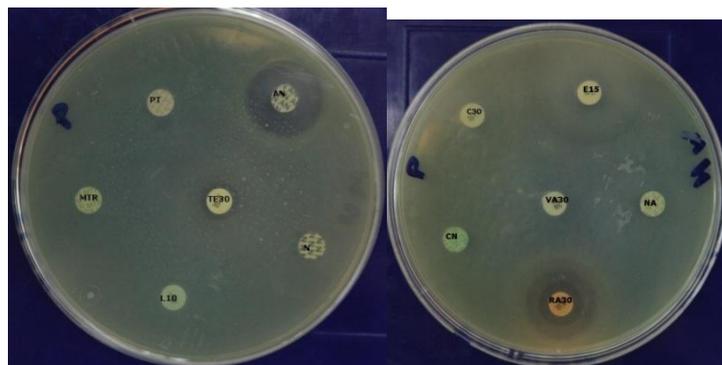
**1.1. Effet des antibiotiques sur trois espèces bactériennes étudiées :**

Les valeurs des diamètres d'inhibition de cette étude sont comparés vis-à-vis de celles d'antibiogramme, les résultats d'antibiogramme sont résumés dans le tableau (**Tableau 08**).



Antibiogramme *Escherichia coli*

Antibiogramme *Staphylococcus aureus*

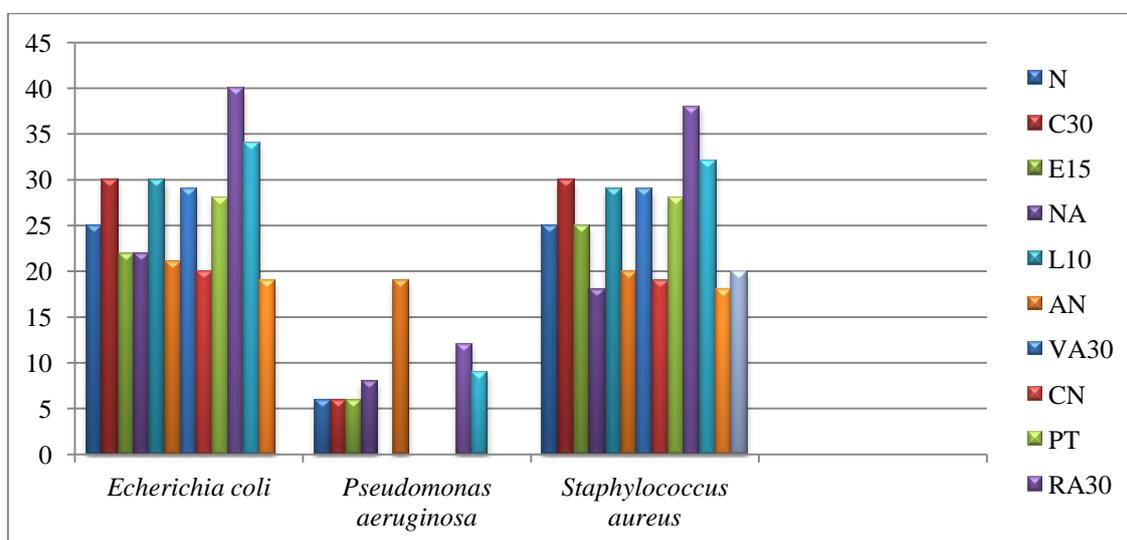


Antibiogramme de *Pseudomonas aeruginosa*

**Figure n°08:** antibiogramme des trois espèces bactériennes.

**Tableau n°09** : valeurs des diamètres d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis les trois espèces bactérienne :

	N	C30	E15	NA	L10	AN	VA30	CN	PT	RA30	TE30	MTR	GM
<i>Escherichia coli</i>	25	30	22	22	30	21	29	20	28	40	34	19	00
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	06	06	06	08	00	19	00	00	00	12	09	00	00
<i>Staphylococcus aureus</i>	25	30	25	18	29	20	29	19	28	38	32	18	20



**Figure n°9** : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions d'un antibiogramme.

### 1.2 .résultats de détermination de l'activité antibactérienne du miel par méthode de diffusion sur milieu gélosé :

Par la méthode de diffusion par disque, une inhibition de la croissance bactérienne a été observée sur les trois souches bactériennes (**Figure 10, 11,12**) avec des diamètres qui varient selon des dilutions.

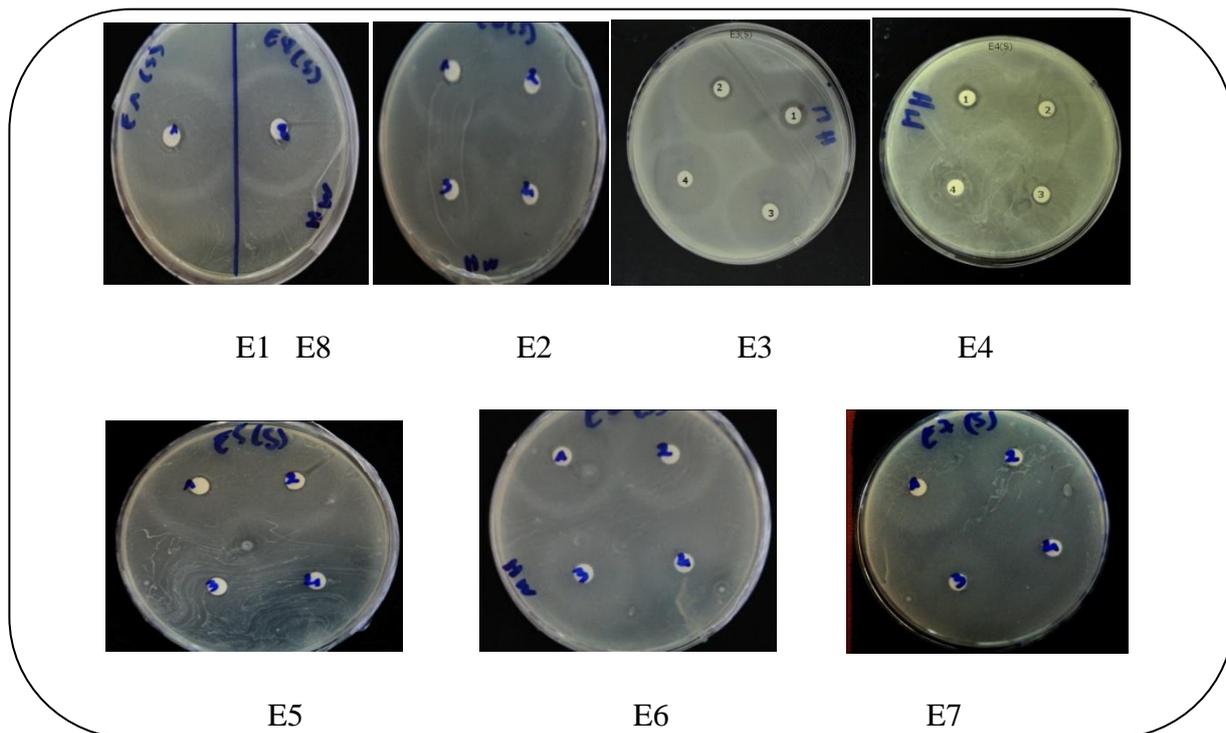


Figure n°10 : Effet de miel sur *Staphylococcus aureus*

(Méthode de diffusion sur milieu gélosé).

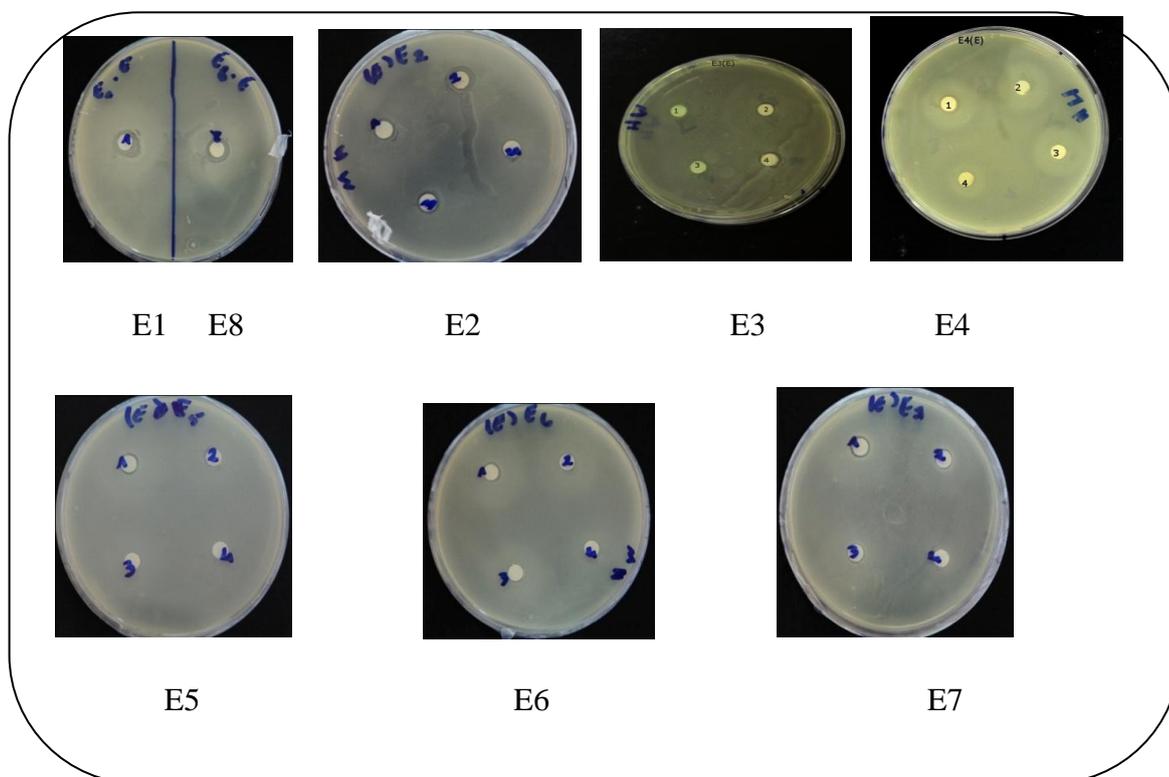
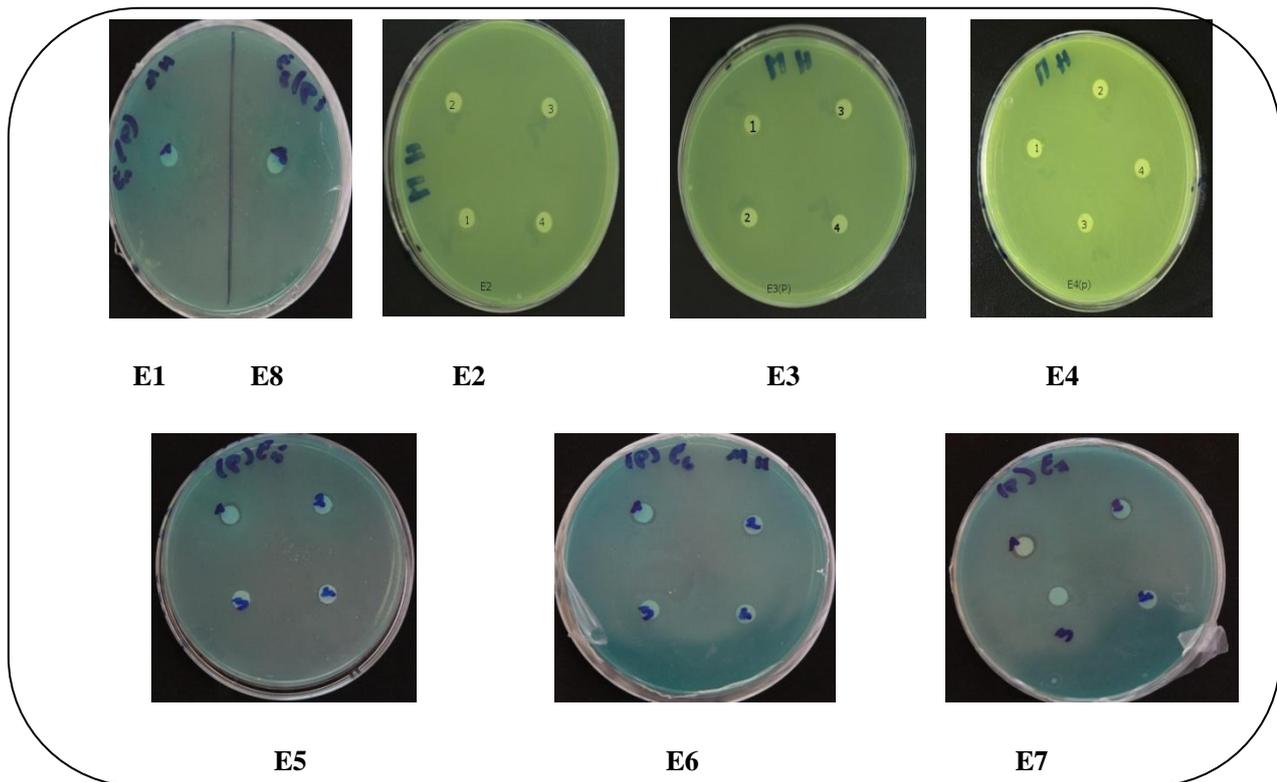


Figure n°11: Effet de miel sur *Escherichia coli*.

(Méthode de diffusion sur milieu gélosé).



**Figure n°12:** Effet de miel sur *Pseudomonas aeruginosa*.

(Méthode de diffusion sur milieu gélosé).

Les valeurs des diamètres d'inhibition du miel sur les trois espèces bactériennes sont résumées dans le (Tableau 10).

**Tableau n°10** : valeurs des diamètres d'inhibition du miel vis-à-vis les trois souches (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

Echantillons	Souches	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
	E1	A	35	10
B		00	00	00
C		00	00	00
D		00	00	00
E2	A	32	09	11
	B	25	10	10
	C	20	09	10
	D	00	08	00
E3	A	34	08	11
	B	32	08	09
	C	29	06	08
	D	24	06	09
E4	A	28	21	11
	B	31	20	13
	C	25	19	10
	D	22	13	06
E5	A	36	30	22
	B	34	24	23
	C	26	14	07
	D	22	12	07
E6	A	38	28	08
	B	34	23	08
	C	28	16	00
	D	24	10	00
E7	A	34	30	09
	B	30	24	08
	C	28	13	07
	D	24	00	00
E8	A	38	10	10
	B	00	00	00
	C	00	00	00
	D	00	00	00

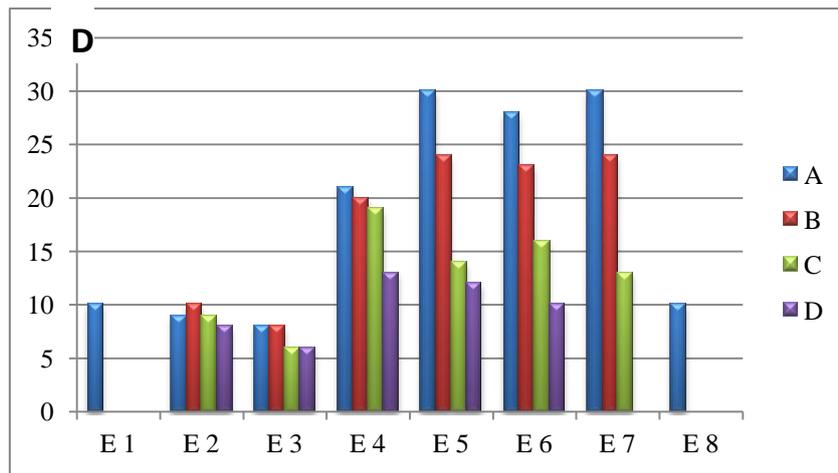


Figure n°13 : histogramme représentatif des diamètres des zones d’inhibitions des huit échantillons sur *Escherichia coli* (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

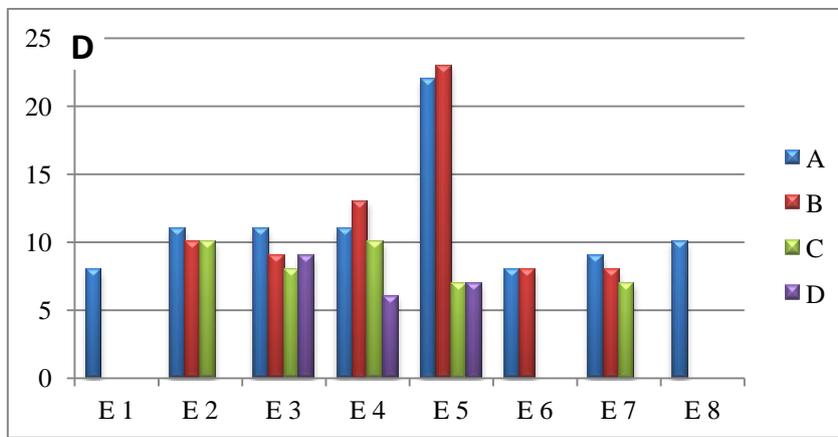


Figure n°14 : histogramme représentatif des diamètres des zones d’inhibitions des huit échantillons sur *Pseudomonas aeruginosa* (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

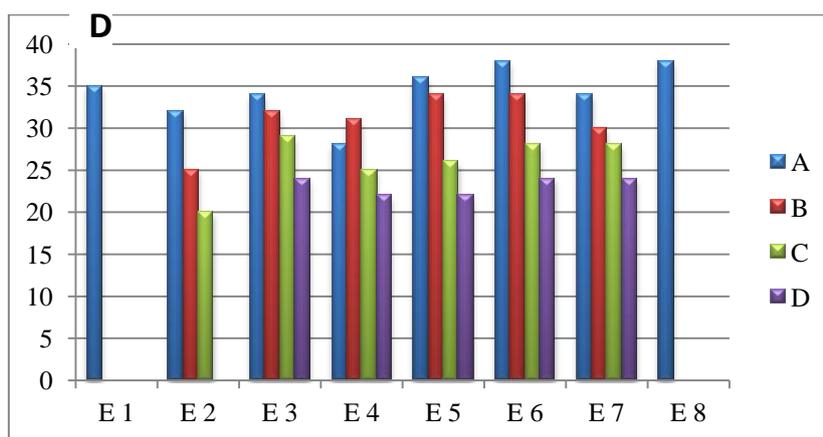


Figure n°15 : histogramme représentatif des diamètres des zones d’inhibitions des huit échantillons sur *Staphylococcus aureus* (méthode de diffusion sur milieu gélosé).

L'effet antibactérien est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successive : la dilution A (100% miel) le diamètre de la zone d'inhibition se varie de 8mm jusqu'à 38mm les plus grands diamètres ont été observés sur *Staphylococcus aureus* alors que *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* présentent des zones d'inhibition d'un diamètre plus faible.

Comparativement aux résultats de l'antibiogramme sur la souche *Escherichia coli* les antibiotiques présentent des zones d'inhibition plus importantes que celles des échantillons (**E1, E2, E3, E4, E8**) et le contraire pour les échantillons (**E5, E6, E7**) qui présentent des zones d'inhibition avec des valeurs supérieures ou égales à celles d'antibiotiques.

Selon les résultats d'antibiogramme de la souche *Pseudomona aeruginosa*, des zones d'inhibitions moins importantes arrivant à 19 mm sont apparues avec Amikacine, Rifampine et minimales avec Nalidixic acide et Tétracycline et ce comparativement aux résultats d'aromatogramme l'échantillon (**E5**) a présenté des zones d'inhibition avec une valeur de diamètre d'inhibition importante arrivant à 23 mm dans la dilution (A), les résultats d'aromatogramme des autres échantillons ressemblent à celui de l'antibiogramme avec les mêmes valeurs.

Dans le cas d'aromatogramme sur la souche *Staphylococcus aureus* l'impact du miel des huit échantillons est plus important que celui des antibiotiques dans la dilution (A) (miel pure), les diamètres des zones d'inhibition se diminuent avec les dilutions jusqu'à la dilution (C) ou les valeurs des zones d'inhibition sont au voisinage à celles des antibiotiques appliqués.

Une échelle d'estimation antibactérienne donnée par MUTAI *et al.*, permet de classer les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice :  $D \geq 30\text{mm}$ .
- Fortement inhibitrice :  $21\text{mm} \leq D \leq 29\text{mm}$ .
- Modérément inhibitrice :  $16\text{mm} \leq D \leq 20\text{mm}$ .
- Légèrement inhibitrice :  $11\text{mm} \leq D \leq 16\text{mm}$ .
- Non inhibitrice :  $D \leq 10\text{mm}$ .

Selon cette échelle, les huit échantillons de miel avec ses quatre dilutions présentent les résultats résumés dans le **tableau 11** :

Tableau n°11: l'activité antibactérienne selon l'échelle de Mutai *et al.*,

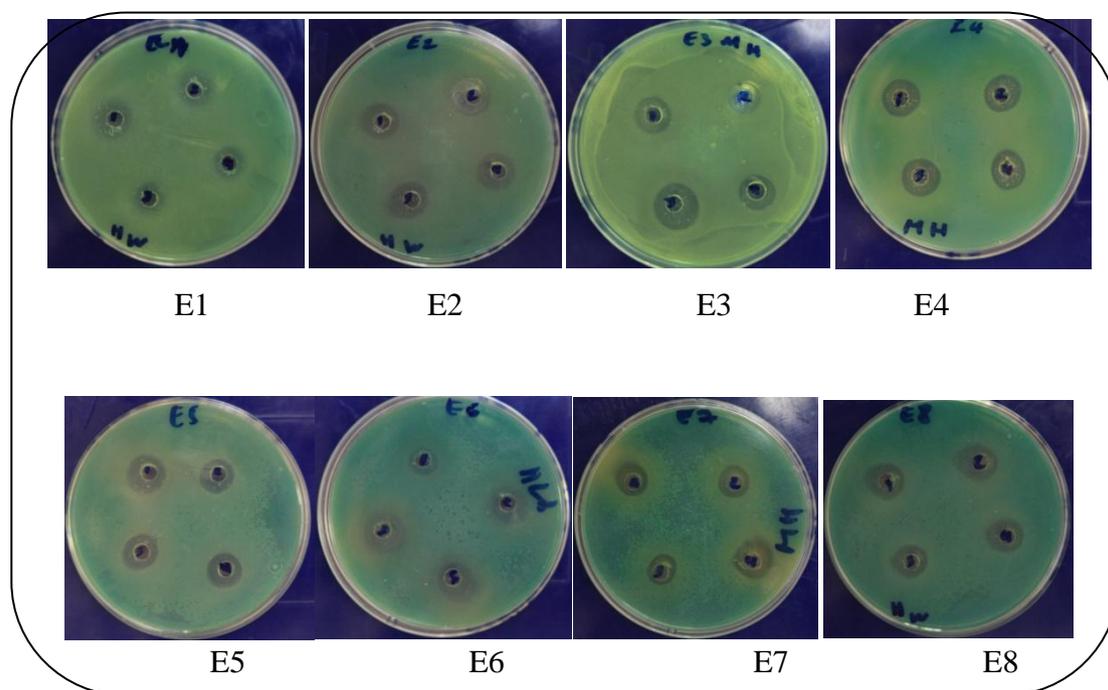
Souches		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Echantillons				
E1	A	Très fortement Inhibitrice	Non inhibitrice	Non inhibitrice
	B			
	C			
	D			
E2	A	Très fortement Inhibitrice	Non inhibitrice	Légèrement inhibitrice
	B			
	C			
	D			
E3	A	Très fortement Inhibitrice	Non inhibitrice	Légèrement inhibitrice
	B			
	C			
	D			
E4	A	Très fortement Inhibitrice	Fortement inhibitrice	Légèrement inhibitrice
	B		Modérément inhibitrice	
	C		Modérément inhibitrice	
	D		Légèrement inhibitrice	
E5	A	Très fortement Inhibitrice	Très fortement inhibitrice	Fortement inhibitrice
	B		Fortement inhibitrice	
	C		Légèrement inhibitrice	
	D		Légèrement inhibitrice	
E6	A	Très fortement Inhibitrice	Fortement inhibitrice	Non inhibitrice
	B		Modérément inhibitrice	
	C		Légèrement inhibitrice	
	D		Non inhibitrice	
E7	A	Très fortement Inhibitrice	Très fortement inhibitrice	Non inhibitrice
	B		Modérément inhibitrice	
	C		Légèrement inhibitrice	
	D		Non inhibitrice	
E8	A	Très fortement Inhibitrice	Non inhibitrice	Non inhibitrice
	B			
	C			
	D			

Selon ces résultats on a constaté qu'il ya une efficacité remarquable du miel sur *staphylococcus aureus* alors que *Escherichia coli* présente une sensibilité sur les

échantillons (E4, E5, E6, E7) et pour *Pseudomonas aeruginosa* est sensible à l'échantillon (E5) avec une légère sensibilité à l'échantillon (E2, E3, E4).

### 1. 3. Résultats de détermination de l'activité antibactérienne du miel par méthode des puits :

Par la méthode de diffusion en puits, une inhibition de la croissance bactérienne a été observée sur les trois souches bactériennes (Figures 16, 17, 18) avec des diamètres qui varient selon les dilutions.



**Figure n°16:** Effet de miel sur *Pseudomonas aeruginosa*

(Méthode des puits).

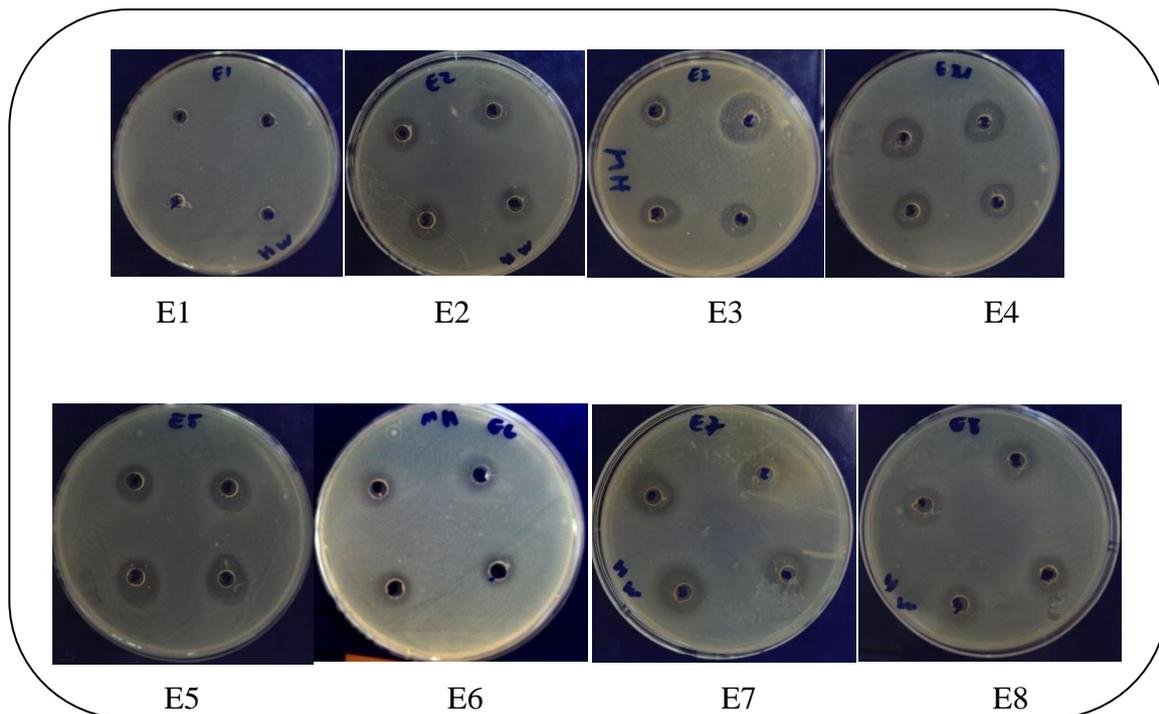


Figure n°17: Effet de miel sur *Staphylococcus aureus*

(Méthode des puits).

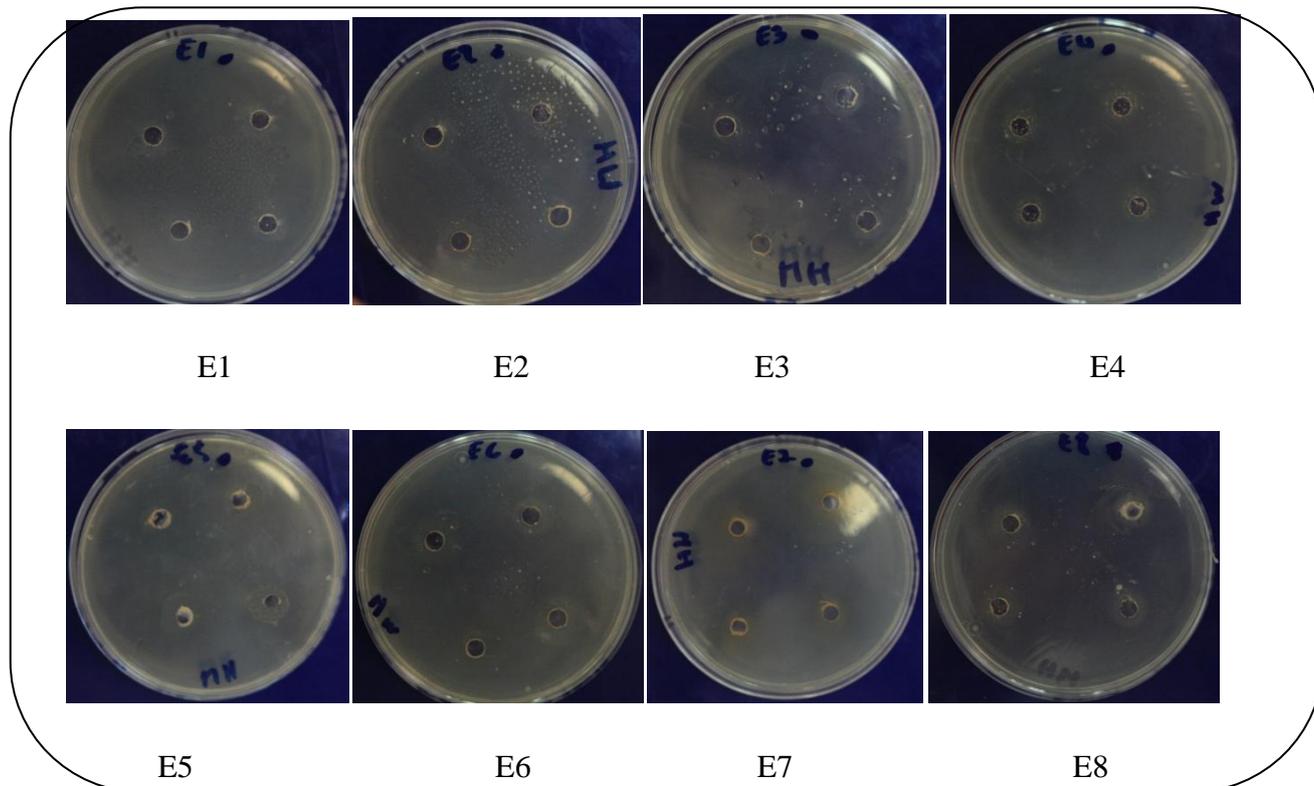


Figure n°18: Effet de miel sur *Escherichia coli*

(Méthode des puits).

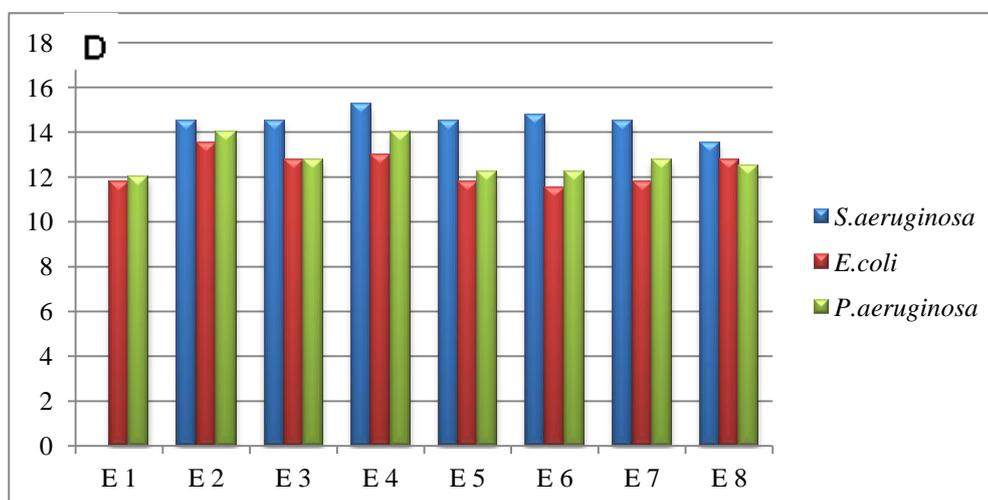
Vu la faible quantité de certains échantillons de miel on n'est pas arrivé à préparer les dilutions.

Le travail est réalisé en 4exemplaire avec la dilution 100% (miel pure).

Les moyennes des valeurs des diamètres d'inhibition du miel sur les trois espèces bactériennes sont résumées dans le (Tableau 12).

**Tableau n°12** : valeurs des diamètres d'inhibition du miel vis-à-vis les trois souches (méthode de diffusion en puits).

Souches Echantillons	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia Coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
E1	00,00	11,75	12,00
E2	14,50	13,50	14,00
E3	14,50	12,75	12,75
E4	15,25	13,00	14,00
E5	14,50	11,75	12,25
E6	14,75	11,50	12,25
E7	14,50	11,75	12,75
E8	13,50	12,75	13,50



**Figure n°19** : histogramme représentatif des diamètres des zones d'inhibitions des huit échantillons sur les trois espèces bactériennes (méthode des puits).

Selon ces résultats, les zones d'inhibitions sont remarquable sur toutes les espèces bactériennes sur tous les échantillons avec des faibles diamètres contre *Escherichia coli* en

comparent avec les diamètres des zones d'inhibition de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les zones d'inhibition les plus importantes sont observées contre *Staphylococcus aureus* avec des diamètres des zones d'inhibitions qui varient entre 13,50- 15,25 mm, à l'exception de l'échantillon N°1 sur *Staphylococcus aureus*.

#### 1.4. Résultats de la détermination de la concentration minimale inhibitrice de la croissance bactérienne :

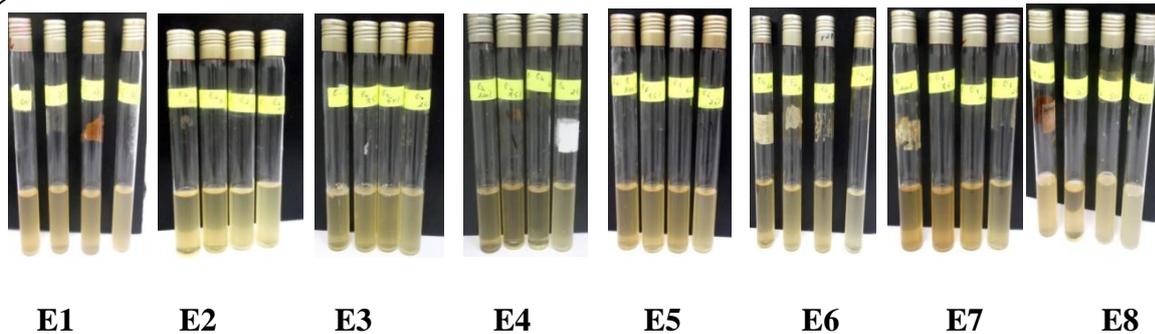
la détermination de la DO est effectuée au spectrophotomètre sous une longueur d'onde de 600nm après l'élimination de l'absorbance des autres composants par un blanc préparé de 5ml de BN, 500µl eau physiologique et 1ml de chaque dilution (chaque dilution a son blanc).

Selon (GUERZOU *et al.*, 2002) Les résultats de chaque espèce bactérienne sont comparés avec un témoin qui porte l'espèce bactérienne ensemencée sur un milieu liquide BN. Le nombre de bactérie est déterminé par une règle de trois à partir de la densité optique mesurée au spectrophotomètre.

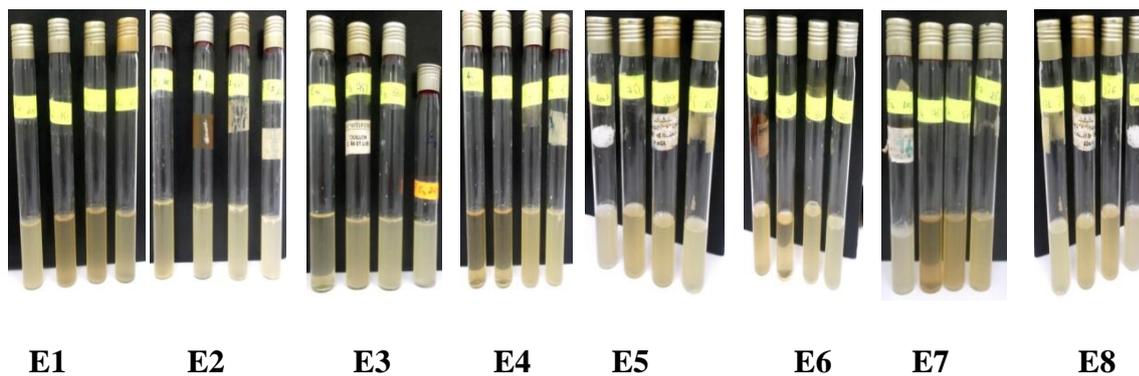
$$\begin{array}{l}
 \text{DO : } 0,6 \longrightarrow 2,5 \cdot 10^8 \text{ b/ml} \\
 \text{DO E1(A)} \longrightarrow X
 \end{array}
 \left. \vphantom{\begin{array}{l} \text{DO : } 0,6 \\ \text{DO E1(A)} \end{array}} \right\} \longrightarrow X = \frac{\text{DO E1 (A)} \times 2,5 \cdot 10^8}{0,6}$$

La même règle de calcul est utilisée pour tous les échantillons et les différentes dilutions

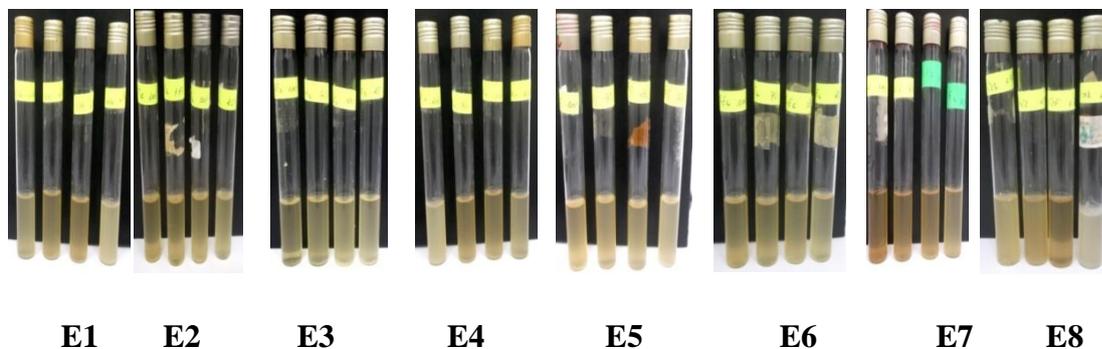
Les valeurs de la DO et du nombre de bactéries sont présentées dans le **tableau 13**.



Résultats de CMI sur *Escherichia coli*



Résultats de CMI sur *Pseudomonas aeruginosa*



Résultats de CMI sur *Staphylococcus aureus*

Figure n°20 : résultats des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur les trois espèces bactériennes étudiées.

**Tableau n°13:** les concentrations minimales inhibitrices de huit échantillons vis-à-vis des trois espèces bactériennes.

Souches Echantillons		<i>Staphylococcus aureus</i>		<i>Escherichia coli</i>		<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
		DO	Nombre de b/ml	DO	Nombre de b/ml	DO	Nombre de b/ml
<b>E1</b>	<b>A</b>	0,21	0,87	0,51	2,12	0,45	1,87
	<b>B</b>	0,34	1,41	0,72	3,00	0,59	2,45
	<b>C</b>	0,62	2,58	0,94	3,91	0,78	3,25
	<b>D</b>	0,85	3,54	1,26	5,25	0,97	4,04
<b>E2</b>	<b>A</b>	0,13	0,54	1,29	5,37	0,50	2,08
	<b>B</b>	0,28	1,16	0,26	1,08	1,16	4,66
	<b>C</b>	0,57	2,37	0,48	2,00	1,12	4,83
	<b>D</b>	1,02	4,25	0,70	2,91	1,43	5,95
<b>E3</b>	<b>A</b>	0,04	0,16	0,17	0,70	0,11	0,45
	<b>B</b>	0,38	1,58	0,49	2,04	1,42	5,25
	<b>C</b>	0,66	2,75	0,64	2,66	1,26	5,91
	<b>D</b>	0,97	4,04	0,98	4,08	1,48	6,16
<b>E4</b>	<b>A</b>	1,11	4,62	1,41	5,87	0,34	1,41
	<b>B</b>	0,64	2,66	0,03	0,12	0,26	1,08
	<b>C</b>	0,76	3,16	0,01	0,04	1,38	5,75
	<b>D</b>	1,13	4,70	0,80	3,33	1,43	5,95
<b>E5</b>	<b>A</b>	0,61	2,54	0,21	0,87	1,43	5,95
	<b>B</b>	0,54	2,25	0,33	1,37	1,04	4,33
	<b>C</b>	0,68	2,83	0,47	1,95	1,22	5,08
	<b>D</b>	1,10	4,58	0,99	4,12	1,40	5,83
<b>E6</b>	<b>A</b>	0,35	1,45	0,24	1,00	0,83	3,45
	<b>B</b>	0,50	2,08	0,40	1,66	0,05	0,20
	<b>C</b>	0,63	2,62	0,53	2,20	1,10	4,58
	<b>D</b>	0,84	3,50	0,64	2,66	1,35	5,62
<b>E7</b>	<b>A</b>	0,20	0,83	0,20	0,83	1,48	6,16
	<b>B</b>	0,40	1,66	0,42	1,75	1,15	4,79
	<b>C</b>	0,77	1,15	0,45	1,87	1,25	5,20
	<b>D</b>	0,90	3,75	0,64	2,66	1,29	5,37
<b>E8</b>	<b>A</b>	0,38	1,58	0,19	0,79	0,68	2,83
	<b>B</b>	0,65	2,70	0,31	1,29	0,97	4,04
	<b>C</b>	0,80	3,33	0,54	2,25	1,09	4,54
	<b>D</b>	0,92	3,83	0,76	3,16	1,17	4,87
<b>Témoin</b>		<b>1,19</b>	<b>4,95</b>	<b>1,44</b>	<b>6,00</b>	<b>1,49</b>	<b>6,20</b>

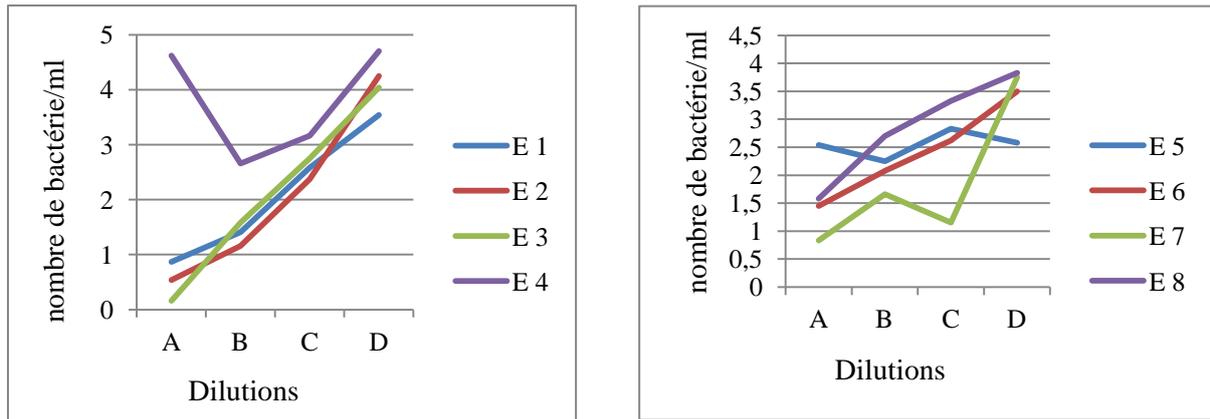


Figure n°21 : Graphes représentatifs des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur *Staphylococcus aureus*.

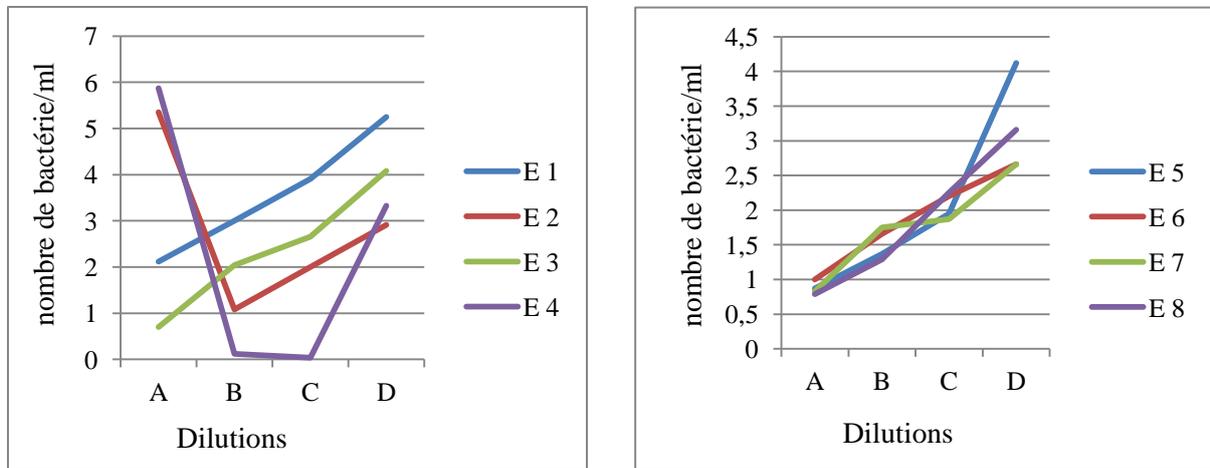


Figure n°22 : Graphes représentatifs des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur *Escherichia coli*.

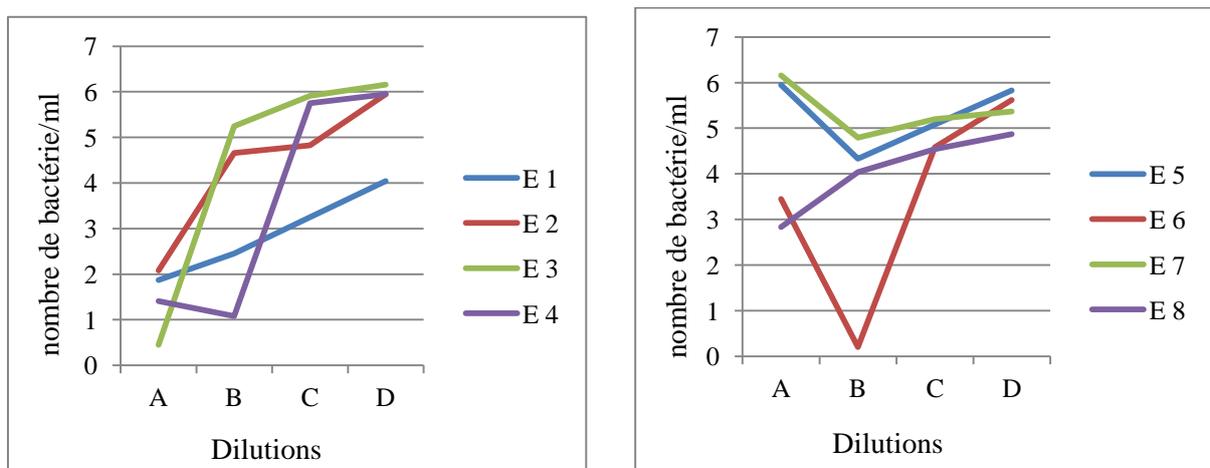


Figure n°23 : Graphes représentatifs des concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Selon les graphes (**Figure 21**) qui présente les concentrations minimales inhibitrices des huit échantillons sur *Staphylococcus aureus*, le nombre de bactérie dans les échantillons **1, 2, 3, 6** et **8** augmente avec les dilutions alors dans les échantillons **4, 5, 7** le nombre de bactérie diminue dans la dilution B et augmente dans les autres dilutions **A, C** et **D**.

Sur *Escherichia coli* et selon les graphes (**Figure 22**) de la concentration minimale inhibitrice, le nombre de bactérie augmente avec les dilutions dans l'échantillon **1, 3, 5, 6, 7** et **8** alors que dans les échantillons **2** et **4** le nombre de bactérie diminue dans la dilution **B** et augmente avec la dilution **A** et **C**.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* et selon les graphes de la concentration minimale inhibitrice (**figure 23**) le nombre de bactérie augmente avec les dilutions dans l'échantillon **1, 2** et **3** et dans les autres échantillons le nombre de bactérie diminue dans la dilution **B**.

## **Conclusion :**

L'étude bibliographique a montré que le miel a été reconnu de puis longtemps, dans le Coran et Sounna et en médecine traditionnelle dans le traitement de physiopathologie telles que les diarrhées et les inflammations.

L'effet inhibiteur du miel a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre, ou l'activité inhibitrice est plus importante avec les échantillons non dilués, elle diminue successivement (100%, 75%, 50%, 25%) et d'une souche à une autre.

Ces résultats montrent clairement que le miel est doté d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif ou il présente un fort pouvoir sur *Staphylococcus aureus* et moyennement sur *Pseudomona aeruginosa* et un pouvoir faible sur *Escherichia coli*.

La valeur médicinale du miel comme antibiotique naturel ainsi de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

## Références bibliographique

- (1) **BESSES A. (2008).** "Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le sud Algérien". Mémoire d'ingénieur. Université Djilali Liabes, Sidi Bel Abbès.
  - (2) **BIRI. M. (1999).** *Le grand livre des abeilles, L'apiculture moderne*, Paris Edition DEVECCHI. p 75.
  - (3) **BOGDANOV S. et BLUMER. (2001):** *Propriétés antibiotiques naturelles du miel : centre suisse de recherche apicoles*. Station fédérale de recherches laitières, Liebefeld. CH-3003 Berne.
  - (4) **CHEFROUR A. (2008).** "Miels algériens : caractérisation physicochimique et melissopalynologique. (Cas des miels de l'est de l'Algérie) ". Mémoire de doctorat. Université Badji Mokhra, Annaba.
  - (5) **Codex Stan 12. (1981).** Codex norme pour le miel.
  - (6) **DONADIEU Y. (1978):** *Le miel thérapeutique*. 2<sup>ème</sup> Ed Maloine S.A .Paris. p 28.
  - (7) **HUCHET E. COUSTEL J et GUINOT L. (1996):** " *Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique*". Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France. p 16.
  - (8) **GONNET M. (1982) :** *Le miel ; composition, propriétés, conservation*. INRA station expérimentale d'apiculture. p1, 18.
  - (9) **GUERZOU M. et NADJI N. (2002).** " *Etude comparative entre quelques miels locaux et autres importés*". Thèse d'ingénieur, université Ziane Achour de Djelfa p 6, 19.
  - (10) **JEAN-MARIE P. (1999).** *Le guide de l'apiculture*. Troisième édition révisée. p 213, 288.
  - (11) **LOUVEAUX J. (1968):** *Composition, propriété et technologie du miel. Les produits de la ruche*. Tome 03. Ed Masson et Cie. p 389.
  - (12) **LOUVEAUX J. (1985).** *Les abeilles et leur élevage*. Edition Opida. p 165,181.
  - (13) **MASMOUDI M., ABADNA M et SALHI A. (2012)** " *Activité antibactérienne et antioxydant des huiles essentielles extraits de *Saturaja calamintha L**". Thèse de Master, Université 8mai 1945, Guelma.
  - (14) **MOKEDDEM T. (1998) :** " *Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel d'oranger, région de Mitidja*". Thèse d'Ingénieur en agronomie. Université des sciences et de la technologie de Blida.
  - (15) **MOSTEFA M., BENSACI BACHAGHA M. et BOUDERHEM A. (2010).** " *Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire Algérien*". Thèse d'Ingénieur Université Kasdi Merbah, Ouargla.
  - (16) **Mutai C., Vagias C., Abatis D. et Roussis V. (2009).** Antimicrobial activity of Acacia mellidera extract and triterpens., J. Ethnopharmacol .
  - (17) **PROST P. (1987).** *Connaître l'abeille, conduire le rucher*. Paris Edition J.P.Baillière p 46, 356.
-

(18) **Rezzag Mohcen O. (2010).** "*Extraction de certains composés du miel naturel ayant effet antimicrobien*". Thèse d'Ingéniorat, université KasdiI Merbah , Ouargla, p 7, 25.

**Webographie:**

(19) [http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas\\_aeruginosa](http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa)

(20) [http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose\\_nutritive](http://fr.wikipedia.org/wiki/G%C3%A9lose_nutritive) 11

(21) <http://lycee-valin.fr/bgb/ftech/M7K.pdf>

(22) <http://lycee-valin.fr/bgb/ftech/N1K.pdf> 12

(23) <http://miel-et-propolis.e-monsite.com> 7

(24) <http://scd.unilim.fr/theses/jVOktPFG.pdf> pour introduction

(25) [http://www.jardinature.net/abeilles\\_part2.htm](http://www.jardinature.net/abeilles_part2.htm)

(26) [http:// www.planeteabeille.com](http://www.planeteabeille.com).

---

## Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antibactérien des huit échantillons de miel naturel récoltés de différents sites de la région de la wilaya de Guelma. Les huit échantillons sont testés sur trois souches bactériennes à caractère pathogène.

Nous avons choisi pour cette étude deux catégories de germes, selon leur degré de sensibilité aux antibiotiques, à savoir : des souches très sensibles, moyennement sensibles et des souches résistantes.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antibactérienne par deux techniques : diffusion sur milieu gélosé et diffusion en puits.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne. Cet effet inhibiteur a été constaté pour les huit échantillons testé avec des différences d'un échantillon à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre.

Nous avons constaté que les huit échantillons de miel naturel ont montré un effet antibactérien vis-à-vis à la souche bactérienne Gram positif (*Staphylococcus aureus*) alors que seulement **E4, E5, E6, E7** présentent un effet antibactérien sur les souches Gram négatif (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*).

**Mots-clés** : miel naturel, bactérie à Gram (+), bactérie à Gram (-), effet antibactérien.

## **Summary :**

This work is a contribution to the evaluation of the antibacterial effect of eight natural honey samples collected from different sites in the region of Guelma.

The eight samples are tested on three bacterial strains pathogenic.

We have chosen for this study two types of germs, according to their sensitivity to antibiotics, namely: highly sensitive strains, moderately sensitive and resistant strains.

Our work is based on the evaluation of antibacterial activity by two techniques: diffusion on agar milieu and diffusion in wells.

The results clearly show the impact of natural honey on the bacterial sensitivity. This inhibitory effect was found for the eight tested samples with differences from one sample to another and from one bacterial strain to another.

We found that the eight samples of natural honey showed antibacterial effect towards the Gram-positive bacteria strain (*Staphylococcus aureus*) while only **E4, E5, E6, E7** that have an antibacterial effect on Gram negative strains (*Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*).

## الملخص

يتناول هذا العمل تأثير العسل المضاد للبكتيريا و ذلك لثمانية عينات من العسل الطبيعي تم جمعها من مناطق مختلفة من ولاية قالمة .

العينات الثمانية تم اختبارها على ثلاث سلالات بكتيرية . و قد تم اختيار البكتيريا على أساس درجة حساسيتها للمضادات الحيوية : سلالة جد حساسة , سلالة نوعا ما حساسة و سلالة مقاومة .

الطريقة المستخدمة في الدراسة مبنية على تقنيتين تقنية الانتشار في الأجار و الانتشار في الثقوب .

بينت النتائج بوضوح اثر العسل الطبيعي على حساسية البكتيريا , مع وجود بعض التفاوت من عينة إلى أخرى و من سلالة بكتيرية إلى أخرى .

لقد تبين من هذه الدراسة إن العينات الثمانية من العسل الطبيعي لها تأثير على السلالة البكتيرية ( غرام موجب )

في حين العينات 4ع , 5ع , 6ع , 7ع بينوا تأثير غلى السلالتين البكتيريتين ذو الغرام السالب .

الكلمات الدالة : عسل طبيعي , غرام موجب (+) , غرام سالب (-) , تأثير ضد البكتيريا .

## Annexes

**La capacité olfactive :** la capacité olfactive c'est la capacité qui permet à l'abeille de connaître sa sœur grâce à une substance dégagée par la glande de NASANOFF

### La gélose Mueller Hinton :

Pour 1 litre de milieu :

- Hydrolysât acide de caséine .....17,5 g
- Infusion de viande.....2,0 g
- Amidon soluble .....1,5 g
- Agar agar bactériologique.....17,0 g

pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C :  $7,3 \pm 0,2$

### Gélose nutritif :

Pour un litre de milieu :

- Extrait de levure.....2
- Extrait de viande.....1
- Peptone.....5
- NaCl.....5
- Agar.....15

pH final = 7,4

### Bouillon nutritif :

Pour 1 litre de milieu :

- Tryptone.....10,0 g
- Extrait de viande .....5,0 g
- Chlorure de sodium.....5,0 g

pH du milieu:  $7,2 \pm 0,2$

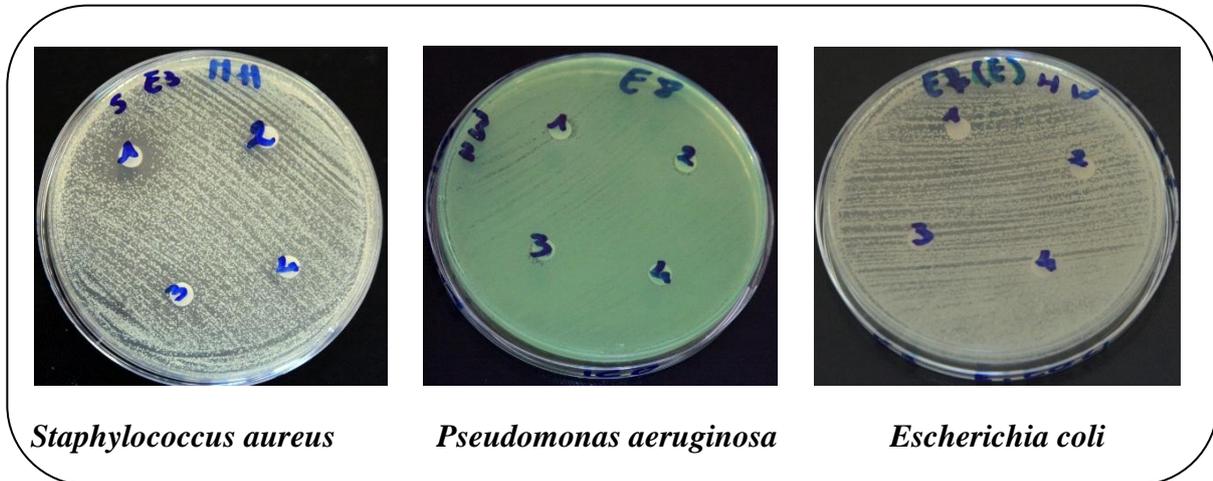
### Eau physiologique :

Pour 1 litre :

- Chlore de sodium..... 9g

### Ensemencement à l'aide d'un écouvillon :

On trempe un écouvillon stérile dans l'inoculum une fois chargé, l'écouvillon est promené délicatement sur toute la surface de la boîte du milieu gélosé (MH) solidifié en veillant ce que tous les cotés de la boule d'ouate soient mis en contact avec le milieu. On peut ainsi inoculer toute la surface de la boîte ou se contenter d'une petite zone périphérique d'où l'inoculum est ensuite répandu par striation ou en quadrant.



**Figure n°25 :** effet du miel (E3, E8, E7) sur les trois espèces bactériennes étudiées  
(Méthode de diffusion sur milieu gélosé, ensemencé par écouvillonnage).