

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire  
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
جامعة 8 ماي 1945  
Université 8 Mai 1945 Guelma  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



## Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie  
Filière : Biologie  
Spécialité/Option : Microbiologie Appliquée  
Département : Écologie et Génie de l'Environnement

Thème :

---

# Evaluation de l'activité antibactérienne de sept échantillons de miel issus de la région de Guelma et Tipaza

---

Présenté par :

KRICHEN Sarra  
GUETATLIA Imane

Devant le jury composé de :

Président : BENOURETH D.E Professeur Université de Guelma  
Examineur : KHALLEF M M.C.B Université de Guelma  
Encadreur : ABDAOUI W M.A.A Université de Guelma

Juillet 2019

## ***REMERCIEMENTS***

Avant tout, Nous tenons à remercier le *Dieu* tout puissant qui nous a accordé la santé, le courage, la volonté, l'amour du savoir et surtout la patience pour mener ce travail jusqu'à son bout.

Nous tenons à remercier également notre promotrice et directrice de mémoire *M<sup>me</sup> Wissem ABDAOUI* qui a accepté de nous encadrer et de nous avoir soutenu, suivi et orienté tout au long de la réalisation de notre projet.

Que nos vifs remerciements aillent à *Mr, Djamel Eddine BENOUARETH* qui a fait l'honneur de présider ce travail.

À *M<sup>me</sup>. Messaouda KHALAF* pour avoir acceptés d'examiner cette thèse.

Un merci particulier à *Melle Fatma DJAMAA* Docteur et enseignante à l'université de Guelma pour son aide.

À la technicienne du labo *M<sup>me</sup> «Hassiba»* pour son aide et sa patience.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

***MERCI***

## Dédicaces

*Avec l'expression de ma reconnaissance, je dédie ce modeste travail à ceux qui, quels que soient les termes embrassés, je n'arriverais jamais à leur exprimer mon amour sincère.*

♥ *A mon très cher père* ♥

*Toujours tu as été à mes côtés pour me soutenir et m'encourager. Que ce travail traduit ma gratitude et mon affection.*

♥ *A ma très chère mère* ♥

*Quoi que je fasse ou que je dise, je ne saurai point te remercier comme il se doit. Ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.*

♥ *A ma chère soeur Amina et son mari Khialed et son fils Iyed qui n'ont pas cessé de me conseiller, encourager et soutenir tout au long de mes études. Que Dieu les protège et leurs offre la chance et le bonheur.* ♥

♥ *A mon cher oncle Youcef* ♥

♥ *À la personne la plus précieuse que j'ai connue Wasila et son mari* ♥

♥ *A mes chères amies Nor El Hoda, Chaima, Salema* ♥

♥ *A mes chères cousines, les voisins, les amies que j'ai connu jusqu'à maintenant Nadia, Meriem, Hiba, Fouzia, Asma, lilia, amira, Nour, Siham.*

*Merci pour leurs amours et leurs encouragements.* ♥

♥ *Sans oublier ma binôme Amouna pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce projet.* ♥

♥ *A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail* ♥

*Sarra*



## *Dédicaces*

*Avec un énorme plaisir ; un cœur ouvert et une immense joie ; je dédis  
mon travail à ;*

*♥Mes chères Parents ♥*

*♥Aucune dédicace ne serait exprimé mon respect, mon amour éternel et ma considération  
pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et bien être. ♥*

*♥Je vous remercie pour tous le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et  
j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours. ♥*

*♥Que soit modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos  
innombrables sacrifices. Puisse Dieu ; le Très Haut, vous accorder santé, bonheur, et longue  
vie. ♥*

*♥Mes chers frères ♥*

*♥Hamza, Aymen ; Adem et ma petite sœur Oumaima qui ma vie toujours soutenu et  
encouragé durant ces années d'étude. ♥*

*♥A ma binôme sarita qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de  
courage et de générosité, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de prospérité et  
beaucoup de succès. ♥*

*♥A tous ce qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail et à tous ceux et  
celles qui s'intéressent au miel, en particulier, et à la science, en général. ♥*

*Imen*

أعوذ بالله السميع العليم من الشيطان الرجيم

{ وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنْ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا  
يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ  
بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ  
يَتَفَكَّرُونَ (69) }

الآيتان 68'69 من سورة النحل

« O Prophète, ton Seigneur a inspiré aux abeilles leur mode de vie et leurs moyens de subsistance. Il leur a inspiré de prendre les cavernes des montagnes, les cavités des arbres et les treilles pour demeures (68). -Puis Allah - qu'Il soit exalté- leur a inspiré de se nourrir de tous les fruits des arbres et des plantes ; Il leur a rendu disponibles, à cette fin, des moyens que leur Seigneur leur avait préparés et rendus faciles. De leurs estomacs sort un liquide de différentes couleurs, qui apporte une guérison pour les hommes. Il y a dans cette chose merveilleuse des preuves évidentes de l'existence d'un Créateur Tout-Puissant et Sage, pour un peuple qui réfléchit pour en tirer profit et gagner ainsi un bonheur permanent (69) » (Sourate El Nahl verset 68 – 69).

## Table des matières

Liste des figures .....	I
Liste des tableaux .....	III
Liste des abréviations.....	IV
Introduction.....	1

### *Première partie : Étude bibliographique*

#### *Chapitre I : Généralités sur le miel*

1. Historique .....	3
2. Définition de miel .....	4
3. Origine et formation .....	4
3.1. Nectar .....	4
3.2. Miellat .....	4
3.3. Formation de miel .....	5
4. Composition chimique .....	5
5. Contaminants et composés toxiques potentiels .....	7
6. Types des miels .....	10
6.1. Selon l'origine florale.....	10
6.1.1. Miel monofloral.....	10
6.1.2. Miel polyfloral.....	11
6.2 Selon l'origine géographique .....	11
7. Miel Algérien .....	11

## *Chapitre II: Principaux caractéristiques du miel*

<b>1. Caractéristiques organoleptiques .....</b>	<b>12</b>
1.1. Couleur .....	12
1.2. Odeur .....	12
1.3. Texture .....	12
1.4. Cristallisation .....	12
1.5. Goût.....	13
1.6. Arômes .....	13
<b>2. Caractéristiques physicochimiques .....</b>	<b>13</b>
2.1. Poids spécifique.....	13
2.2. Densité.....	13
2.3. Viscosité.....	13
2.4. Solubilité .....	14
2.5. Hygroscopicité du miel .....	14
2.6. Humidité.....	14
2.7. Indice de réfraction.....	14
2.8. Hydroxyméthylfurfural .....	14
2.9. Conductivité électrique.....	15
2.10. Potentiel d'hydrogène .....	15
2.11. Acidité libre.....	15
2.12. Cendres.....	16
2.13. Fluorescence.....	16
<b>3. Caractéristiques nutritionnelles.....</b>	<b>16</b>
<b>4. Propriétés thérapeutiques du miel.....</b>	<b>17</b>

4.1. Propriétés bienfaisantes générale .....	17
4.2. Propriétés spécifiques à chaque miel.....	18
4.3. Mécanisme d'action contre l'infection.....	19
<b>5. Propriétés antimicrobiennes de miel .....</b>	<b>19</b>
5.1. Activité antibactérienne.....	19
5.2. Activité antifongique.....	20
5.3. Mécanismes antimicrobiens .....	21

### *Chapitre III: Souches bactériennes étudiées*

I. Bactéries à Gram négatifs .....	24
I.1. Genre <i>Escherichia</i> .....	24
I.2. Genre <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	26
II. Bactéries à gram positif .....	28
II.1. Genre <i>Staphylococcus</i> .....	28

### *Deuxième partie: partie pratique*

#### *Partie pratique : Matériels et méthodes*

<b>1. Objectif.....</b>	<b>33</b>
<b>2. Matériel .....</b>	<b>33</b>
<b>3. souches bactériennes .....</b>	<b>35</b>
<b>4.Étude de la sensibilité aux Antibiotiques .....</b>	<b>36</b>
<b>5. Méthodes d'analyses physico-chimiques .....</b>	<b>38</b>
5.1. Détermination de la conductivité électrique.....	38
5.2 .Détermination de PH .....	39



5.3. Détermination de l'acidité libre.....	39
5.4. Détermination de la teneur en eau .....	40
5.5. Teneur en cendres.....	41
<b>6. Méthodes d'analyses antibactériennes .....</b>	<b>42</b>
6.1. Méthode des puits de diffusion .....	42
6.2. Méthode de diffusion en milieu liquide .....	43

### *Troisième partie: Résultats et Discussion*

<b>1. Résultats de l'analyse des paramètres physico–chimiques du miel .....</b>	<b>44</b>
1.1. Détermination de la conductivité électrique.....	44
1.2. Détermination de PH .....	45
1.3. Détermination de l'acidité libre.....	46
1.4. Détermination de la teneur en eau .....	47
1.5. Teneur en cendres.....	48
<b>2. Etude bactériologique des échantillons du miel .....</b>	<b>50</b>
<b>2.1. Identification des souches bactériennes.....</b>	<b>50</b>
2.1.1. Aspect macroscopique des colonies .....	50
2.1.2. Examen microscopique .....	50
2.1.3. Résultats de l'identification biochimique.....	52
<b>2.2. Résultat de l'antibiogramme .....</b>	<b>53</b>
<b>3. Activité antibactérienne des échantillons du miel .....</b>	<b>58</b>
3.1. Méthode de diffusion en puits .....	58
3.2. Méthode de diffusion en milieu liquide .....	63

**Conclusion .....68**

**Références bibliographiques**

**Résumé**

**Annexe**

## Liste des figures

Figure	Titre	Page
<b>Figure 1</b>	<i>Escherichia coli</i> observée au microscope électronique (Gx10000).	25
<b>Figure 2</b>	<i>Staphylococcus aureus</i> .	30
<b>Figure 3</b>	Paroi cellulaire des bactéries à Gram positif.	31
<b>Figure 4</b>	Schéma des échantillons du miel.	34
<b>Figure 5</b>	Ensemencement sur milieu Muller Hinton.	36
<b>Figure 6</b>	Application des disques d'antibiotiques.	37
<b>Figure 7</b>	Conductimètre de type HI 9033.	38
<b>Figure 8</b>	pH mètre de type AD1030.	39
<b>Figure 9</b>	Le réfractomètre de type Bellingham et Stanley.	40
<b>Figure 10</b>	Four a moufle de type NABERTHARM.	41
<b>Figure 11</b>	Conductivité électrique de chaque variété étudiée du miel.	45
<b>Figure 12</b>	pH de chaque type du miel.	46
<b>Figure 13</b>	L'acidité libre de chaque type du miel.	47
<b>Figure 14</b>	Résultats de la teneur en eau de chaque type du miel.	48
<b>Figure 15</b>	Teneur en cendres de chaque type du miel.	49
<b>Figure 16</b>	Observation microscopique après coloration de Gram des souches bactériennes étudiées (x 100).	52
<b>Figure 17</b>	Résultat de la recherche des enzymes respiratoires.	52
<b>Figure 18</b>	Profil biochimique de la souche <i>d'Escherichia coli</i> .	53
<b>Figure 19</b>	Profil biochimique de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	53
<b>Figure 20</b>	Profil biochimique de <i>Staphylococcus aureus</i> .	53
<b>Figure 21</b>	Résultat de l'antibiogramme sur les trois souches bactériennes étudiées.	54
<b>Figure 22</b>	Taux de résistance <i>d'Escherichia coli</i> .	55
<b>Figure 23</b>	Taux de résistance <i>Staphylococcus aureus</i> .	56
<b>Figure 24</b>	Taux de résistance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	57
<b>Figure 25</b>	Effet antibactérien du miel sur <i>E. coli</i> en milieu solide.	58
<b>Figure 26</b>	Effet inhibiteur de quelque échantillon du miel sur <i>Escherichia coli</i> en milieu solide.	59
<b>Figure 27</b>	Effet antibactérien du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> en milieu solide.	60

<b>Figure 28</b>	Effet inhibiteur de quelque échantillon du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> en milieu solide.	61
<b>Figure 29</b>	Effet antibactérien du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en milieu solide.	62
<b>Figure 30</b>	Effet inhibiteur de quelque échantillon du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en milieu solide.	63

## Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
<b>Tableau 1</b>	Principaux composants du miel en pourcentage.	6
<b>Tableau 2</b>	Micro-organismes répertoriés dans le miel.	7
<b>Tableau 3</b>	Métaux lourds dans le miel.	8
<b>Tableau 4</b>	Propriétés spécifiques à chaque miel.	18
<b>Tableau 5</b>	Comportement de <i>Escherichia coli</i> vis-à-vis les antibiotiques.	26
<b>Tableau 6</b>	Caractères principaux des <i>Pseudomonas</i> .	27
<b>Tableau 7</b>	Comportement de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> vis-à-vis les antibiotiques.	28
<b>Tableau 8</b>	Vue d'ensemble des staphylocoques les plus importants et des infections occasionnés.	29
<b>Tableau 9</b>	Comportement de <i>Staphylococcus aureus</i> vis-à-vis les antibiotiques.	32
<b>Tableau 10</b>	Description des différents échantillons de miel utilisés.	33
<b>Tableau 11</b>	Appareils utilisés lors des analyses.	34
<b>Tableau 12</b>	Souches bactériennes de référence.	35
<b>Tableau 13</b>	Antibiotiques utilisés.	38
<b>Tableau 14</b>	Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des 7 échantillons du miel.	49
<b>Tableau 15</b>	Aspect macroscopique des colonies isolées.	50
<b>Tableau 16</b>	Résultats de l'état frais et la coloration de Gram et les enzymes respiratoires.	51
<b>Tableau 17</b>	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Escherichia coli</i> .	55
<b>Tableau 18</b>	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i> .	56
<b>Tableau 19</b>	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	57
<b>Tableau 20</b>	Diamètre de zone d'inhibition chez <i>Escherichia coli</i> .	59
<b>Tableau 21</b>	Diamètre de zone d'inhibition chez <i>Staphylococcus aureus</i> .	60
<b>Tableau 22</b>	Diamètre de zone d'inhibition chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	62
<b>Tableau 23</b>	Indice d'inhibition (II) chez la souche <i>Escherichia coli</i> .	64
<b>Tableau 24</b>	Indice d'inhibition (II) chez la souche <i>Staphylococcus aureus</i> .	64
<b>Tableau 25</b>	Indice d'inhibition (II) chez la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	65

## Liste des abréviations

**%** : Pourcentage.

**AFNOR**: Association française de normalisation

**AMC**: amoxicillin+clavulanic acid

**AMM** : Autorisation de mise sur le marché

**BMR** : Bactéries multi résistantes

**Bq** : becquerel

**C°** : Degré Celsius

**Cal** : calorie

**CA-SFM** : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

**CEU**: Council of-European Union

**CM**: Centimeter

**DDT**: Dichloro diphenyl trichloroéthane

**FAO**: Food and Agricultural Organisation

**Fig**: Figure

**g**: Gramme

**GN** : Gélose nutritive

**HAP** : hydrocarbures polycycliques aromatiques

**HMF** : Hydroxy-Méthyle Furfural

**I** : Intermédiaire

**IR** : Indice de réfraction

**Kcals** : kilocalories

**LMR** : Limites maximales de résidus

**MH** : Mueller Hinton

**MHB** : Muller Hinton Bouillon

**MM** : Millimètre

**MPa** : Méga pascal

**MS** : Milli Semence

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**ONTF** : Office National des Travaux Forestiers

**P** : Poids

**PCB** : polychlorobiphényles

**R** : Résistante

**S** : Sensible

**SARM** : Staphylococcus aureus résistants à la méticilline

**TNF** : Facteur de nécrose tumorale

**TSE**: Turkish Standard Institute

**UV**: Ultraviolet

**V**: volume

# *Introduction*



## Introduction

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. C'est l'un des aliments les plus complexes qui sont produit par la nature. Il a été rapporté que le miel contient jusqu'à 200 substances, il est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle (**Yaiche Achour et Khali, 2014**).

Cependant, le miel est une excellente source d'énergie, il est connu pour ses diverses propriétés thérapeutiques et sa valeur nutritionnelle. Le miel contient 75 à 80 % de sucres (**Donadiou, 1984**). Il est composé essentiellement d'une large gamme de composés mineurs tels que : les minéraux, les vitamines, les acides organiques, les protéines les flavonoïdes...etc.

En fait, la qualité du miel dépend d'une part des espèces de plantes butinées par les abeilles et d'autre part des conditions environnementales, de la méthode d'extraction du miel par l'apiculteur et en fin les conditions de stockage (**Bertoncelj et al., 2007**).

De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel depuis des millénaires par de nombreuses civilisations afin d'élucider ses propriétés nourrissantes, thérapeutiques, cicatrisantes, désinfectantes et/ou antimicrobiennes (**Lequet, 2010**). Le potentiel thérapeutique du miel, a fait l'objet durant ces dernières décennies de plusieurs recherches et publications (**Cushnie et Lamb, 2005**).

Aujourd'hui, l'effet antibiotique du miel est exploité par l'homme pour résoudre les problèmes de la surutilisation des antibiotiques, vis à vis des bactéries qui deviennent progressivement résistantes (**White et Subers, 1963**) ; (**Dustmann, 1975**) ; (**Morse, 1986**).

Le présent travail a été consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne de sept échantillons de miel de la wilaya de Tipaza et Guelma dont l'objectif de tester leur efficacité vis-à-vis les trois souches bactériennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Ce travail comprend sur trois axes de recherche principaux :

- ✓ Une analyse physicochimique du miel qui concerne la conductivité électrique, la teneur en eau, le pH, de l'acidité libre et de la teneur en cendres.
- ✓ L'identification microscopique des trois souches bactériennes de référence avec un profil d'antibiogramme.

✓ L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents échantillons du miel par deux méthodes différentes :

- ❖ La méthode de diffusion des puits en milieu solide.
- ❖ La méthode de dilution en milieu liquide.

Enfin, une conclusion générale résumera les différents résultats obtenus et leurs interprétations.



Première partie  
Étude bibliographique

*Chapitre I:*  
*Généralités sur le miel*

## 1. Historique

À travers les siècles, les traditions populaires ont su développer la connaissance et l'utilisation des plantes aromatiques et médicinales. Baron-Chauffaille signale que ces plantes sont souvent associées au miel, substance naturelle sucrée produite par les abeilles (**Mekiou et al., 2016**).

Le miel constitue un aliment « premier », comme le lait maternel. Les anciens pensaient que cette nourriture, directement assimilable, venait du ciel. Pline écrit : « Le miel tombe des airs. Il est la sueur du ciel, sorte de salive des astres, ou suc des airs qui se purifient » (**Derat Carrière et Pochon, 2009**).

Les anthropologues nous ont appris qu'à ses débuts, l'humanité se nourrissait de miel autant que de végétaux ramassés ou cueillis, de denrées animales chassées et autres produits issus des milieux aquatiques. Le miel qui se trouvait dans les troncs creux des vieux arbres fut certainement l'une des premières richesses naturelles pour l'homme. Les chasseurs cueilleurs étaient aussi des dénicheurs qui, pour se nourrir, devaient être capables d'extraire les fruits contenus dans des coquilles dures, mais aussi les insectes ou les bulbes enfouis dans le sol, ou encore le miel dans les ruches nichées au sommet des arbres (**Derat-Carrière et Pochon, 2009**).

Le miel qui compte parmi les aliments les plus anciens dans l'historique de l'humanité était utilisé par les Egyptiens, 1500 ans avant notre ère provoque actuellement un regain d'intérêt en raison de l'orientation d'une partie des consommateurs vers les produits exclusivement naturels (**Louveaux, 1961**).

Enfin, les Livres Saints comme la Bible et le Coran ne manquent pas de louer les vertus du miel. Il est le symbole de la prospérité et de l'abondance lorsqu'il est question de la Terre Promise, pays ruisselant de lait et de miel. Aujourd'hui, le miel est un aliment qui est aussi apprécié qu'autrefois (**Huchet et al., 1996**).

## 2. Définition de miel

Parmi les nombreuses définitions du miel qui ont été formulées, nous en retiendrons deux : La première étant la plus simple est formulée comme suit :

« Le miel est la matière sucrée recueillie par l'abeille sur les plantes vivantes et qu'en modifiant l'emmagasine dans ses rayons de cire » (**Donadiou, 1978**).

La seconde, du fait de son actualité correspond à celle du législateur :

**Le Codex Alimentarius, (2001)** : « Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar des plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou encore à partir d'excrétions d'insectes suceurs de sève laissées sur les parties vivantes des plantes, que les abeilles utinent, 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 ».

## 3. Origine et formation

Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles. Et cela à partir du nectar recueilli dans la fleur, ou du miellat recueilli sur les plantes, selon qu'il vient du nectar ou du miellat, il existe une origine directe et indirecte (**Prost, 2005**). Deux origines distinctes sont à considérer :

### 3.1. Nectar (direct)

Les nectars sont les sources les plus " naturelles " puisqu'elles résultent de l'étroite coévolution des angiospermes avec les insectes butineurs. Le nectar est un liquide sucré, sécrété par les nectaires ou glandes nectarifères de certains végétaux, que les abeilles récoltent pour en faire du miel (**Marcel et al., 2002**).

D'après **Alphandéry, (1992)**, le nectar est une substance douce et parfumée. Il peut contenir jusqu'à 80% d'eau, 7 à 60%" sucre, des traces d'acides aminés, d'hormones végétales, de vitamines.

Les trois sucres principaux contenus dans le nectar sont le fructose, le glucose et le saccharose ; les sucres mineurs sont le maltose, mélézitose ...etc. Les abeilles ne récoltent pas le nectar s'il contient moins de 14% de sucres (**Philippe, 1991**).

### 3.2. Miellat

« Exsudation provenant de certains végétaux et se trouvant naturellement sur eux ou provenant des incisions faites dans les tissus végétaux par certaines insectes ou bien encore

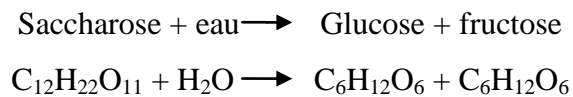
des excréments d'autres insectes généralement les pucerons qui piquent le végétal, se nourrissent de sa sève et rejettent l'excédent de matière sucrée sous forme de gouttelettes que les abeilles et bien d'autres insectes d'ailleurs (fourmis, guêpes, mouches diverses) récupèrent sur les feuilles des plantes qui hébergent les pucerons (souvent des arbres tels que les sapins, les épicéas, les chênes, les tilleuls, ... etc). Mais aussi des plantes herbacées comme les blés par exemple) » (**Chettoum, 2006**).

D'après **Loiriche, (1984)**, le miellat est un produit plus complexe que le nectar d'aspect plus ou moins visqueux, d'une couleur sombre, souvent d'un goût désagréable et d'un faible parfum, sa saveur est douceâtre.

### 3.3. Formation du miel

Selon **Gonnet (1982)**, le miel est produit par les abeilles selon le processus suivant : Le nectar est prélevé par les abeilles butineuses, qu'elles emmagasinent dans leur jabot avec la salive. Sous l'action de l'invertase, le saccharose se transforme en glucose puis en fructose, maltose et autres sucres (**Marchenay, 1988**).

Selon l'équation simplifiée représentée ci-dessous :



La transformation du nectar en miel, se poursuit jusqu'à ce que la teneur en eau s'abaisse (17% à 20%) et que les sucs gastriques et les substances salivaires des abeilles finissent la métamorphose: le miel est alors déposé dans les alvéoles, où la maturation va se poursuivre pendant encore quelques jours (**Sylvie, 2005**).

### 4. Composition chimique

Le miel est une substance complexe dont la composition varie d'un échantillon à l'autre en fonction de nombreux facteurs tels que:

- Condition météorologique.
- L'origine florale.
- Nature du sol (**Makhloufi, 2010**).

**Tableau N°1: Principaux composants du miel en pourcentage (Makhloufi, 2011).**

	<b>Composants</b>	<b>Pourcentages (%)</b>
<b>Eau</b>	/	17,2
<b>Sucres</b>	Lévulose (D-Fructose)	38,19
	Dextrose (D-Glucose)	31,28
	Saccharose (D-Saccharose)	01,31
	Maltose et autre disaccharides réducteurs	07,31
	Sucresupérieure	01,5
	Sucretotaux	79,59
<b>Acides</b>	Gluconique, Citrique, Malique, Succinique, Formique.	0,57
<b>Protéines</b>	Acides aminés: acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine, et lysine.	0,26
<b>Cendres</b>	Minéraux: potassium, sodium, magnésium, calcium,	0,17
<b>Composant Mineures</b>	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcools de sucre, des tannins, des enzymes et des diastases dont l'amylase, la peroxydase, l'hydrogénase, la phosphatase, et les invertases.  Des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, la vitamine K, l'acide folique, la biotine.	2 ,21



## 5. Contaminants et composés toxiques potentiels

Plus étonnant, un certain nombre de microorganismes ont été répartis dans le miel. Cette présence due à une contamination via les pollens, l'air, les fleurs, le contenu digestif des abeilles, la poussière...on va donc trouver dans les ruches, sur les abeilles adultes, des bactéries et des levures qui se trouvent ensuite dans le miel comme le montre le tableau suivant. En effet, les intestins des abeilles contiennent 1% de levures, 27% de bactéries Gram+ et 70% de bactéries diverses dont les Gram négative. L'autre source de contamination du miel est constituée par l'homme, les équipements, les récipients, l'atmosphère lors de la récolte et du conditionnement (Delphine, 2010).

**Tableau N°2 : Micro-organismes répertoriés dans le miel (Olaitan et al., 2007) ; (Sib, 2007).**

Bactéries	Levures	Champignons
<i>Alcaligenes</i>	<i>Ascophaera</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Debaromyces</i>	<i>Alihia</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Bettsia alvei</i>
<i>Bacteridium</i>	<i>Lipomyces</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Nematospora</i>	<i>Chaetomium</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Oosporidium</i>	<i>Coniothecium</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Pichia</i>	<i>Hormiscium</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Peronsporaceae</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Scizosaccharomyces</i>	<i>Peyronelia</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Trichosporium</i>	<i>Tripoosporium</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Torula</i>	<i>Uredianaceae</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Torulopsis</i>	<i>Ustilaginaceae</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Zygasaccharomyces</i>	

<i>Neisseria</i>		
<i>Pseudomonas</i>		
<i>Xanthomonas</i>		

### 5.1.Métaux lourds

Le miel doit être exempté de métaux lourds à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine, les produits visés par les dispositions de la présente norme doivent être conformes aux limites maximales fixées pour les métaux lourds par la Commission du Codex Alimentaire (**Amri, 2016**).

Dans des zones fortement polluées par les métaux lourds, telles que les zones industrielles, les grandes zones urbaines ou les zones à proximité d'usines d'incinération et le long des routes à grand trafic, la contamination du miel de miellat peut être très élevée. Comme le montre (**Tableau 3**) (**Stefan et al., 2003**).

**Tableau N°3 : Métaux lourds dans le miel (Stefan et al., 2003).**

	<b>Plomb (mg/kg)</b>	<b>Cadmium (mg/kg)</b>
<b>21 miels de miellat</b>	0.2	0.02
<b>moyenne</b>	0.02-0.52	0.004-0.06
<b>min-max</b>		
<b>18 miels de fleur</b>	0.1	0.005
<b>moyenne</b>	0.02-0.37	0.002-0.02
<b>min-max</b>		
Valeur maximale proposées par l'UE		
	Plomb : 1 (mg/kg)	Cadmium: 0.1 (mg/kg)

## 5.2. Résidus de pesticides

Une analyse des différentes publications présentant les résidus de pesticides dans les miels, c'est le seul produit apicole pour lequel les limites maximales de résidus (LMR) ont été fixées. C'est le cas pour 12 : lindane, malation, acrinathrin, DDT (**Etienne, 2012**).

Les insecticides de la famille des *néonicotinoïdes* (*imidaclopride*, *clothianidine*, *acétamipride*, *thiaclopride* et *thiaméthoxam*) sont également recherchés dans le miel, molécules solubles dans l'eau et susceptibles de se retrouver dans le miel.

Ce sont des insecticides utilisés en agriculture soit pour l'enrobage des semences, soit par pulvérisation foliaire sur les cultures (**Anne et al., 2015**).

## 5.3. Médicaments

Les colonies d'abeilles sont traitées régulièrement contre le parasite *Varroa jacobsoni* occasionnellement contre les loques, la nosérose, l'acariose. Ces traitements sont donc effectués en dehors des miellées (**Fléché, 1997**).

L'Apivar® (à base d'amitrazé) et l'Apistan® (à base de tau-fluvalinate) sont les principaux médicaments vétérinaires utilisés, possédant une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour le traitement des colonies d'abeilles (**Anne et al., 2015**).

Par ailleurs, il est possible de retrouver des résidus d'antibiotiques utilisés dans le traitement curatif ou préventif des colonies d'abeilles (**Koechler, 2015**).

Sept classes d'antibiotiques ont été identifiées dans des miels : les sulfonamides, les amino glycosides, les tétracyclines, les amphénicols, les macrolides, les beta-lactamines et les métabolites du nitrofurane (**Lequet, 2010**).

A titre indicatif, 20 à 50% des miels contiennent des antibiotiques, principalement de la streptomycine et des sulfamides, mais aussi des tétracyclines et du chloramphénicol (**Bogdanov, 2006**).

## 5.4. Produits de combustion

Les PCB (polychlorinated biphenyls) et les HAP (hydrocarbures polycycliques aromatiques) sont habituellement présents dans l'environnement, principalement à proximité des centres urbains et/ou en présence de produits pétrochimiques.

Même si les HAP peuvent passer du sol à la plante et se retrouver dans le nectar et le pollen, les retombées atmosphériques sont cependant plus importantes. De ce fait, ils touchent

plus les produits plus exposés comme le pollen et surtout la propolis ou le miellat (**Etienne, 2012**).

### **5.5. Risque de radioactivité**

Les radioéléments ne constituent généralement pas un problème pour les produits de la ruche. Cependant, un contrôle s'impose en cas d'accident nucléaire comme celui de Fukushima. On retrouvait en décembre 2011 des doses de 253 000 Bq/kg dans des pollens prélevés à Namie-machi (à 250 km). Quatre années seront au moins nécessaires avant de pouvoir en consommer.

Après l'explosion de la centrale de Tchernobyl en 1986, une dose moyenne de 4430 Bq/kg de Césium-137 radioactif a été retrouvée dans les miels récoltés en Ukraine entre 1986 et 1989 (**Etienne, 2012**).

### **5.6. Organismes génétiquement modifiés**

Les OGM s'expriment à travers du pollen des plantes transgéniques. Pour être commercialisé, un pollen transgénique doit disposer d'un agrément permettant sa consommation. Aucun pollen non agréé et aucun produit qui en contient (produits de la ruche et leurs dérivés) ne peut être commercialisé en vue de sa consommation (**Etienne, 2012**).

## **6. Types du miel**

### **6.1. Selon l'origine florale**

#### **6.1.1. Miels mono floraux**

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**).

Les miels mono floraux : sont produit à partir du nectar et/ou du miellat d'une seule espèce végétal (**Bonte et Desmouliere, 2013**).

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**).

### 6.1.2. 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**).

Les miels poly floraux : sont produit à partir du nectar dérivant de plusieurs espèces végétates (**Bonte et Desmouliere, 2013**).

### 6.2. Selon l'origine géographique

Les types de miel varient en fonction de la région géographique et qui en rapport avec la flore habituelle d'une région bien déterminée (miel des Alpes, d'Anjou, de Corse, du gâtinais, de Provence, des Vosges,...) (**Bogdanov et Kilchenman, 2003**).

### 7. Miel Algérien

L'activité apicole est intimement dépendante des ressources mellifères dont dispose le pays et qui sont très riches et variées. L'apiculture est pré- dominante dans les régions suivantes :

- Zone de littoral: miel d'agrumes et eucalyptus.
- Hauts plateaux: miel de sainfoin, romarin et jujubier.
- Zone de montagne: Kabylie : miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère.
- Maquis et forêts : miel toutes fleurs et miellat.

En 2011 l'Algérie a importé plus de 150.000 Tonne de miel de Chine, d'Inde et d'Arabie Saoudite (**Oudjet, 2012**).

## *Chapitre II:* *Principaux caractéristiques du miel*

## 1. Caractéristiques organoleptiques

Selon **Journal officiel des Communautés européennes, (2001)**, La couleur du miel peut aller d'une teinte presque incolore au brun sombre. Il peut avoir une consistance fluide, épaisse ou cristallisée en partie ou en totalité.

### 1.1. Couleur

La coloration est une caractéristique physique très importante des miels car elle est en relation avec l'origine florale et la composition. Elle va de l'incolore au noir en passant par le blanc, le jaune, le brun ambré et le brun vert (**Bogdanov et al., 2004**).

Les pigments responsables de la coloration des miels sont principalement les caroténoïdes et les flavonoïdes (**Irina et al., 2010**). La quantité et le type de flavonoïdes varient selon la source florale et la couleur des miels dépend de son origine botanique (**Moniruzzaman et al., 2013**). En règle générale, plus les miels sont foncés (comme ceux issus du tournesol, du sarrasin et de miellat), plus ils sont riches en flavonoïdes. Toutefois, le miel peuvent s'assombrir avec l'âge ; cette variation de couleur peut être due généralement à une exposition soit à des températures élevées ou à la lumière (**Bogdanov et al., 2004**).

### 1.2. Odeur

L'odeur du miel est variable (**Blanc, 2010**). Dans les différents types du miels, les odeurs varient considérablement, en fonction des essences aromatiques communiquées aux nectars initiaux par les fleurs butinées ; mais s'évaporent très rapidement. Elles sont végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non. Une odeur de fumée ou de fermentation est un défaut (**Louveaux, 1985**).

### 1.3. Texture

La texture est largement tributaire de la provenance du nectar, elle influence l'expérience gustative qui suivra et représente un trait caractéristique du miel. Celui-ci peut être liquide, crémeux, visqueux ou même granuleux (**François, 2017**).

### 1.4. Cristallisation

C'est un processus naturel complexe du fait de la présence de plusieurs sucres en mélange et de leurs différences de solubilité. Plus la teneur en fructose est élevée, plus le miel reste liquide, le fructose influence souvent la solubilité du glucose (**El Sohaimy et al., 2015**).

Cette cristallisation est liée au fait que le glucose en solution dans le miel terminé par se cristalliser à température ambiante. Il forme d'abord de petits cristaux qui vont se lier entre eux progressivement pour former de plus gros cristaux et donner une consistance grumeleuse au miel (**Koechler, 2015**).

### 1.5. Goût

Selon **Journal officiel des Communautés européennes, (2001)**, Le goût et l'arôme varient mais dépendent de l'origine végétale. Les miels ont souvent des goûts multiples et que par cristallisation, certains goûts ou arômes disparaissent alors que d'autres apparaissent (**Philippe, 1988**).

Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée alors que le miel clair a une saveur plus délicate (**Bradbear, 2005**).

### 1.6. Arôme

Les arômes de miel proviennent de substances volatiles. Quelques-unes ont pu être identifiées notamment le méthylantranylolate dans les miels d'oranger et de lavande (**Chettoum, 2006**). En règle générale, les miels foncés sont plus aromatiques que les autres (**Guerzou et Nadji, 2009**).

## 2. Caractéristiques physicochimiques du miel

### 2.1. Poids spécifique

Le poids spécifique d'un miel varie essentiellement en fonction de sa teneur en eau. La moyenne retenue s'élève à 1,42 kg par litre. En moyenne, un litre de miel pèse donc 1420 grammes (**Guerriat, 2000**). Il apprécie avec un densimètre (**Rezzag, 2010**).

### 2.2. Densité

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm<sup>3</sup> (**White, 1975**). Les variations de la densité proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau et moins il est dense (**Amri, 2016**).

### 2.3. Viscosité

C'est la consistance du miel, elle joue un rôle prépondérant dans l'écoulement du miel, que ce soit lors de l'extraction, lors de la filtration, ou encore lors de la mise en pot (**Rossant, 2011**).



La viscosité est l'une des caractéristiques physiques la plus significative, car elle affecte la qualité du produit. Elle est influencée par la température, l'humidité et la teneur en glucides. La viscosité de certains miels Algériens varie de 1,12 à 8.98 mPa.s) (**Ouchemoukh et al., 2007**).

#### 2.4. Solubilité

Le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le benzène et le chloroforme (**Clémence, 2005**).

#### 2.5. Hygroscopicité du miel

Le miel, spécialement lorsqu'il est riche en fructose, est très hygroscopique, confiné en atmosphère humide il absorbe l'eau rapidement. C'est d'abord un phénomène de surface mais qui gagne en suite en profondeur (**Bourneck et al., 1980**).

Cela peut conduire à une hausse de la teneur en eau et peut faire fermenter le miel. Il est donc important que le miel soit toujours stocké dans des récipients aux couvercles bien ajustés (**Bradbear, 2010**).

#### 2.6. Humidité

La teneur en humidité du miel d'abeille représente une grande importance à sa stabilité contre la fermentation et la granulation. Les réglementations internationales CEU (Council of European Union), TSE (Turkish Standard Institute) et AFNOR fixe cette valeur en une fourchette de 15 à 20% (**Sib, 2007**).

La faible teneur en humidité protège le miel de la contamination microbologique et donc il peut être conservé pendant des périodes plus longues (**El-Sohaimy et al., 2015**).

#### 2.7. Indice de réfraction

Il est en fonction de la teneur en eau et de la température. L'indice de réfraction de miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse, Il est plus élevé quand sa concentration en sucre est forte ; il diminue lorsque la température augmente (**Guerriat, 2000**) ; (**Guerzou et Nadji, 2002**) ; (**Mazrou, 2008**).

#### 2.8. Hydroxymethylfurfural

L'HMF est un dérivé de déshydratation des sucres ; qui apparaît par réaction chimique naturelle lors du vieillissement ou du chauffage des miels (**Predrix, 2003**).

**Schweitzer, (2005)**, affirme que plus la température augmente plus un miel contient d'HMF et les voies de ces enzymes disparaître. D'ailleurs, les températures élevées ont sur le miel un effet assez semblable à celui du vieillissement. Les basses températures ont, au contraire, un effet de protection contre le vieillissement par blocage des réactions enzymatiques et chimiques. La formation de ce composé est le résultat de la déshydratation d'hexose particulièrement dans des milieux acides, ou par réaction de Maillard (**Tosi et al., 2002**) ; (**Turhan et al., 2008**).

### 2.9. Conductivité électrique

La conductivité électrique est un excellent critère de détermination de l'origine botanique du miel. Cette mesure est liée à la teneur en minéraux et à l'acidité du miel. Des travaux de recherches (**Surendra et al., 2000**) ont montré qu'il existe une relation linéaire entre ces trois paramètres. D'autres travaux de (**Surendra et al., 2000**) sur le miel d'*Apis dorsata* ont mis en évidence une corrélation positive entre la conductivité électrique, l'invertase et la proline. Les mêmes travaux ont trouvé qu'il existe une corrélation entre la conductivité électrique et l'oligosaccharide L2. Il pourrait donc être possible de déterminer si le miel est un miel de fleurs ou de miellat.

### 2.10. Potentiel d'hydrogène

Sa valeur varie en général entre 3,5 et 5,5 ; elle est due à la présence des acides organiques (**Bogdanov et al., 2004**). Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5 (**Schweitzer, 2005**).

Cette propriété est due à la présence d'acides organiques dans le miel tels que l'acide gluconique (**Jean-Prost et Le Conte, 2005**).

### 2.11. Acidité libre

L'acidité est un critère de qualité important. La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel, c'est pourquoi une valeur maximale est très utile, bien qu'il existe une fluctuation naturelle considérable (**Amri, 2016**).

Le miel est toujours acide ; Il influence fortement la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes, elle est plus rapide pour un pH faible (3,5-4,0) que pour un pH élevé (4,0 5,0) (**Bruneau, 2005**).

Le dosage de l'acidité libre des échantillons du miel sont réalisé par la méthode de titrage au point d'équivalence. L'acidité libre est exprimée en  $\text{meq.kg}^{-1}$  (Mekious, 2016).

### 2.12. Teneur en cendres

Les cendres représentent le résidu minéral du miel après incinération. La détermination des cendres offre la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel (Silva et al., 2009).

Les cendres sont déterminées par le contenu de substance minérale du miel. ce contenu dépend fondamentalement et quantitativement aux caractéristiques du sol et du climat de la région du miel (Vanhanen et al., 2011) ; (Terrab et al., 2004) ; (White et Rudyi, 1978).

Feás et al., (2011) ; White, (1980) ; Felsner et al., (2004) ont confirmé l'existence d'une relation entre la couleur des miels et leurs teneurs en cendres. Les miels clairs sont nettement moins riches en cendres que les miels foncés.

### 2.13. Fluorescence

Plusieurs miels présentent une Fluorescence plus ou moins importante sous l'action de l'ultraviolet. Les couleurs de Fluorescence des miels sont variables. Certains miels tels que les miels de châtaigner par exemple sont légèrement fluorescents en lumière UV (Nadir, 2014).

## 3. Caractéristiques nutritionnelles

Le miel est essentiellement contient des glucides, des protéines, des lipides, des enzymes et des vitamines. C'est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories.

Son apport énergétique est un peu moins important que celui du sucre (316 kcals pour 100 g contre 400 kcals pour 100 g). C'est une alternative au sucre de table convenant aux personnes portant une attention particulière à leurs apports énergétiques (Velghe, 2016) ; (Abid, 2017).

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétiques (320 calories par 100 grammes de miel) assimilable par l'organisme par sa haute teneur en glucose et fructose (Melliou et Chinou, 2011) ; (Gonnet, 1982).

Il a été prouvé que le miel favorise aussi l'assimilation du calcium et la rétention de magnésium (Chauvin, 1968).

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 1mg de vitamine C (Anonyme, 2011). Les

quantités que l'on conseille d'absorber sont, en général, de 1 à 2g de miel par kilogramme de poids (pour une personne pesant 60kg : 60 à 120 g de miel) (**Bazoche, 2011**).

Le miel 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 (**Gonnet et Vach, 1985**).

#### 4. Propriétés thérapeutiques du miel

Le miel est connu pour sa valeur nutritionnelle et ses diverses propriétés thérapeutiques (**Mekious et al., 2016**).

Certaines personnes paraissent sensibilisées au miel qui déclenche chez elles des malaises. Cependant on attribue au miel un très grand nombre de propriétés thérapeutiques (propriétés antiseptiques, antianémiques et antitussives par exemple) (**Guarch, 2008 ; Chanaud, 2010**).

##### 4.1. Propriétés bienfaisantes générales

Les propriétés bienfaisantes générales du miel sont nombreuses, elles peuvent varier en importance selon la variété de miel considéré, pouvant être répertoriées comme suit :

- ✓ miel est un produit important dans la pharmacopée traditionnelle. Il est réputé pour son action anti inflammatoire, antianémique, antiseptique, stimulante, régénératrice. Il est utilisé seul ou associé à d'autres préparations avec des plantes ou graines connues pour leur utilisation médicinale telles que le thym, la sauge, les grains de nigelle. Il est utilisé essentiellement comme onguent et pour sucrer les préparations amères à base de plantes (**Mekious et al., 2016**) ;
- ✓ Antiseptique (usage externe du miel comme antiseptique sur les plaies et les blessures).
- ✓ propriétés antianémique ;
- ✓ le miel possède des propriétés régénératrices de certaines fonctions de l'organisme par la présence de catalyseurs tels que les enzymes et les vitamines (**Darrigol, 1979**) ;
- ✓ Action anti-inflammatoire liée à la teneur antioxydant élevée du miel (**Molan, 1999**). ;
- ✓ Barrière visqueuse contre l'invasion (**Bergman et al., 1983**) ;
- ✓ Action de désodorisation : une conséquence d'action antibactérienne [(**Postmes et al., 1993**) ; (**Molan, 1999**)] ;
- ✓ Antipyrétique (combat la fièvre) ;
- ✓ Apéritif (stimule l'appétit) ;

- ✓ Antalgique (calmant la douleur) ;
- ✓ Dynamogénique (augmente la force et l'énergie) (**Donadieu, 1981**).

#### 4.2. Propriétés spécifiques à chaque miel

Les propriétés de ce produit naturel sont de plus en plus reconnues et diffèrent en fonction de la fleur de la plante source de nectar.

**Tableau N° 4 : Propriétés spécifiques à chaque miel (Oudjet, 2012) ; (Sylvie, 2005).**

Type de miel	Propriétés spécifiques
<b>Miel d'orange</b>	Riche en vitamine C, sédatif, à préconiser en cas d'anxiété, d'insomnie ou de migraine, mais aussi de troubles digestifs, conseillé pour les enfants.
<b>Miel d'eucalyptus</b>	antiseptique des bronches et des voies respiratoires, il calme la toux et soigne les rhumes.
<b>Miel de Jujubier</b>	Contient de la vitamine A et du fructose, ce miel est excellent pour : asthme, muscles - système immunitaire - anémie, douleurs intestinales, il est très recommandé pour les cancéreux.
<b>Miel d'Origan</b>	Stimuler l'appétit, lutter contre la fatigue, traiter la cellulite grâce à l'origan, soigner les rhumatismes, traiter les problèmes respiratoires, soulager les maux de dents
<b>Miel de Harmel</b>	Traitement des hémorroïdes, des douleurs articulaires, des maux de tête, de l'épilepsie, prévient certain cancer, réduit le taux de cholestérol dans le corps, la protection du

	système respiratoire et nerveux.
<b>Miel de Montagne</b>	Il contient des vitamines et sels minéraux, ce miel est excellent pour : la fatigue – tous types de maladies de la peau – système digestif – système urinaire.

#### 4.3. Mécanisme d'action contre l'infection

Les expériences cliniques ont montré l'efficacité du miel dans le processus anti infectieux et dans la guérison. Or nous savons que dans le cas de brûlures, les bactéries Gram + sont les premières à coloniser la plaie, issues de la flore cutanée endogène ou de l'environnement externe. Elles sont ensuite suivies par les bactéries Gram – provenant de la flore gastro intestinale dans les jours qui suivent. Donc, que ce soit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ou d'autres germes, le miel lutte contre toutes sortes de microorganismes.

La prolifération des lymphocytes B et T dans le sang ainsi que l'activation des phagocytes est stimulée par le miel à des concentrations de 0,1%. A une concentration de 1%, le miel peut stimuler les monocytes à sécréter des cytokines, du TNF, d'IL-1 et de l'IL-6 qui activent la réponse immunitaire contre l'infection (**Delphine, 2010**).

Le miel s'est montré supérieur à certains antibiotiques conventionnels utilisés pour traiter les infections urinaires (**Khenfer et Fettal, 1997**).

### 5. Propriétés antimicrobiennes de miel

#### 5.1. Activité antibactérienne

L'activité antimicrobienne est multifactorielle, le miel peut donc inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, champignons, protozoaires et virus sans que ces derniers ne puissent développer une résistance (**Delphine, 2010**).

Récemment, plusieurs études ont prouvé que le miel contenait également des molécules inhibant la croissance bactérienne (**Salomon, 2010**) ; (**Werner et Laccourreye, 2011**).

## 5.2. Activité antifongique

Selon **Molan, (1992)**, 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**).

Malcolm Richardson, professeur de mycologie médicale à l'Université de Manchester explique que le miel a été utilisé depuis l'antiquité pour le traitement de plusieurs maladies. Mais seul un nombre limité d'étude se sont penchée sur son effet sur les champignons pathogènes (**Abid, 2017**).

Les études de **Hoyet, (2005)** ; exprime que le miel a une efficacité contre les mycoses dermique (Mycoses cutanées), dues notamment à *Malassiza* et à *Epidermophyton inguinale*, et une efficacité comparable aux antifongique classique sur des candidoses vaginales (Mycoses vaginale) provoquées par *Candidas albicans*, mais pour traiter des mycoses, il faut les concentrations de miel sont plus élevées que les concentrations antibactériennes

L'activité antifongique de miel est observée aussi pour certain levures et les espèces d'*Aspergillus et penicillium* (**Khoo et al., 2010**).

### 5.2.1. Activité sur les mycoses cutanées

L'essai clinique d'une mixture composée à parts égales ; de cire d'abeille, d'huile d'olive et de miel, au but de traiter, trois fois par jour pendant un mois. Des patients atteints de mycoses dermiques, dues notamment à *Pytiriacis Versicolor* et à *Epidermophyton Inguinale*. Les résultats cliniques qu'il a obtenus sont : 86% des cas pour les patients atteints par *Pytiriacis Versicolor*, et dans 79% des cas chez ceux touchés par *Epidermophyton Inguinale* (**Alwaili, 2004**).

L'étude de **Clémence, (2005)**, exprime une guérison complète a été observée dans 79% des cas pour *Pytiriacis Versicolor* et dans 71% des cas pour *Epidermophyton Inguinale*.

### 5.2.2. Activité sur les mycoses vaginales

**Obaseiki-Ebor et Afonya, (1984)** ; montre que Le miel a une efficacité comparable aux antifongiques classiques sur les Candidoses vaginales provoquées par *Candida Albicans* ; (**Darvishi et al., 2015**).

D'après **Gicquel, (2015)**, Pour traiter des mycoses Il faut souligner que, les concentrations en miel sont plus élevées que pour obtenir un effet antibactérien (**Clémence, 2005**).

### 5.3. Mécanismes antimicrobiens

**Theunissen et al., (2001)**, exprime que les mécanismes mis en jeu dans le caractère antimicrobien ne sont pas tous élucidés, mais cette activité est lié par des facteurs bien connus: l'osmolarité élevée, le faible PH, la forte concentration en sucres, ainsi la présence de plusieurs composants antimicrobiens appelés « inhibine », et ses collaborateurs pour qualifier les agents antimicrobiens.

En effet **Bogdanov et Pascale, (2001)**, indique que le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel (**Adcock, 1962**).

D'autres travaux des **Allen et al., (1991)** ; **Molan, (1992)**, ont montrés la présence d'autres facteurs « non peroxydiques » impliqués dans cette activité tels que : des acides phénoliques, des flavonoïdes, et plus récemment, le méthylglyoxal (retrouvé en particulier dans le miel de Manuka), et la défensines-1 (protéines fabriquées par les abeilles) ont été identifiés comme des composés antibactérienne importants dans le miel (**Kwakman et al., 2010**) ; (**Paulus et al., 2011**).

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

#### A. pH acide

L'étude expérimentale de **Mandal MD et Mandal, (2011)**, exprime Le pH de miel compris entre 3, 2 et 4,5, il est donc suffisamment acide pour inhiber ou ralentir la croissance de nombreux microorganismes pathogènes (**Balas, 2015**).

#### B. Osmolarité

La forte concentration en sucres et la faible teneur en eau sont des facteurs qui influencé sur l'osmolarité élevée de miel (**Molan, 1992**). La forte interaction entre les molécules de sucre et d'eau laisse donc peu des molécules d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes. Cela provoque une forte déshydratation des germes mettant en jeu leur survie.

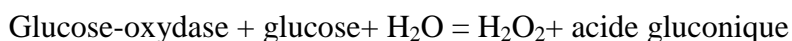
La quantité d'eau libre pour le miel est comprise entre 0,562 et 0,62 (**Molan, 2001**) ; (**Olaitan et al., 2007**).



### C. Peroxyde d'hydrogène H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) aussi appelée l'eau oxygénée constitue le principal agent antimicrobien retrouvé dans la plupart des miels. Selon **Molan, (1992)** L'eau oxygénée et l'acide gluconique résultent de l'oxydation de l'eau et du glucose par le glucose oxydase.

Les abeilles sécrète l'enzyme du miel « glucose-oxydase » par les glandes nourricières des qui est ajoutée lors de la transformation du nectar en miel. L'eau oxygénée est réduit par la catalase également trouvé dans de nombreux miels et qui représente l'antagoniste de la glucose-oxydase, alors que celle-ci est éliminée par la catalase. Donc la concentration en peroxyde dépend de l'activité de ces deux enzymes (**Bogdanov et Pascale, 2001**).



**Libonatti et al., (2014)**, a donnée plusieurs facteur qui influencé sur sa production permit les : la durée du stockage, la lumière, la chaleur, ainsi **Kwakman et al., (2012)**, exprime qu'elle n'est pas active dans le miel pur mais elle inhibe que faiblement le développement bactérienne, par contre, elle devient active lorsque le miel est dilué (**Jessica, 2015**).

### D. Système non peroxyde

Comme certains acides aromatiques ou composés volatiles ainsi que des Flavonoïdes et des acides phénoliques transmis par la plante (**Blanc, 2010**). En effet, l'activité antimicrobienne n'est pas uniquement corrélée au taux de peroxyde. Les principaux composants ayant une activité non peroxyde sont :

- La Pinocembrine (un flavonoïde présent dans le miel et produit par les abeilles).
- Les lysozymes (produite par les abeilles, enzyme bactériostatique présente dans le miel).
- D'autres nombreux composants chimiques comme les terpènes, l'alcool benzénique, l'acide syringique.

Contrairement aux composants à activités peroxyde, ces facteurs non peroxydiques sont beaucoup moins sensibles à la chaleur, la lumière et la durée du stockage (**Bogdanov, 1997**) ; (**Bogdanov et Pascale, 2001**) ; (**Cushnie et Lamb, 2005**).

**E. Méthylglyoxal (MGO)**

Est responsable de l'activité non-péroxyde observée dans des miels ; un agent de protéine-glycating, elle est trouvée dans les miels médicaux (**Badet et Quero, 2011**) ; (**Majtan, 2011**) ; (**Annie, 2013**).

## **Chapitre III:**

# ***Souches bactériennes étudiées***

## Introduction

Toutes les bactéries sont à la fois des micro-organismes et des procaryotes, unicellulaires ; cela n'exclut pas la formation de colonies plus ou moins structurées chez certaines espèces. Mais la différenciation est relativement peu nombreuse, et les formes cellulaires relativement moins variées que chez les eucaryotes.

## I. Bactéries à Gram négatifs

### I.1. *Escherichia coli*

#### I.1.1. Taxonomie

- Règne : *Prokaryotae*
- Domaine : *Bacteria*
- Phylum: *Proteobacteria*
- Classe : *Gammaproteobacteria*
- Ordre : *Enterobacteriales*
- Famille : *Enterobacteriaceae*
- Genre : *Escherichia*
- Espèce : *Escherichia coli* (Djelouat, 2011).

#### I.1.2. Habitat

Le "*coli*" est donc devenu l'ami du chercheur. Sans oublier cependant qu'il peut devenir pathogène (Pelmont, 1993). Les *E. coli* sont des hôtes normaux du tube digestif (le tractus intestinal de l'homme et animale). Ils constituent l'espèce dominante de la flore aérobie (1000 fois moins importante que la flore anaérobie) (Le Minor et Véron, 1984).

*E. coli* est un indicateur d'une contamination fécale car sa présence dans l'eau, l'aliment et le sol n'est pas considérée normale (Chouder, 2006) ; (Fritz et al., 2008).

### I.1.3. Caractères bactériologiques

#### A. Caractère morphologiques

*Escherichia coli* ou colibacille est une bactérie; Gram négatif ; asporulée mesurant 2 à 4 μ de long sur 0,4 à 0,6 μ de large.



**Figure N°1:** *Escherichia coli* observée au microscope électronique (Gx10000)  
(Mami, 2013).

C'est un bacille fin et allongée à extrémités arrondies, mobile grâce à une ciliature péritriche (Oulymata, 2007).

### B. Caractères cultureux




- *E.coli* est une bactérie mésophile, sa température de croissance proche de celle du corps humain (37°C), neutrophiles qui se développent à un pH compris entre 5,5 et 8,5 avec un optimum voisin de 7.
- *E.coli* est non halophile (elle pousse en milieu de concentration en NaCl inférieure à 0,2 M) (Oulymata, 2007).
- Le lactose est rapidement dégradé (Fritz et al., 2008).
- Aéro-anaérobies facultatifs.
- Sur milieux solides après 18-24h les colonies sont arrondies, lisses, à bords réguliers, de 2 à 3 mm de diamètre.
- Pousse sur milieux sélectifs pour entérobactéries type Mac Conkey et Hectoen (Clave, 2012).
- Ce germe non exigeant, sur gélose ordinaire donne des colonies lisses, brillantes et homogènes (Oulymata, 2007).

### C. Caractères biochimiques

- *E.coli* possède une catalase mais elle est dépourvue d'oxydase.
- Les caractères biochimiques les plus caractéristiques d'*E.coli* sont :
  - Fermentation du glucose avec production du gaz, en général,
  - indole (+).
  - lactose (+) (Le Minor et Véron, 1984).

**Tableau N°5:** Comportement de *Escherichia coli* vis-à-vis les antibiotiques (**Tali-Maamar, 2008**).

<b>Antibiotiques</b>	<b><i>Escherichia coli</i> Aérobies Gram –</b>
<b>Amoxiclav</b>	18,4 %
<b>Ofloxacin</b>	12,8 %
<b>Gentamicine</b>	10%
<b>Pénicilline G</b>	
<b>Vancomycine</b>	
<b>Érythromycine</b>	

	Espèce habituellement sensible
	Espèce inconstamment sensible (antibiogramme recommandé)
	Espèce naturellement résistante ou présentant plus de 80% de résistance)

% : les chiffres des variations entre les hôpitaux et entre les services.

Il existe des variations entre les hôpitaux et entre les services.

## **I.2. *Pseudomonas aeruginosa***

### **I.2.1. Taxonomie**

Règne : *Bacteria*

Division : *Proteobacteria*

Classe : *Gammaproteobacteria*

Ordre : *Pseudomonadales*

Famille : *Pseudomonadaceae*

Genre : *Pseudomonas* (**Delarras, 2007**).

### I.2.2. Caractères généraux

*Pseudomonas aeruginosa* ou bacille pyocyanique est une bactérie ubiquiste, saprophyte dans les eaux (eaux de piscines...) et marines, dans l'air, dans les sols humides ou sur les végétaux. Elle est commensale des téguments et des muqueuses de l'homme et des animaux, mais aussi pathogène pour eux.

Cette bactérie se rencontre dans l'environnement hospitalier au niveau du matériel, médical ou chirurgical, et dans des solutions antiseptiques.

*Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie Gram - qui se développe sur des milieux sélectifs contenant du cétrimide et qui produit de pyocyanine, pigment bleu vert. La plupart des souches (98%) produisent un pigment jaune vert fluorescent soluble dans l'eau.

Cette bactérie présente un mécanisme oxydatif (glucose, par exemple) qui peut être déterminé sur le milieu de Hugh et Leifson (glucosé) (Delarras, 2007). Elle réduit généralement les nitrates au-delà des nitrites sur une gélose au nitraté.

**Tableau N°6:** Caractères principaux des *Pseudomonas* (Delarras, 2007).

<b>Caractères principaux – Milieux de culture – identification biochimique</b>	
<b>Morphologie</b>	Bacilles
<b>Coloration de Gram</b>	Gram -
<b>Mobilité</b>	Mobiles, à ciliature polaire monotriche ou multitriche, ou immobiles
<b>Type respiratoire</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Aérobie stricts</li> <li>• Respiration nitrates en anaérobiose pour certaines espèces</li> </ul>
<b>Oxydase</b>	+ en général
<b>Catalase</b>	+
<b>Conditions de culture</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Température optimale de 30 à 45°C</li> <li>• Font partie des espèces psychotrophes</li> <li>• PH compris entre 6,5 et 8</li> </ul>

<b>Caractères spécifiques</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Utilisent peu de glucides par voie oxydative</li> <li>• Dégrade la caséine</li> <li>• Produisent des pigments</li> </ul>
<b>Milieux de culture d'usage courant</b>	Gélose nutritive, gélose trypticase soja.
<b>Milieux d'isolement sélectifs</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Milieux pour entérobactéries</li> <li>• Gélose cétrimide</li> <li>• Gélose CN Agar</li> </ul>
<b>Identification biochimique</b>	Identification sur les galeries API 20 E, ID 32 GN et API 20 NE biomatériau SA .

**Tableau N°7 : Comportement de *Pseudomonas aeruginosa* vis-à-vis les antibiotiques (Tali-Maamar, 2008).**

<b>Antibiotiques</b>	<b><i>Pseudomonas aeruginosa</i> Aérobies Gram –</b>
<b>Amoxiclav</b>	
<b>Ofloxacin</b>	12,9%
<b>Gentamicine</b>	13,1%
<b>Pénicilline G</b>	
<b>Vancomycine</b>	
<b>Érythromycine</b>	

## II. Bactéries à gram positif

### II.1. Genre *Staphylococcus*



### II.1.1. Taxonomie

Selon la neuvième édition du Bergey's Manual of Systematic Bacteriology, les staphylocoques sont classés parmi les bactéries à Gram positif.

**Classe :** *Bacilli*

**Ordre :** *Bacillales*

**Famille :** *Staphylococcaceae*

**Genre :** *Staphylococcus*

**Espèce :** *Staphylococcus aureus* (Prescott et al., 2010) ; ( Rebiahi, 2012 ) ; (Delarras, 2007).

### II.1.2. Caractères généraux

Les Staphylocoques sont des cocci, immobiles, catalase positifs anaérobies facultatifs, regroupés en amas ou en grappe de raisin. Ils sont cultivés sur des milieux de culture ordinaires aérobie et anaérobies.

Ils comportent 30 espèces et sous-espèces ; les plus fréquentes en médecine sont reprises succinctement (**Tableau 8**) (Fritz et al., 2008).

**Tableau N° 8 :** Vue d'ensemble des staphylocoques les plus importants et des infections occasionnées (Fritz et al., 2008).

Espèce	Propriétés de l'agent infectieux	Type d'infection
<i>S.aureus</i>	Coagulase, positif ; colonies colorées en jaune d'or .hémolyse fréquente.	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ infections local purulente : furoncale, anthrax, impétigo bulleux, Infection du site opératoire, sinusite, otite moyenne aigue, mastite purpurale otite / ostéomyélite. pneumonie.</li> <li>Maladies liées aux toxines : intoxication alimentaire, dermatite exfoliante. Syndrome du choc toxique.</li> <li>➤ Infections invasives : endocardite. sepsis.</li> </ul>

<i>S.epidermidis</i>	Coagulase négatifs, sensible à la novobiocine, agent le plus fréquent (~70) parmi les SCN*, opportunistes.	➤ Infection associée à des corps étrangers avec symptomatologie clinique discrète.
<i>S.saprothicus</i>	Coagulase négatifs, résistance à la novobiocine.	➤ Infection des voies urinaires chez la femme jeune (10-20) ; occasionnellement urétrite non spécifique chez l'homme.

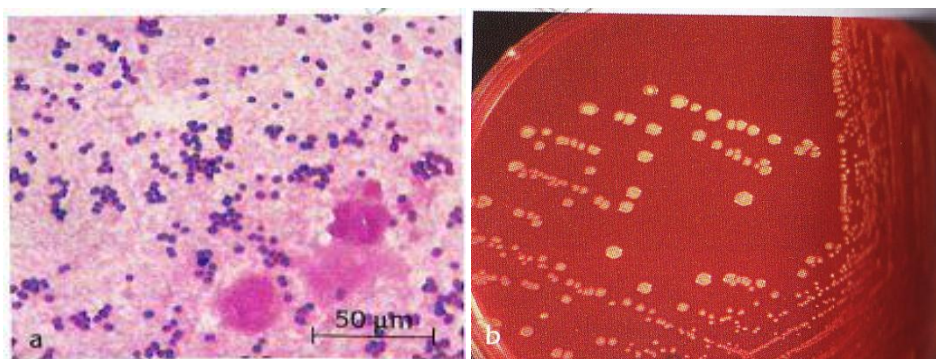
\*SCN : Staphylocoque coagulase négatifs.

Dans notre recherche ; on a basé notre étude sur le type : *Staphylococcus aureus*. Car, il est plus important en médecine humaine.

## A. *Staphylococcus aureus*

### A.1. Morphologie et culture

L'aspect d'un *S.aureus* dans une préparation Gram est montré (**Figure 2**). Le germe se cultive facilement sur des milieux de culture ordinaires à 37°C.



**Figure N°2 : *Staphylococcus aureus*.** a coloration de Gram d'une préparation de pus : cocci Gram positif, en partie en amas .diagnostic clinique furonculose culture sur sang agar : colonies bombées pigmentées en jaune avec une surface à aspect de porcelaine (**Fritz et al., 2008**).

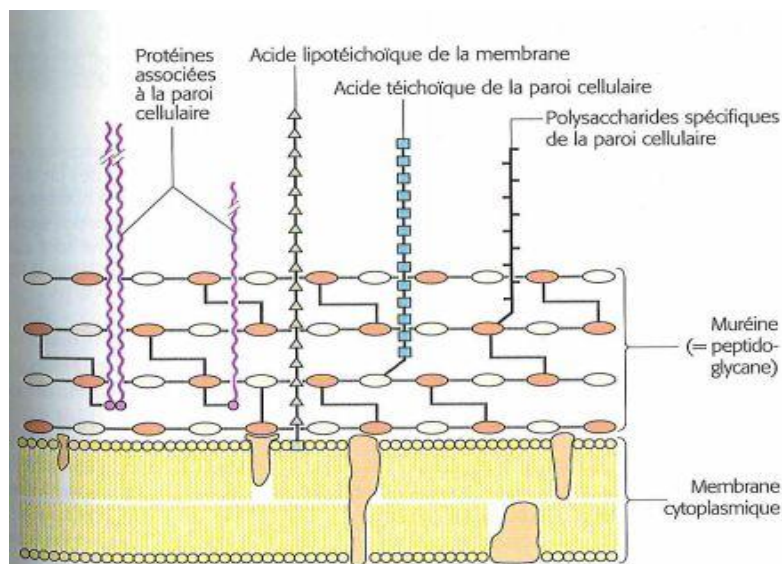
Après 24h d'incubation se développent les colonies montrées (**Figure 2-b**) ; on retrouve souvent des zones d'hémolyse autour des colonies.

On isole une forme spéciale de colonies appelées\* small colony variants\*(SVC). Celle-ci sont de petite taille, diamètre de 1-2 mm, présente des pigments, n'ont pas de zone d'hémolyse et ne se forme qu'après 48h d'incubation.

Elles sont observées dans des infections chroniques, persistantes récidivantes (**Fritz et al., 2008**).

### A.2.Ultra- structure

Paroi cellulaire se compose d'une couche épaisse de muréine ; d'acide téichoïque et d'acide lipotéichoïque (**Figure 3**).



**Figure N° 3** : Paroi cellulaire des bactéries à Gram positif (schématique). L'épaisseur de la couche de la muréine, les acides téichoïque et les acides des lipotéichoïque, avec encrege lipophile dans la membrane plasmique, en sont les caractéristiques (**Fritz et al., 2008**).

A la partie peptidique que de la muréine sont fixées des protéines associées à la paroi cellulaire. Le clumping factor ; la protéine liant la fibronectine et celle liant le collagène, sont responsables de l'adhésion aux tissu, cellules et corps étrangers qui sont recouverts de la protéine matricielle correspondante (**Fritz et al., 2008**).

### A.3.Caractères physiologiques et biochimiques

- *Staphylococcus aureus* possède une catalase mais pas d'oxydase.

- Ils sont actifs sur les hydrates de carbone : le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. L'utilisation de ces deux sucres caractérise l'espèce *S. aureus*.

D'autres caractères peuvent être recherchés :

- indole(-),
- acétoïne(+),
- uréase(+),
- réduction du tellurite de potassium,
- des nitrates en nitrites,
- production d'ammoniaque à partir de l'arginine (**Rebiahi, 2012**).

**Tableau N°9 :** Comportement de *Staphylococcus aureus* vis-à-vis les antibiotiques (**Tali-Maamar, 2008**).

Antibiotique	<i>Staphylococcus aureus</i> Aérobies Gram +
<b>Amoxiclav</b>	
<b>Ofloxacin</b>	10,5 %
<b>Gentamicine</b>	16,3 %
<b>Pénicilline G</b>	92,2 %
<b>Vancomycine</b>	
<b>Érythromycine</b>	25,7%

#### A.4. Traitement

Outre les mesures chirurgicales, le traitement repose sur l'administration de pénicillines résistantes aux pénicillinases (flucloxacilline), car 70-80 des souches produisent une pénicillinase.

Ces pénicillines n'agissent cependant pas sur les souches méticilline-résistantes (SARM), dont la résistance s'étend à toutes les bêta-lactamines. Elle survient essentiellement chez les souches hospitalières (chez=20-50) (**Fritz et al., 2008**).



# Deuxième partie: Partie pratique

**Partie pratique:**  
***Matériels et méthodes***

## 1. Objectif

L'objectif principal de ce travail est de déterminer l'activité antibactérienne de sept échantillons de miel (polyfloraux et monofloraux) issus de deux régions différentes d'Algérie (wilaya de Guelma et Tipaza) sur trois différentes souches bactériennes de référence.

## 2. Matériel

### 2.1. Choix des échantillons du miel

Sept variétés de miel ont été collectées chez des apiculteurs à l'Est- Centre Algérien (Figure 4).

La collecte des échantillons a été effectuée au cours l'été de l'année 2018, ils sont conservés à l'abri de la lumière et à la température ambiante. Les différentes variétés serviront pour un contrôle de la qualité par les analyses physicochimiques. Ce travail de recherche a été effectué au niveau de laboratoire de microbiologie appliquée de département d'écologie. Nous avons attribué à chaque échantillon un numéro (Tableau10).

**Tableau N°10:** Description des différents échantillons de miel utilisés.

N° de code	Type de miel	Origine géographique	Date de récolte	Nom scientifique
M1	Montagne 1	Tipaza	2018	Polyflorale
M2	Orange	Tipaza	2018	<i>Citrus sinensis</i>
M3	Eucalyptus	Tipaza	2018	<i>Eucalyptus globulus</i>
M4	Jujubier	Tipaza	2018	<i>Ziziphusjujuba</i>
M5	Origan	Tipaza	2018	<i>Origanum vulgare</i>
M6	Harmel	Tipaza	2018	<i>Peganum harmala</i>
M7	Montagne 2	Guelma	2018	Polyflorale



Figure N° 4: Schéma des échantillons du miel (prise personnel, 2019).

## 2.2 Appareillage

Les appareils utilisés sont regroupés dans le **Tableau 11**.

**Tableau N°11:** Appareils utilisés lors des analyses.

Appareils	Modèle	Pays de fabrication
Spectroscopie UV-Visible	SECOMAM	France
Réfractomètre	Bellingham et Stanley	USA
pH-mètre	AD1030	USA
Four à moufle	NABERTHARM	Allemagne
Hotte	Shin Saeng	KOREA
Chambres d'incubation	Edmund BühlerGmbH	Allemagne
Etuve	Ncuell	Allemagne
Autoclave	SYQ-DSX-280B	KOREA
Bain Marie	Memmert	Allemagne
Distillateur	G.F.L	Allemagne
Agitateur -plaque chauffante	VELP scientifica	Italie
Microscope	Zeiss	Allemagne



**2.3. Verreries et petits matériels (Annexe 1).****2.4. Produits et réactifs (Annexe 2).****3. Souches bactériennes**

Dans cette étude, les souches bactériennes de référence utilisées ont été isolées et identifiées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital « IBN ZOHR » de Guelma, deux souches à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* ; une autre à Gram positif : *Staphylococcus aureus*.

**Tableau N°12 : Souches bactériennes de référence.**

<b>ATCC 25922</b>	<i>Escherichia coli</i>
<b>ATCC 43300</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<b>ATCC 27853</b>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>

**3.1. Isolement**

Les milieux de culture utilisés sont les suivants :

- ✓ Gélose Chapman ;
- ✓ Gélose nutritive ;
- ✓ King A.

La composition et la préparation des milieux de culture est détaillée en (**Annexe 3**).

**3.2. Identification**

Une confirmation macroscopique et microscopique pour les souches bactériennes est réalisée avant de détecter une éventuelle contamination.

- Observation macroscopique
- Observation microscopique
  - A l'état frais ;
  - Après coloration de Gram (**Annexe 4**).
- Étude des caractères biochimiques
  - Enzymes : Oxydase et catalase ;
  - Api20E ;
  - Api20NE.

## 4. Étude de la sensibilité aux Antibiotiques

### 4.1. Antibiogramme

L'antibiogramme est une technique simplifiée d'appréciation de l'activité bactériostatique des antibiotiques sur une souche bactérienne (**Djaafri et al., 2013**).

#### 4.1.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau distillé stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 MF ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum (**Rahal et al., 2011**).

#### 4.1.2. Ensemencement

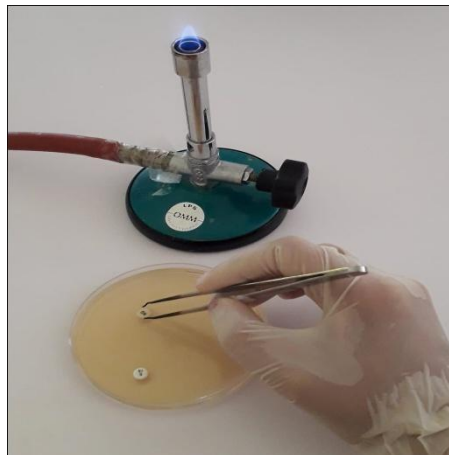
- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois (**François et al., 2011**) ; (**Rahal et al., 2011**).



**Figure N°5 : Ensemencement sur milieu Muller Hinton (prise personnel, 2019).**

#### 4.1.3. Application des disques d'antibiotiques

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique sur une boîte de 90 mm.
- Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles à la surface d'une gélose ensemencé avec la bactérie a étudié et ne pas déplacer les disques après application.
- Après 18h d'incubation à 37°C ; une zone d'inhibition centrée sur le disque se forme : la concentration d'antibiotique en bordure de la zone d'inhibition correspond à la CMI de l'antibiotique pour la souche étudiée.
- La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée (**Tableau13**).
- La gélose utilisée est une gélose de Muller Hinton et son épaisseur doit être de 4mm (**François et al., 2011**) ; (**Rahal et al., 2011**).



**Figure N°6 : Application des disques d'antibiotiques (prise personnel, 2019).**

#### 4.1.4. Lecture

- Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'une règle de 20 cm.
- Le diamètre de la zone d'inhibition est mesure en millimètre.
- Comparer les résultats obtenus, aux valeurs critiques figurant dans les tables de lecture correspondantes.
- Classer la bactérie dans l'une des catégories S, R ou I (**François et al.,2011**) ; (**Rahal et al., 2011**).

Tableau N°13: Antibiotiques utilisés.

Antibiotique	Code	Charge du disque
Amoxiclav	AMC	30 µg
Ofloxacin	Of	5µg
Gentamicine	CN	10 µg
Pénicilline G	P	10 µg
Vancomycine	VA	30µg
Érythromycine	E	15µg

## 5. Méthodes d'analyses physico-chimiques

Le miel est un mélange complexe dont sa composition et ses caractéristiques sont liées à son origine florale et géographique.

Cette étude correspond à une analyse de quelques paramètres physico-chimiques qui sont : conductivité électrique, teneur en eau, le pH, l'acidité libre et la teneur en cendres.

### 5.1. Détermination de la conductivité électrique

La conductivité électrique a été déterminée selon la méthode de **Bogdanov et al., (2002)**, en utilisant un conductimètre. Dix grammes de miel sont dissouts dans un 50 ml d'eau distillée.

Les résultats sont exprimé sen milliSiemens par centimètre (mS/cm) (**Benaziza et Schweitzer, 2010**).



Figure N°7 : Conductimètre de type HI 9033 (prise personnel, 2019).

### 5.1.1. Mode opératoire

- Peser 10g du miel dans un petit bécher, le dissoudre dans un 50 ml d'eau distillé.
- Bien mélanger jusqu'à homogénéisation.
- Placer la solution au bain marie réglé à 20°C.
- Plonger l'électrode du conductimètre dans la solution (**Rebai et Saidisief, 2017**).

### 5.1.2. Expression des résultats

Effectuer directement la lecture de la valeur qui s'affiche à l'écran.

## 5.2. Détermination de PH

Le pH a été déterminé à l'aide d'un pH mètre sur une solution composée de 10 g de miel et 75ml d'eau distillée (**Bogdanov et al., 2002**).

### 5.2.1. Mode opératoire

- Dans un petit bécher, 10g du miel sont délayés dans 75 ml d'eau distillée.
- plonger l'électrode dans la solution

### 5.2.2. Expression des résultats

Effectuer directement la lecture de la valeur qui s'affiche à l'écran.



**Figure N°8 : pH mètre de type AD1030 (prise personnel, 2019).**

## 5. 3. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre ont été déterminés par titrage à pH 8,3 sur 10 g de miel homogénéisés dans 75 ml d'eau distillée (**Djossou et al., 2013**).

### 5.3.1. Mode opératoire

- Dissoudre 10g de miel dans un 75 ml d'eau distillée dans un bécher de 250 ml.
- Mélanger ensuite à l'aide d'un agitateur magnétique.
- prolonger l'électrode dans la solution, noter la valeur du pH initiale.
- commencer par la suite le titrage par une solution de NaOH 0,1 N jusqu'à un pH 8,5 (Laredj, 2017).

### 5.3.2. Expression des résultats

Le résultat est exprimé par la formule suivante (Laredj, 2017) :

**Acidité libre (meq/Kg) = volume en ml de NaOH versé X 10**

## 5. 4.Détermination de la teneur en eau

Il s'agit d'une propriété optique. C'est une constante qui dépend de la nature chimique de corps. La mesure de cet indice permet de connaître facilement la teneur en eau du miel. Cette mesure se fait au moyen d'un réfractomètre (Louveaux, 1959).



**Figure N°9 : Le réfractomètre de type Bellingham et Stanley (prise personnel, 2019)**

### 5.4.1. Mode opératoire

- Nettoyer et sécher le prisme du réfractomètre.
- Calibrez le réfractomètre à zéro.
- Le miel à analyser doit être homogénéisé et parfaitement liquide.
- Une goutte de miel parfaitement liquéfié écrasée entre les prismes de l'appareil suffit pour une mesure (Louveaux, 1959).

#### 5. 4.2. Expression des résultats

Les résultats obtenus sont formulés selon le table de conversion (IR-BRIX-HUMIDITE) (Dailly, 2008) (Annexe 5).

#### 5.5. Teneur en cendres

Le taux de cendre a été déterminé par la méthode gravimétrique en incinérant 5 g de miel dans un four électrique à 600°C pendant 4 heures (Djossou et al., 2013).

Ces mesures ont été exprimées en pourcentage (%) (Belhaj et al., 2015).



Figure N°10 : Four a moufle de type NABERTHARM (prise personnel, 2019).

##### 5.5.1. Mode opératoire

- Pesez 5 g de miel (M1) correspondant dans des Capsule en porcelaine sèche.
- Carbonisez-le dans le four à moufle à une température de 600°C pendant 4 heures, jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche.
- Après refroidissement, on le pèse (M1) (Djossou et al., 2013).

##### 5.5.2. Expression des résultats

Elle est calculée selon la formule suivante (Bogdanov et al., 1995) :

$$\text{Teneur en cendres} = (M_1 - M_2) / M_0 \times 100\%.$$

- **M1** : poids de la capsule avec les cendres
- **M2** : poids de la capsule vide

- **M0** : poids de miel

## 6. Méthodes d'analyse de l'activité antibactérienne

### 6.1. Méthode de diffusion en puits sur milieu solide

#### 6.1.1. Préparation des échantillons du miel

Les échantillons du miel utilisés pour les tests antibactériennes sont soit purs à **100%** ou dilués à **75%, 50%, 25%** (v/v) (**Belhaj et al., 2016**).

Les séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau distille stérile pour un volume finale de 3ml.

#### 6.1.2. Technique

Il s'agit d'un test simple de criblage et de sensibilité, en utilisant une méthode dite de diffusion avec des puits creusé dans le milieu Mueller Hinton agar (**Perez et al., 1990**).

L'action antibactérienne de différents miels a été étudiée pour les souches bactériennes choisies. Cette méthode a été adoptée pour l'estimation de l'effet inhibiteur dans le milieu Mueller Hinton agar (MH).

- Ce milieu stérile en surfusion en tubes à essai, calibré à la température de 45 à 50°C, est préalablement inoculé par  $3-7 \times 10^6$  cellules/ml de la souche à tester.
- Puis le tout est homogénéisé et couler en boîte de Pétri.
- Après solidification du milieu, des puits de **6 mm** de diamètre ont été creusés dans la gélose solidifiée et séchée à l'aide d'emporte-pièce stérile.
- Le fond des puits est colmaté par une goutte de gélose(MH) pour limiter la diffusion du miel sous la gélose.
- Chaque puits est rempli sans débordement par la même aliquote du miel á tester.
- Les boîtes sont incubées 24 h à 37°C (**Belhaj et al., 2016**).

#### 6.1.3. Expression des résultats

les auréoles d'inhibition dues à la diffusion radiale du miel sont mesurées par une règle de **20 cm** (**Belhaj et al., 2016**).

On a réalisé cette expérience 3 fois pour chaque type de miel avec les trois souches testées.



## 6. 2. Méthode de diffusion en milieu liquide

Cette technique a l'avantage de donner des pourcentages d'inhibition qui estiment plus exactement l'activité de nos échantillons du miel.

### 6.2.1. Technique

Cette méthode repose sur la préparation des dilutions de miels aux concentrations de **100, 75, 50 et 25%** (Belhaj et al., 2016).

En parallèle, l'effet antimicrobien sur les 3 souches a été également déterminé selon la méthode adoptée par (Chaibi et al., 1996).

- Les tubes contenant 10 ml de bouillon Muller Hinton (BMH) ont été additionnés par différentes concentrations du miel à tester.
- Ces tubes ont été aseptiquement inoculés par la souche à tester à la concentration finale de  $3-5 \times 10^6$  cellules /ml et mis ensuite à l'incubation à 37°C pendant 24 h.
- La lecture des résultats se fait à l'aide de spectrophotomètre pour les tubes qui détermine les densités optiques de chaque dilution (Carson et al., 1995) ; (Parente et al., 1995) ; (Torres et al., 2004).
- La densité optique (DO) a été mesurée à une longueur d'onde de 625 nm au temps initial et après 24 h d'incubation. L'inhibition est exprimée par l'indice d'inhibition (II) calculé selon la formule suivante:

$$II = 1 - dA_1 / dA_2$$

**dA<sub>1</sub>**: différence entre l'absorbance après 24 h d'incubation et l'absorbance au temps initial ensemencé et contenant l'échantillon (miel).

**dA<sub>2</sub>**: différence entre l'absorbance après 24 h d'incubation et l'absorbance au temps initial ensemencé et sans l'échantillon (Belhaj et al., 2016).

### 6.2.2. Expression des résultats

- Un **II=0** indique qu'il n'y a pas d'inhibition;
- Un **II = 1** montre une inhibition totale;
- Un **II > 1** se traduit par une lyse cellulaire;
- alors qu'un **II < 0** indiquerait qu'il y a une stimulation de la croissance (Chaibi et al., 1996) ; (Belhaj et al., 2016).

## *Résultats et discussion*

## 1. Résultats de l'analyse des paramètres physico-chimiques du miel

### 1.1. Conductivité électrique

La conductivité électrique est considérée comme étant un paramètre de grande variabilité selon l'origine florale et l'un des meilleurs paramètres de différenciation entre miels à fleurs et miellats (**Chouia, 2014**).

Les miels étudiés présentent des conductivités électriques variant entre 0,08 et 0,36 mS/cm avec une valeur moyenne de 0,22 mS/cm (**Tableau 14**). Aucun des échantillons de miel analysés n'a montré de conductivité électrique supérieure à 0,8mS/cm, ce qui montre que tous les échantillons proviennent du miel de nectar ce qui est corroboré par la teneur en cendres totales inférieure à 0,6%.

Des résultats similaires à nos résultats ont montré que la conductivité électrique des échantillons analysés est comprise entre 0,18 et  $0,64 \times 10^{-4}$  S/cm, ce qui répond aux normes de codex alimentarius (**Yahia Mahammed et al., 2015**).

La conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique. Elle est en corrélation positive avec la teneur en sels solubles. La teneur de ces derniers dans les solutions diluées est proportionnelle à la conductivité (**Belhaj et al., 2015**).

Les études montrent que la conductivité est un bon critère de qualité lié à l'origine botanique du miel et très souvent utilisé dans la routine de contrôle. La conductivité électrique des miels est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et les protéines (**Hafsa et khali, 2014**), (**Malika et al., (2005)**).

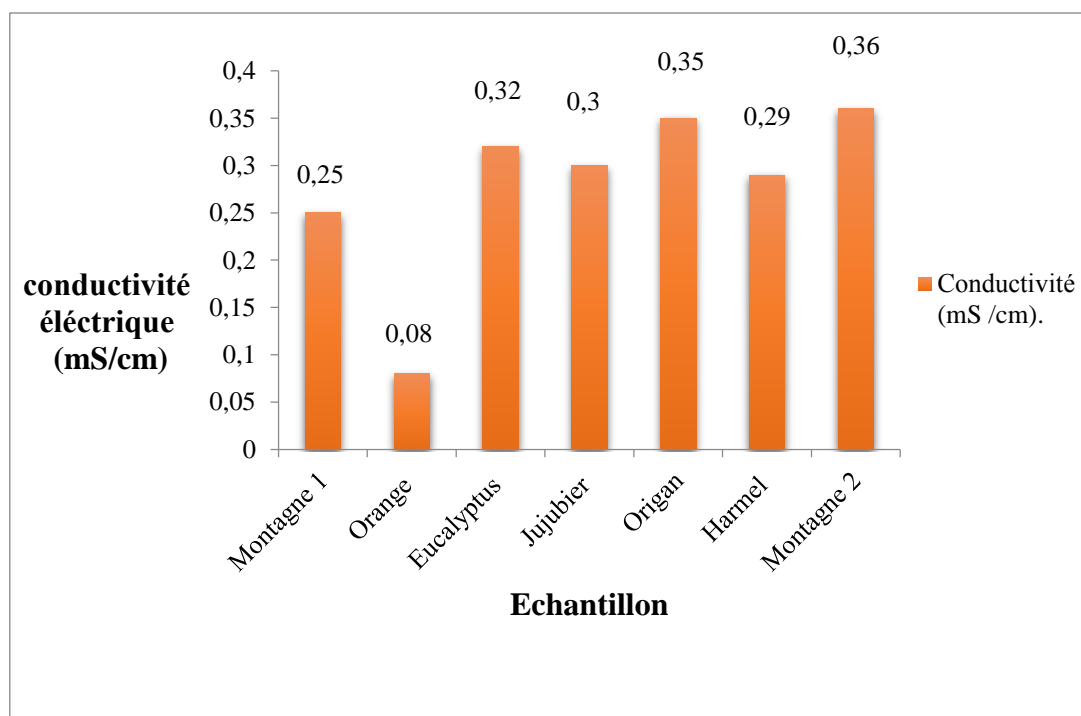


Figure N°11 : Conductivité électrique de chaque variété étudiée du miel.

## 1.2. PH

Le potentiel d'hydrogène est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu, il représente la concentration des ions  $H^+$  d'une solution (Nair, 2014).

Les valeurs de pH des miels étudiés sont comprises entre 3,71 et 4,25 (Tableau 14) avec une valeur moyenne de 3,98. Donc ces valeurs sont en accord avec les recommandations du Codex Alimentarius (3,5 et 4,5).

Ces valeurs sont similaires à celles rapportées par Malika et al., (2005), sur les miels Marocains (3,80 - 4,50), Ouchemoukh et al., (2007), sur les miels Algériens (3,49 - 4,43) et Alqarni et al., (2012), sur les miels de l'Arabie Saoudite (3,03 - 4,73). Ces résultats démontrent que le caractère acide n'est pas lié à l'origine géographique.

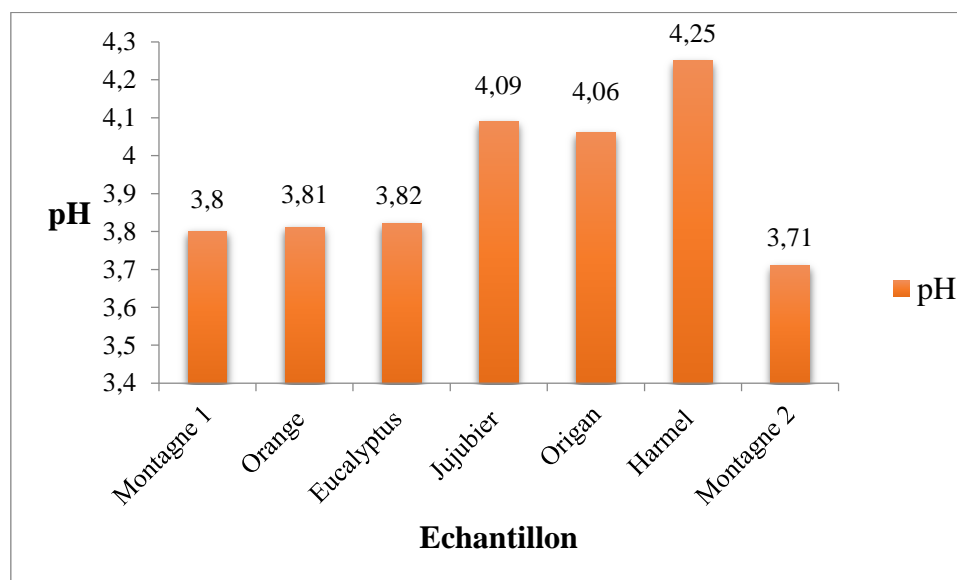
Les miels de fleurs possèdent le plus souvent des valeurs de pH faibles (3,3 à 4,6). Exception pour les miels de fleurs de châtaignier ont une valeur de pH relativement élevée allant de 5 à 6. Les miels de miellat ont, en raison de leur teneur plus élevée en sel à effet tampon, des valeurs de pH en moyenne plus élevées (4,2 à 5,5) (Bogdanov et al., 2004).

Par ailleurs, le pH est utilisé pour la différenciation entre le miel du miellat (pH élevé) et celui des fleurs (pH bas), ce paramètre est doté d'une grande importance lors de l'extraction et

du stockage du miel, comme il influence sur sa texture, sa stabilité et sa durée de vie (**Terrab et al., 2002**) ; (**Alqarani et al., 2012**).

D'autres part, l'analyse effectuée par **Makhloufi et al., (2007)**, sur 66 miels Algériens montre que le pH oscillent entre 3,40 et 6,23. La variation du pH serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Belhaj et al., 2015**).

Le miel est très acide, ce que l'on a du mal à imaginer, car à la dégustation, la saveur acide est masquée par la teneur en sucre. Et pourtant, son pH, en moyenne au-dessous de 4 est très bas. Cette particularité explique en partie sa résistance vis-à-vis des micro-organismes. Les acides organiques contribuent pour une part à la genèse de l'arôme et de la saveur des miels en y ajoutant leur note spécifique (**Marchenay, 1988**).



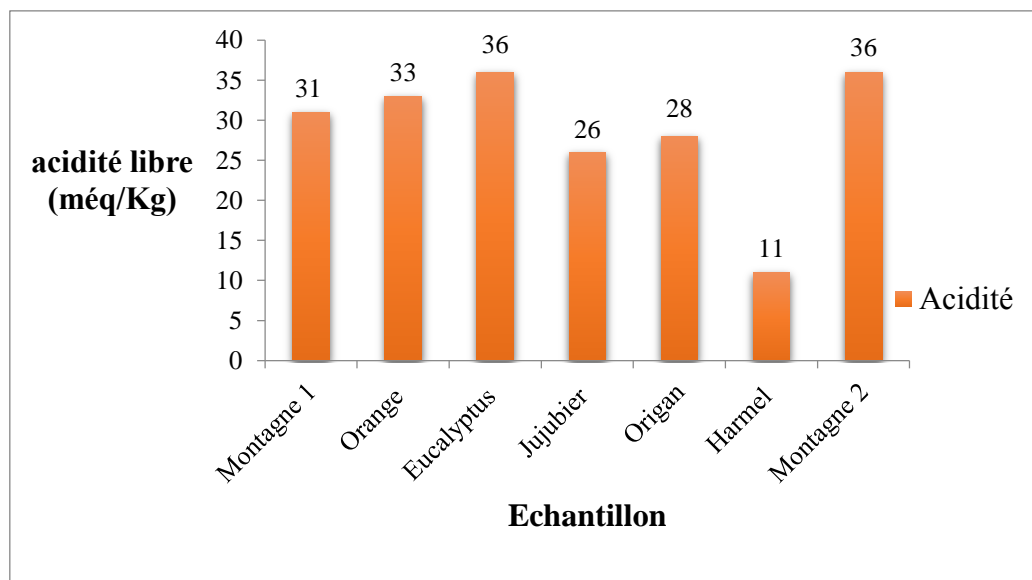
**Figure N°12:** pH de chaque type du miel.

### 1.3. Acidité libre

L'acidité du miel est due à la présence d'acides organiques, en particulier l'acide gluconique et les ions inorganiques tels que le phosphate et le chlorure (**Djossou et al., 2013**).

L'acidité libre des différents échantillons de miels varie entre 11 et 36 méq.g/ Kg avec une moyenne de 23,5 méq.g/ Kg. Donc, les résultats trouvés sont au-dessous de la limite maximale (< 50 méq.g/ Kg) préconisée par les normes de **Codex Alimentarius**.

Des résultats très proches ont été trouvés chez **Yahia Mahammed et al., (2015)**, les valeurs de l'acidité des miels analysés varient de 15.5 à 40 méq /kg. On constate que les valeurs d'acidité totale ont été dans la fourchette normale fixée par le **Codex Alimentarius (2001)**, qui est de 50 méq/kg. Cela indique l'absence de fermentations indésirables.



**Figure N°13:** L'acidité libre de chaque type du miel.

#### 1.4. Teneur en eau

L'humidité ou la teneur en eau est un facteur hautement important dans l'évaluation du degré de maturité du miel et de sa durée de vie. Généralement une quantité d'eau élevée provoque la fermentation du miel, la perte de sa saveur et de sa qualité. Elle pourrait aussi accélérer la cristallisation de certains types de miel et accroître son activité d'eau à des valeurs où certaines levures peuvent s'y développer (**Doukani et al., 2014**).

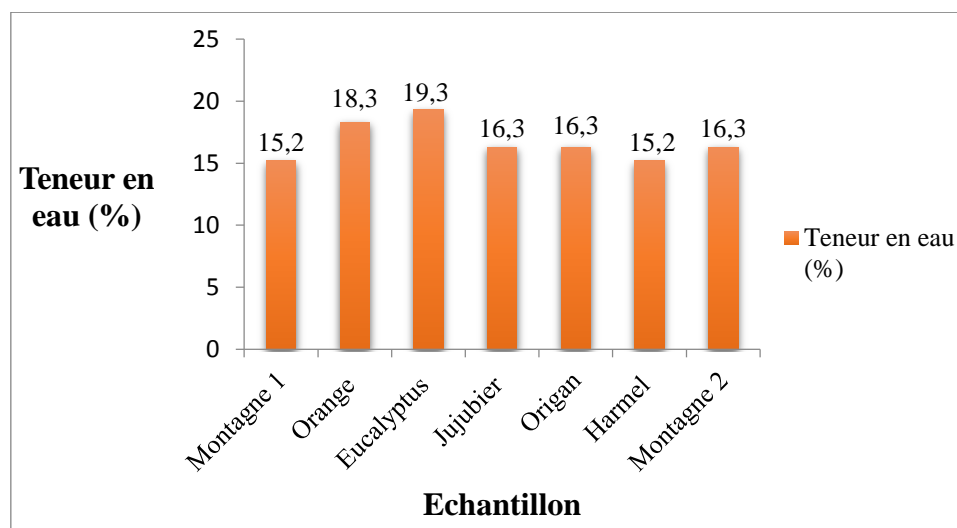
La mesure de l'indice de réfraction permet de connaître facilement la teneur en eau d'un produit en solution tel que le miel (**Louveaux, 1959**).

Après avoir converti le résultat d'indice de réfraction des 7 échantillons de miels, les valeurs de la teneur en eau se situent entre 15,2 et 19,3 % à 20°C, avec une valeur moyenne de 17,25%. Ces résultats concordent avec les normes du **codex alimentarius, (2001)**, qui prescrit une teneur maximale de 21 %.

Les humidités obtenues dans cette présente étude sont similaires à celles rapportés par **Terrab et al., (2003)**, **Ouchemoukh et al., (2007)**.

L'humidité du miel varie largement en fonction de l'origine florale, du climat, la saison de la récolte et de la teneur en eau du nectar et/ou du miellat (**Nanda et al., 2003**).

Le tableau de conversion (IR-BRIX-HUMIDITE) utilisée pour trouver la correspondance directe entre indice de réfraction et teneur en eau (**Daily, 2008**) est présenté en (**Annexe 5**).



**Figure N°14:** Résultats de la teneur en eau de chaque type du miel.

### 1.5. Cendres

La teneur en cendre est considérée comme un critère de la qualité qui indique l'origine botanique du miel (fleur, miellat ou mélange des deux) (**Amirat, 2014**).

Selon **Codex Alimentarius**, les miels qui ont une teneur en cendre inférieure à 0,6% sont des miels de nectar et qui ont une valeur comprise entre 0,6 et 1% sont des miels de miellat (**Ouchemoukh, 2003**).

La teneur en cendre mesurée des échantillons de miels étudiés varie entre 0,08 et 0,3 %, avec une valeur moyenne de 0,19%, donc tous les échantillons du miel ont une origine de nectar.

Selon l'**Union Européenne, (2002)**, la teneur en cendres des miels de nectar ne dépasse pas **0,6 %** et elle est comprise entre **0,6 et 1 %** pour les miels de miellat ou mélangés à des miels de fleurs. Pour les miels algériens sont dans l'intervalle de **0,09 à 0,45%** (**Doukani et al., 2014**). Par contre les miels marocains sont variés de **0,13 à 0,33%** (**Belhaj et al., 2015**).

Ce paramètre est principalement lié au climat et aux caractéristiques du sol (Oroian et al., 2013).

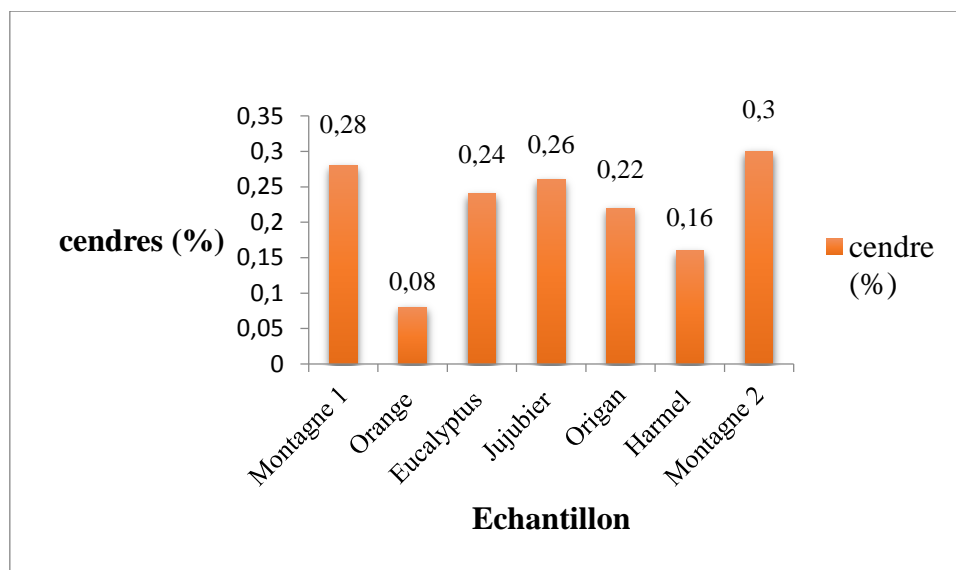


Figure N°15: Teneur en cendres de chaque type du miel.

Tableau N°14 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des 7 échantillons du miel.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	Codex Alimentarius
Conductivité (mS/cm)	0,25	0,08	0,32	0,30	0,35	0,29	0,36	≤ 0,8 mS/cm
pH	3,80	3,81	3,82	4,09	4,06	4,25	3,71	3,50 < pH < 4,50
Acidité libre (méq/kg)	31	33	36	26	28	11	36	< 50
Teneur en eau (%)	15,2	18,3	19,3	16,3	16,3	15,2	17,3	≤ 21
Cendres (%)	0,28	0,08	0,24	0,26	0,22	0,16	0,30	< 0,60



## 2. Etude bactériologique des échantillons du miel

### 2.1. Identification des souches bactériennes

L'identification est l'étape qui précède toujours l'antibiogramme, elle est prise à partir des cultures pures représentées par des colonies que l'on peut différencier par leur : taille, bord, forme, surface, aspect ...etc.

#### 2.1.1. Aspect macroscopique des colonies

**Tableau N°15:** Aspect macroscopique des colonies isolées.

Milieu	Aspect des colonies
<b>GN</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Des colonies grandes d'autres petites,</li> <li>• Arrondie,</li> <li>• A bords irréguliers,</li> <li>• Beiges, aplaties</li> </ul>
<b>King A</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Des colonies isolées de grandes de taille,</li> <li>• Aspect bombées,</li> <li>• Présence d'une pigmentation verte, défaisant dans tout la boîte de Pétri.</li> </ul>
<b>Chapman</b>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Petites colonies de couleur jaune (doré),</li> <li>• Rondes, bombées et lisses à contour régulier,</li> <li>• Filantes sous l'anse avec un virage de couleur du milieu vers le jaune.</li> </ul>

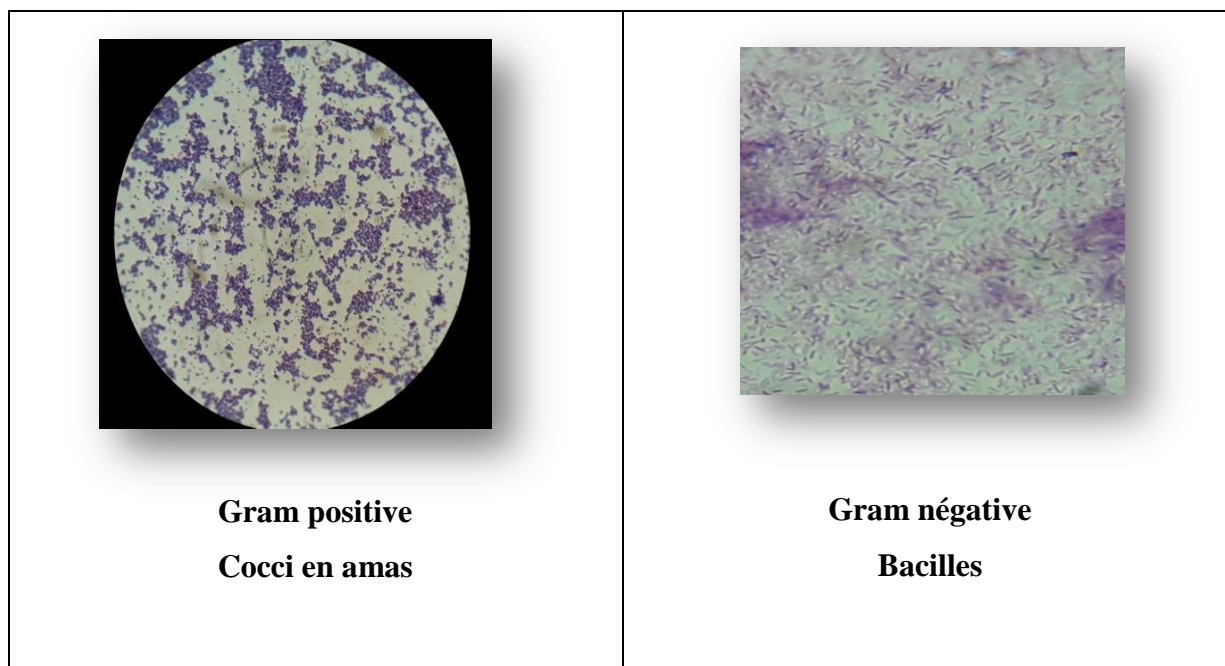
#### 2.1.2. Examen microscopique (coloration de Gram)

La coloration de Gram est un caractère essentiel de la classification des bactéries selon leur structure. Plusieurs facteurs vont intervenir dans cette coloration :

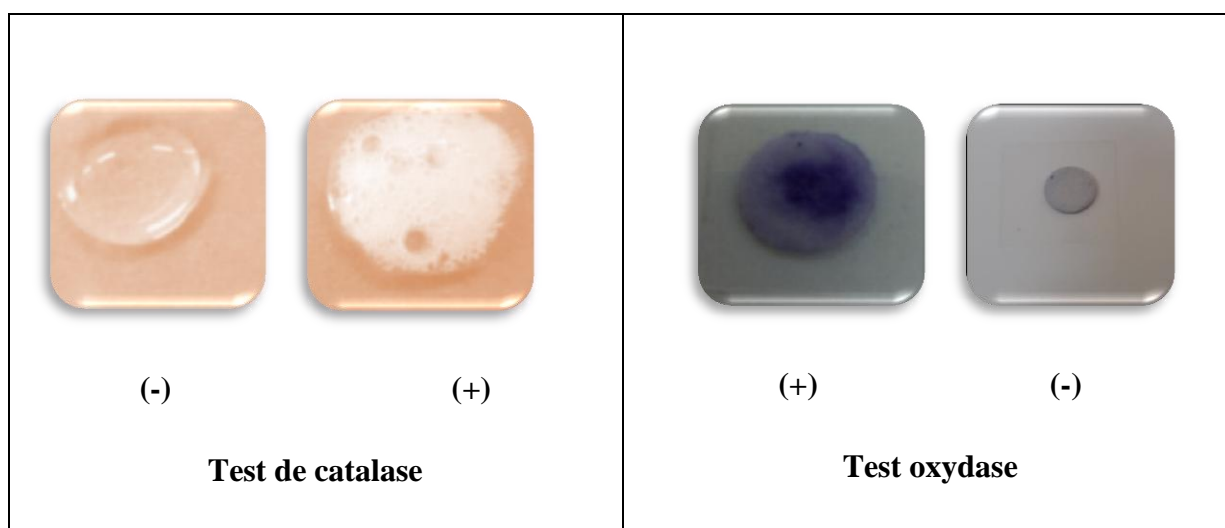
- ✓ La différence de composition chimique de la paroi bactérienne.
- ✓ La différence de perméabilité de la paroi bactérienne.

**Tableau N°16:** Résultats de l'état frais et la coloration de Gram et les enzymes respiratoires.

Milieu	L'état frais	Coloration de Gram	Enzyme
<b>King A</b>	Bacille mobile grâce à un flagelle polaire généralement unique.	Bacille rose (paroi Gram négatifs) <b>(Figure 16).</b>	Oxydase positive <b>(Figure 17).</b>  Catalase positif <b>(Figure 17).</b>
<b>GN</b>	Bacilles fins et allongés, immobiles.	Bacilles (Gram négative) <b>(Figure 16).</b>	Oxydase négative <b>(Figure 17).</b>  Catalase positive <b>(Figure 17).</b>
<b>Chapman</b>	Cocci en amas, diplocoques ou en très courtes chainettes, immobiles.	Cocci de couleur violette (Gram positive) <b>(Figure16).</b>  regroupées en amas, forme grappe de raisin.	Oxydase positive <b>(Figure 17).</b>  Catalase positive <b>(Figure 17).</b>



**Figure N°16 :** Observation microscopique après coloration de Gram des souches bactériennes étudiées (x 100) (prise personnel, 2019).



**Figure N°17:** Résultat de la recherche des enzymes respiratoires (prise personnel, 2019).

### 2.1.3. Résultats de l'identification biochimique

Les résultats de l'identification biochimique d'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* s'effectuée par la galerie API 20 E, et la souche de *Staphylococcus aureus* a été identifiées par l'API Staph.

### 2.1.3.1. Résultats de l'identification d'*Escherichia coli*



Figure N°18 : Profil biochimique de la souche d'*Escherichia coli* (Prise personnel, 2019).

### 2.1.3.2. Résultats des tests d'identification de la souche de *Pseudomonas aeruginosa*



Figure N°19: Profil biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* (prise personnel, 2019).

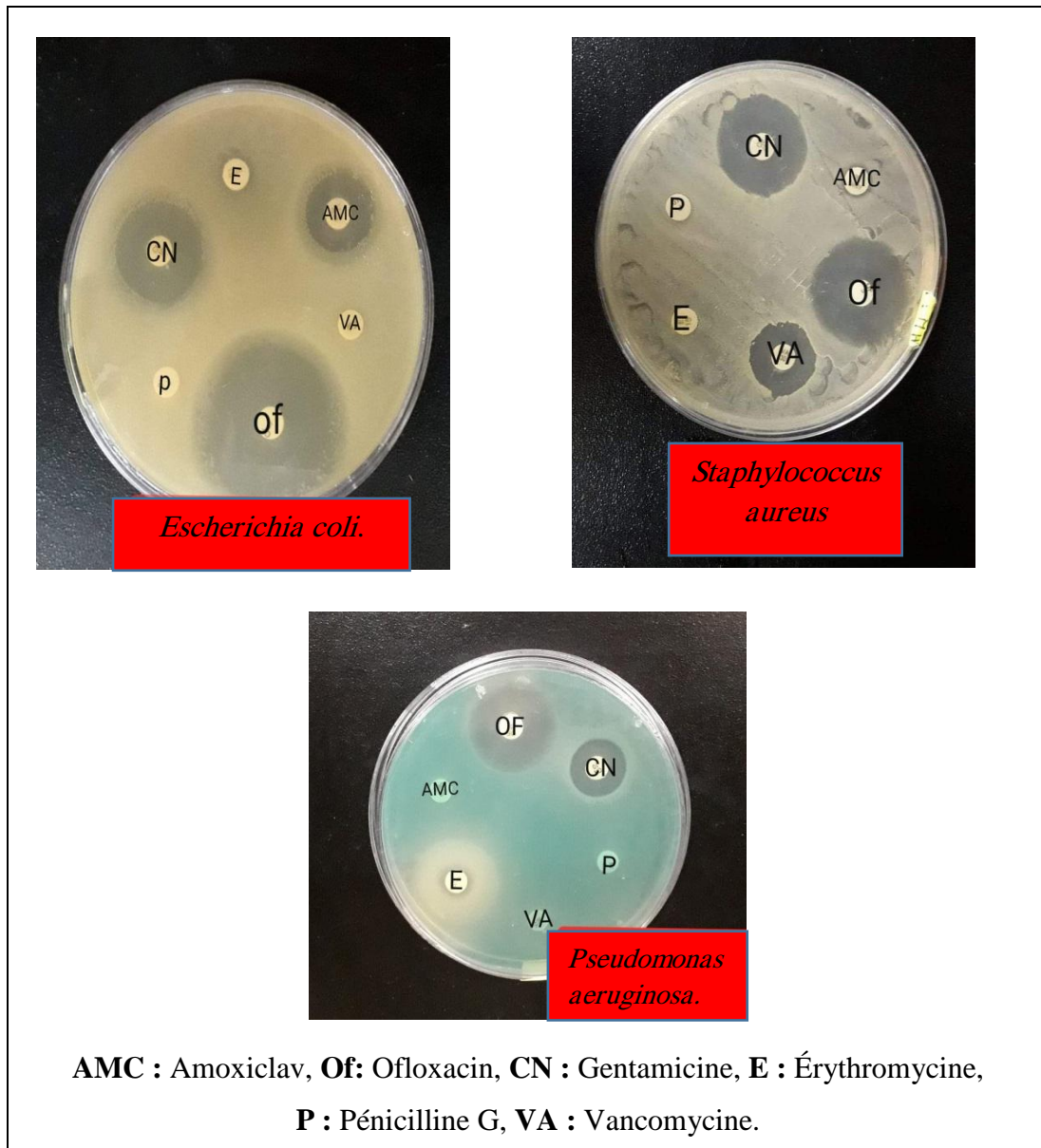
### 2.1.3.3. Résultats des tests d'identification de *Staphylococcus aureus*



Figure N°20: Profil biochimique de *Staphylococcus aureus* (prise personnel, 2019).

## 2.2. Résultat de l'antibiogramme

L'antibiogramme c'est une technique permet la détection de la sensibilité ou la résistance des souches testées aux antibiotiques. Le profil de résistance de ces souches a été déterminé par la méthode de diffusion sur milieu gélosé (MH) (Figure 21).

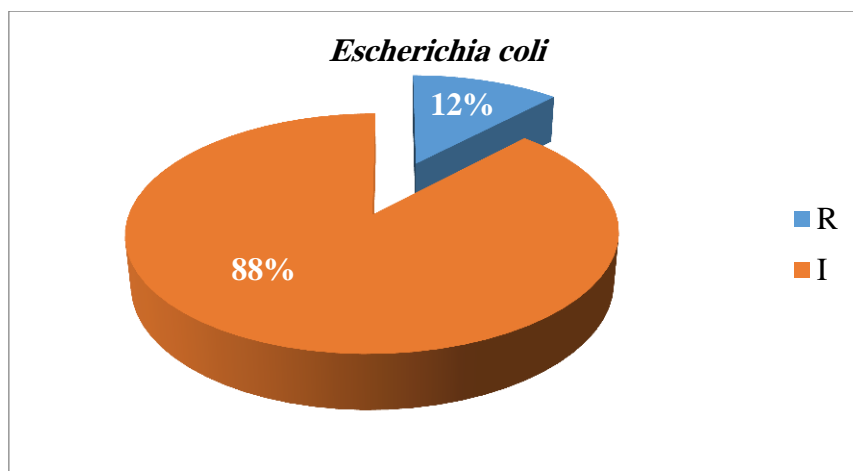


**Figure N°21:** Résultat de l'antibiogramme sur les trois souches bactériennes étudiées (**prise personnel, 2019**).

**Tableau N°17:** Résultat de l'antibiogramme pour *Escherichia coli*.

Antibiotique	CN	VA	E	Of	AMC	P
<b>Zone d'inhibition en mm</b>	20	0	9	29	17	0
<b>Catégorie Clinique</b>	I	R	R	I	I	R

D'après les résultats obtenus, la souche *d'Escherichia coli* a été résistante à **12%** aux antibiotiques testés tels que : Vancomycine, Érythromycine, Pénicilline et elle présente une résistance intermédiaire de **88%** pour les antibiotiques suivants : Gentamicine, Ofloxacin, amoxiclav (**Figure 22**).



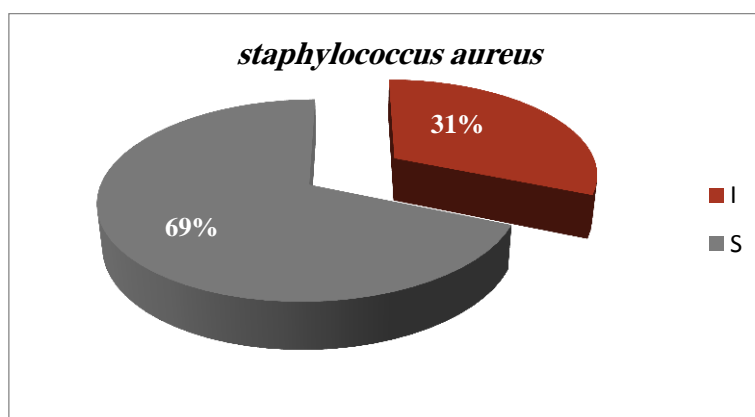
**Figure N°22:** Taux de résistance *d'Escherichia coli*.

Alors que la souche *d'Escherichia coli* identifié par **Athmani et al., (2018)**, est sensible à **50%** aux antibiotiques testés tels que : Amikacine, Gentamicine, Cefoxitine, Kanamycine, Vancomycine, Erythromycine, chloramphnicole . Elle présente une résistance intermédiaire de **14,29%** à la Streptomycine, Colistine et elle présente aussi une résistance de **35,71%** pour les antibiotiques Cefozaline, Ampicilline, Penelline G, Oxacilline et Acide fusidique.

**Tableau N°18:** Résultat de l'antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*.

Antibiotique	CN	VA	E	Of	AMC	P
<b>Zone d'inhibition en mm</b>	20	14	0	22	8	0
<b>Catégorie Clinique</b>	I	S	R	S	S	R

D'après les résultats obtenus, la souche *Staphylococcus aureus* a été sensible à **68,75%** aux antibiotiques testés tels que : Vancomycine Ofloxacin, amoxiclav et elle présente une résistance intermédiaire de **31,25%** pour l'antibiotiques suivant : Gentamicine (**Figure 23**).



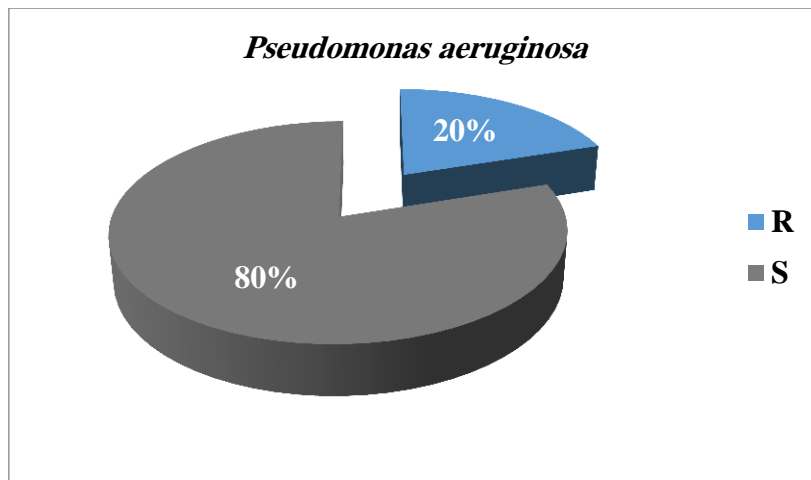
**Figure N°23 :** Taux de résistance *Staphylococcus aureus*.

Par contre la souche de *Staphylococcus aureus* identifiée par **Brahmia et al., (2016)**, est résistante à **5%** aux antibiotiques testés tels que : l'Acide Fusidique et elle présente une résistance intermédiaire de 5% à la Colistine et elle est sensible à 90% pour les autres antibiotiques.

**Tableau N°19:** Résultat de l’antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotique	CN	VA	E	Of	AMC	P
Zone d’inhibition en mm	15	0	10	25	0	0
Catégorie Clinique	S	R	R	S	R	R

D’après les résultats obtenus, la souche de *Pseudomonas aeruginosa* a été résistante à **20%** aux antibiotiques testés tels que: Vancomycine, Érythromycine, amoxiclave, Pénicilline et elle présente une sensibilité de **80%** pour les antibiotiques suivants : Gentamicine et Ofloxacin (**Figure 24**).



**Figure N°24 :** Taux de résistance de *Pseudomonas aeruginosa*.

Par contre la souche de *Pseudomonas aeruginosa* testé par **Brahmia et al., (2016)**, est sensible à **22%** aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, , Amikacine, Colistine, Fosfomycine et elle présente une résistance intermédiaire de **22%** à la Tetracycline, Kanamycine, Streptomycine, Erythromycine, et elle présente aussi une résistance de **56%** pour Ampicilline, Cefoxitine, Penelline G, Amoxyciline, Oxacilline, Sulphametho- Oxazole/ Triméthoprim, Acide-fusidique, Cefozaline, Vancomycine.



### 3. Activité antibactérienne des échantillons du miel

Ces études ont été réalisées *in vitro* dans le but de déterminer les propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes des sept types de miel testés à des concentrations variables. Cette étude expose les résultats relatifs à l'action de sept miels sur la croissance de ces 3 souches bactériennes de référence.

#### 3.1. Méthode de diffusion en puits

Cette technique est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles. Elle est basée sur l'utilisation des puits comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner (Gulçin et al., 2004).

L'évaluation de l'effet inhibiteur des sept miels testés sur les trois souches bactériennes est exprimée par le diamètre de l'auréole d'inhibition. Les résultats obtenus pour les trois souches testés sont résumés dans les tableaux 20, 21, 22.

##### A. Effet antibactérien des échantillons du miel sur *E. coli*

Les zones d'inhibition obtenues pour *E. coli* peuvent aller de 17 à 50 mm de diamètre. Tous les miels testés étaient efficaces à toutes les concentrations avec des diamètres d'inhibition très rapprochés. Mais la valeur maximale a été attribuée aux miels de montagne (1) testés à la concentration 100%. L'action antimicrobienne la plus faible a été enregistrée par le miel d'origan et Montagne (1) à la concentration 25%, montrant ainsi un diamètre d'inhibition de 17 mm (Figure 25).

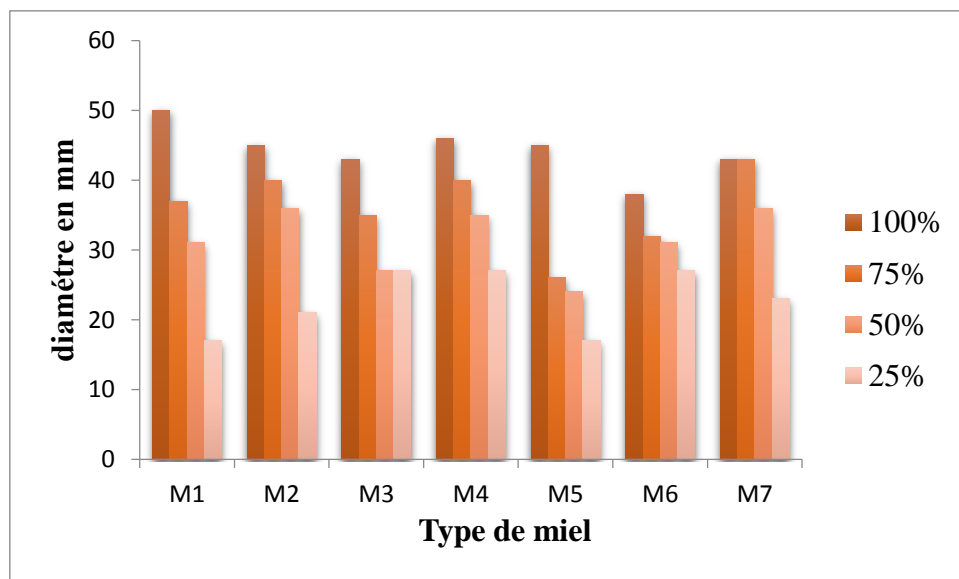
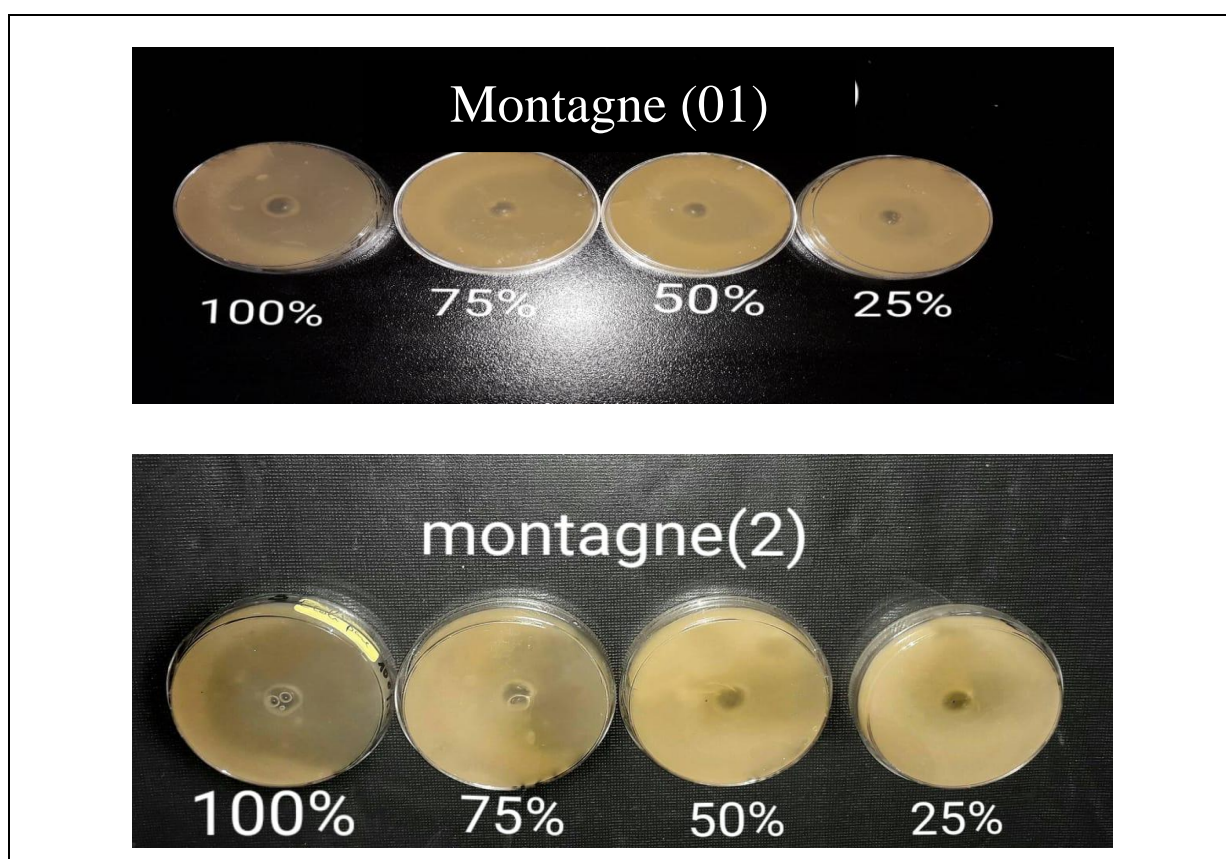


Figure N°25: Effet antibactérien du miel sur *E. coli* en milieu solide.

**Tableau N°20 :** Diamètre de zone d'inhibition chez *Escherichia coli*.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
100%	50	45	43	46	45	38	43
75%	37	40	35	40	26	32	43
50%	31	36	27	35	24	31	36
25%	17	21	27	27	17	27	23

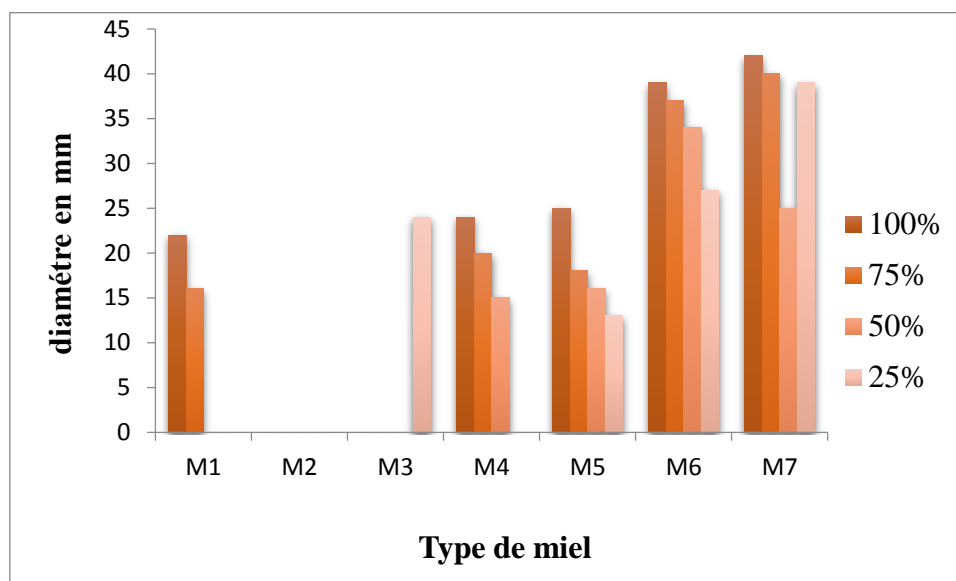


**Figure N°26:** Effet inhibiteur de quelques échantillons du miel sur *Escherichia coli* en milieu solide.

### B. Effet antibactérien des échantillons du miel sur *S.aureus*

Pour *S. aureus*, les zones d'inhibition varient entre 0 à 42 mm de diamètre. Les miels de montagne (2), de l'origan et de Harmel ont une activité antibactérienne élevée contre *S.aureus* à toutes les concentrations utilisées. Tandis que, On a seulement une activité inhibitrice à

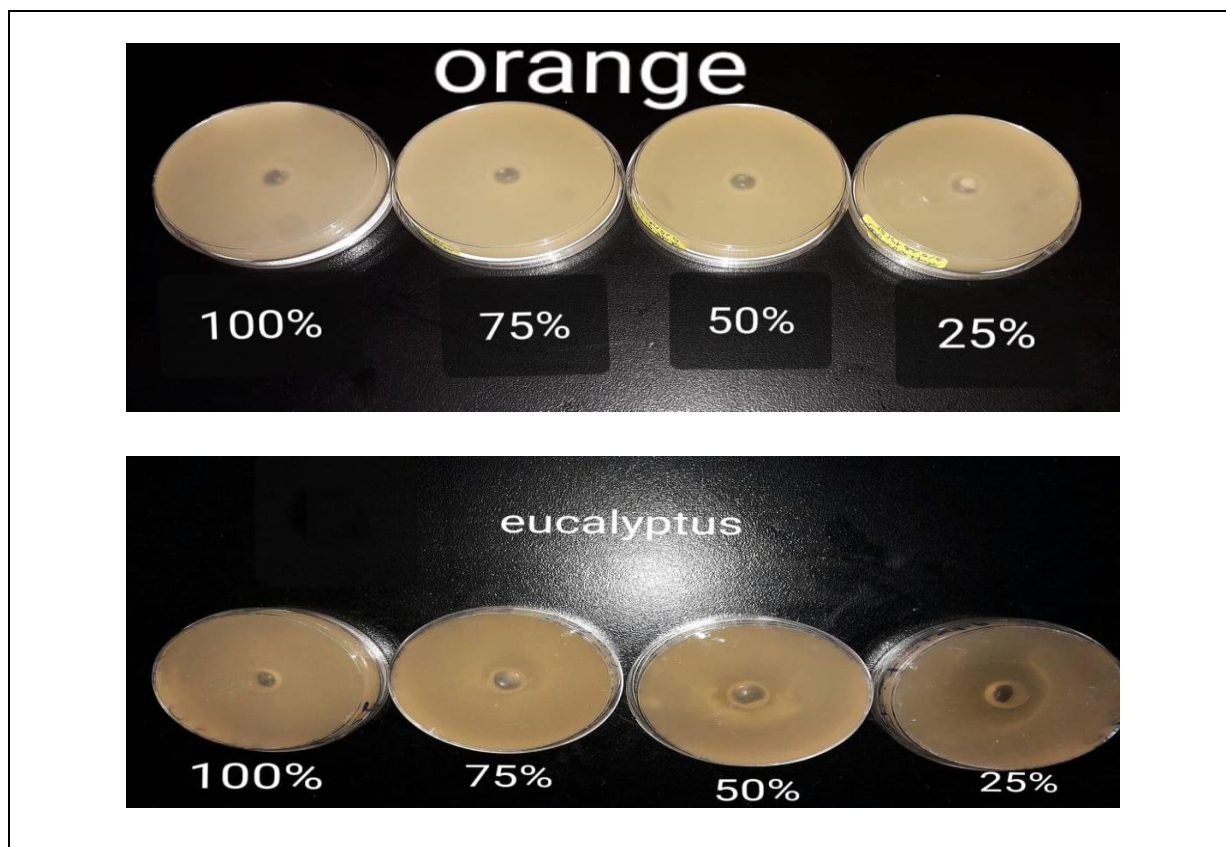
25% pour le miel d'eucalyptus. A l'exception, le miel de l'oranger qui avait une action nulle à toutes les concentrations (**Figure 27**).



**Figure N°27:** Effet antibactérien du miel sur *Staphylococcus aureus* en milieu solide.

**Tableau N°21 :** Diamètre de zone d'inhibition chez *Staphylococcus aureus*.

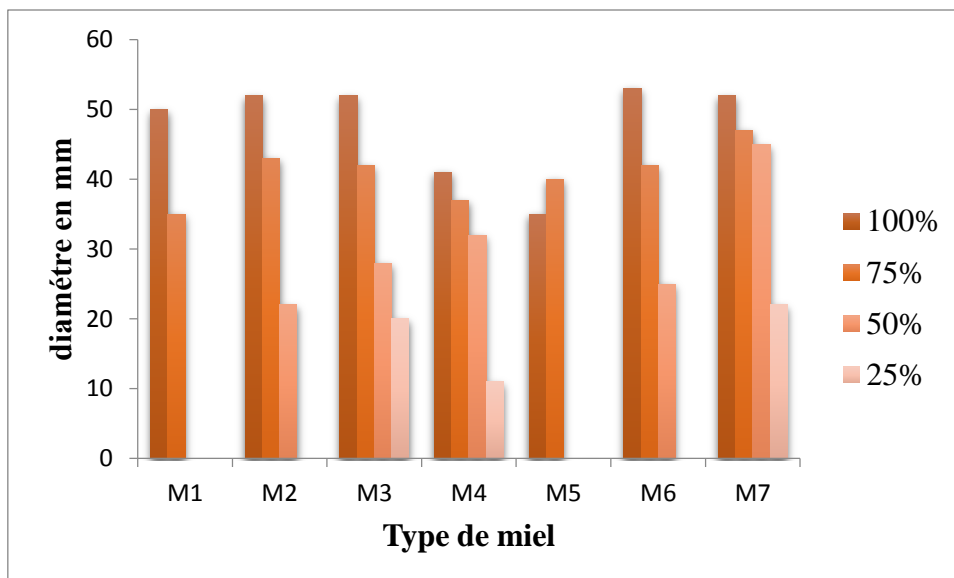
Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>100%</b>	22	0	0	24	25	39	42
<b>75%</b>	16	0	0	20	18	37	40
<b>50%</b>	0	0	0	15	16	34	25
<b>25%</b>	0	0	24	0	13	27	39



**Figure N°28:** Effet inhibiteur de quelques échantillons de miel sur *Staphylococcus aureus* en milieu solide.

### C. Effet antibactérien des échantillons de miel sur *P. aeruginosa*

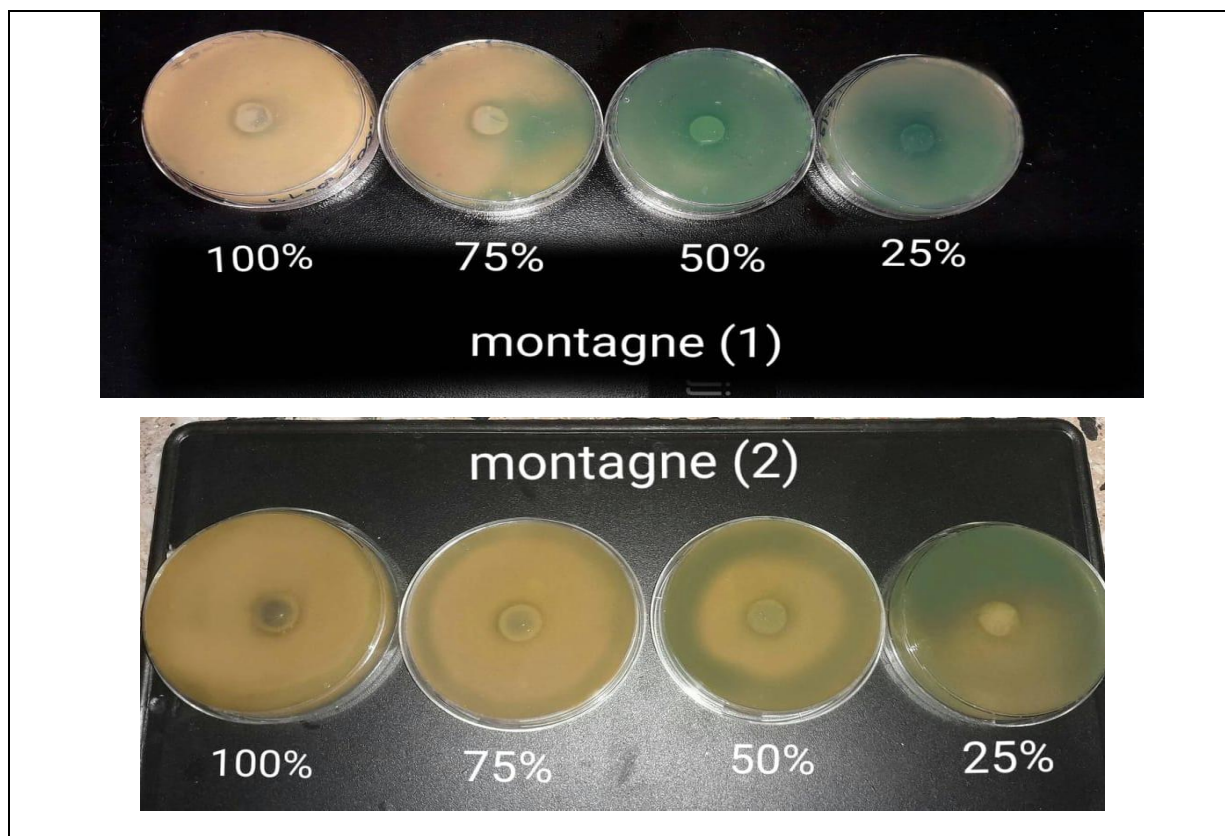
*P.aeruginosa* présente une activité inhibitrice de diamètre **0 – 53 mm**. Le miel d'Harmel atteint la valeur maximale égale **53 mm**. Aussi, le miel d'eucalyptus, de l'oranger et de montagne (1) ont une activité presque égale au max entre **50 - 52 mm** à **100%**. La zone d'inhibition est nulle à **50%** pour le miel de montagne (1) et l'origan et à **25%** pour le miel d'oranger et Harmel (**Figure 29**).



**Figure N°29:** Effet antibactérien du miel sur *Pseudomonas aeruginosa* en milieu solide.

**Tableau N°22 :** Diamètre de zone d'inhibition chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>100%</b>	50	52	52	41	35	53	52
<b>75%</b>	35	43	42	37	40	42	47
<b>50%</b>	0	22	28	32	0	25	45
<b>25%</b>	0	0	20	11	0	0	22



**Figure N°30:** Effet inhibiteur de quelque échantillon du miel sur *Pseudomonas aeruginosa* en milieu solide.

L'importance d'inhibition peut être expliquée d'une part par la sensibilité de chaque souche vis à vis des différentes concentrations en miels testés. Et d'autre part par la composition du miel lui-même et la teneur en molécules bioactives doté du pouvoir antibactérien.

### 3.2. Méthode de diffusion en milieu liquide

Le **tableau 23** indique que les divers miels testés ont montré une activité accentuée sur *E.coli* pour les concentrations **100%,75%** et **50%**. Cependant, à **25%**, les inhibitions trouvées étaient très minimes. Dans ce cas, l'indice d'inhibition obtenu n'a pas excédé 0,26 pour tous les miels.

Le miel d'origan, de Harmel et de montagne 1 et 2 à **50%** montrent une inhibition totale de la bactérie. Par contre, les miels de montagne d'Origan et d'Harmel à **25%** ont montré un indice d'inhibition négatif qui indique une stimulation de la croissance.

**Tableau N°23 :** Indice d'inhibition (II) chez la souche *Escherichia coli*.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>100%</b>	1,036	1,079	1,138	1,070	1,045	1,177	1,027
<b>75%</b>	1,050	1,116	1,110	1,012	1,040	1,123	1,050
<b>50%</b>	1,007	0,607	0,804	0,326	1,088	1,103	1,056
<b>25%</b>	0,105	0,004	0,081	- 0,021	-0,360	0,240	0,261

Le **tableau 24** indique que les différents échantillons testés ont montré un indice d'inhibition presque égale à 1 sur *S. aureus* pour les concentrations **100%** ce qui indique une inhibition totale de la bactérie.

L'indice d'inhibition est presque égal à **1** pour le miel d'origan à toutes les concertations. Même chose pour le miel de montagne (1), d'eucalyptus et d'Harmel à **100%** et **75%** ; qui se traduit par une inhibition totale.

Les miels de montagne (2) et Harmel à **25%** ont donné une inhibition plus faible avec des indices d'inhibition de **0,322** et **0,439** respectivement.

**Tableau N°24 :** Indice d'inhibition (II) chez la souche *Staphylococcus aureus*.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>100%</b>	1,009	1,026	1,066	0,992	1,023	1,006	0,929
<b>75%</b>	1,006	0,963	1,048	1,020	1,006	1,012	0,932
<b>50%</b>	0,790	0,802	0,888	0,812	1,025	0,993	0,921
<b>25%</b>	0,600	0,648	0,737	0,512	1,033	0,322	0,439

D'ailleurs, pour *P. aeruginosa*, l'activité inhibitrice est supérieure à 1 pour le miel d'eucalyptus à toutes les concertations et pour le miel de montagne (1), d'oranger et



d'Harmel à **100%** sauf d'origan à **50%** et de montagne (1) à **75%**. Qui s'exprime par une destruction cellulaire.

A **25%**, tous les types de miel est inférieur à **0** sauf avec le montagne (1) a montré l'indice d'inhibition le plus faible qui indiquerait qu'il y a une stimulation de la croissance.

En général, les données de l'indice d'inhibition montrent que les concentrations en miel affectent différemment la croissance de ces trois souches. Cependant, pour les concentrations les plus élevées notamment **100%** et **75%**, les différents miels ont donné tous, une inhibition prononcée, avec un **II > 0,99** dans la plupart des cas (**Tableau 25**).

**Tableau N°25:** Indice d'inhibition (II) chez la souche *Pseudomonas aeruginosa*.

Miel	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7
<b>100%</b>	1,059	1,111	1,130	0,944	0,956	1,028	0,876
<b>75%</b>	1,042	0,964	1,101	0,809	0,949	0,983	0,796
<b>50%</b>	0,615	0,410	1,119	0,543	1,046	0,637	0,794
<b>25%</b>	0,315	-0,717	1,137	-1,138	-0,605	-1,483	0,528

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel dans cette étude, on peut constater que toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des différents échantillons de miel, avec des différences d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne.

L'effet antibactérien du miel est plus important avec l'échantillon à l'état pur **100%** et il diminue avec les dilutions successives. Nous observons qu'à plus faible concentration **25%**, la majorité des souches bactériennes sont poussés en présence du miel. Cela pourrait être lié à une dilution des ingrédients actifs impliqués dans l'action antibactérienne, le rendant ainsi inefficace (**Nassar et al., 2012**).

L'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu important en enzyme, le glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. L'enzyme reste active tous le temps de la transformation du nectar en



miel. Dans le miel mûr, l'enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée. Cette idée a été annoncée depuis plus de 14 siècles par notre prophète MOHAMED qui insiste sur "boire du miel dilué".

D'après **Melliou et Chinou (2005)**, l'activité antibactérienne est révélée particulièrement efficace à fortes doses. Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes.

Premièrement, cette solution concentrée de glucides retire après l'absorption d'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes (**Bogdanov, 1997**).

Deuxièmement, son degré d'acidité, valeur du pH le plus souvent faible inhibe la multiplication de la bactérie (**Torres et al., 2004**) ; (**Couquet, 2013**). En outre, Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibitive du miel (**Adcock, 1962**) ; (**Mandel et al., 2012**).

Le miel a deux types d'effets sur les bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *Serratia marcescens* et *Pseudoonas aeruginosa*) : un effet bactéricide sur les zones les plus proches des disques imprégnés du miel et un effet bactériostatique sur les zones relativement loin des disques. Dans le premier cas, la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués (**Merah et al., 2010**).

Parmi les bacilles à Gram négatif, nous pouvons noter une faible activité du miel sur les souches de *K. pneumoniae* et une activité plus bactériostatique que bactéricide sur *P. mirabilis* le miel semble avoir une activité importante sur les bacilles à Gram négatif non fermentant pourtant très fréquemment multi résistants (**Merah et al., 2010**).

Parmi les cocci à Gram positif, le *Staphylococcus aureus* sont très sensibles au miel. Les résultats observés pour cette souche étaient moins convaincantes par rapport aux autres études à cause de l'absence de l'activité antibactérienne pour le miel d'orange. Le miel inhibe la croissance de différents germes dont *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* et *E. coli* de façon proportionnelle à la dose. Il présenterait un intérêt bactériologique en diminuant la colonisation des plaies par les germes (**Merah et al., 2010**).

De nombreuses recherches ont été effectuées pour déterminer un spectre antibactérien du miel en vue de l'appliquer sur des plaies contaminées par les germes sensibles (**Assie, 2004**).

D'après nos résultats, les souches *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les plus sensibles à l'effet de miel tandis que *Staphylococcus aureus* est moyennement sensible.

Nos résultats sont similaires à ceux des études de **(Basualdo et al., 2007)**, qui a trouvé une activité de **93%** d'échantillons du miel contre *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibitions allant de **5 à 24 mm** ce qui concorde avec nos résultats.

**Sib, (2007)** testé l'activité antibactérienne du miel sur deux types de Staphylocoque (*S. aureus* sauvage et *S. aureus* ATCC 25923), elle a trouvé des zones d'inhibitions allant de **29.34 mm à 34 mm** Donc ces résultats obtenus montrent que la souche clinique est moins sensible à l'action du miel par rapport de la souche de référence (zone d'inhibition de **20 mm** pour la dilution de **100%**).

On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram positive et non sur les bactéries à Gram négative, et d'autre part de la composition du miel lui-même **(Merah et al., 2010)**.

La composition du miel elle-même dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie **(Prost 1979)**. D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités tels que :

- L'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
- La nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation **(Verdan, 2002) ; (Biri, 1999)**;
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production du miel ;
- Le mode d'extraction de miel ;
- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes du miel et leur efficacité **(Caillas, 1974)**.

# *Conclusion*

## Conclusion

Le miel est une substance naturelle très complexe, d'une très grande diversité, caractérisant par différentes propriétés bienfaisantes, bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

Dans notre étude, nous avons répondu à l'objectif consistant à mettre en évidence l'activité antibactérienne de sept échantillons du miel in vitro vis-à-vis les souches microbiennes : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*, isolée et identifiée au niveau du laboratoire de bactériologie à l'Hôpital de « IBN ZOHR » de Guelma.

Ce travail a permis d'étudier certains paramètres physicochimiques (conductivité électrique, pH, acidité libre, teneur en cendres et teneur en eau) de miel récoltés de différents endroits. Les résultats obtenus indiquent que les échantillons étaient de bonne qualité chimique, répondant aux normes de **Codex Alimentarius**.

Sous un autre angle, l'évaluation de l'effet du miel par la méthode de diffusion en milieu solide, les miels testés sont dotés d'une large activité antibactérienne sur les deux souches testées : *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

Par contre, la souche *S. aureus* est moins sensible aux divers types de miels, Cependant, le miel d'orange n'a donné aucune inhibition sur cette souche.

Les résultats de l'étude en milieu liquide ouvrent la voie à la compréhension de l'activité antibactérienne des différents types de miel qui affectent diversement la croissance de ces trois souches. Aux concentrations de **100%** et **75%**, les différents miels ont tous montré une activité antimicrobienne accentuée, Cependant, **à 25%**, leur pouvoir inhibiteur était très minime pour tous les miels. Le miel de montagne et d'eucalyptus était le plus efficace sur les trois souches pour les quatre souches testés. Alors que le miel d'orange, d'origan, de jujubier et d'Harmel ont donnés l'effet antimicrobien le plus faible.

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

# Résumé

## Résumé

Le miel est la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar ou du miellat. Sept échantillons de miel naturel d'origine Algérien de la région de Tipaza et de Guelma ont été testés pour leurs effets antimicrobiens sur trois souches bactériennes d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa*.

La détermination de l'origine botanique a été réalisée par une analyse physico-chimique (conductivité électrique, pH, acidité libre, teneur en cendres et teneur en eau) a permis de confirmer que les miels étudiés ont pour origine miel de nectar et répondent aux normes exigées par le **Codex Alimentarius**.

L'évaluation de l'effet antibactérien du miel a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide et en milieu liquide en utilisant des concentrations de miel à **25, 50, 75 et 100%**. Les résultats obtenus de la technique de diffusion en milieu solide a montré que tous les types de miel ont inhibé la croissance d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas aeruginosa* à tous les concentrations testées, excepté le miel de l'orange qui a exprimé un pouvoir inhibiteur avec la souche *S. aureus* pratiquement nul à tous les concentrations.

Cependant, les tests en milieu liquide révèlent que les divers miels affectent inégalement la croissance des trois souches. Le pouvoir inhibiteur était très prononcé à la concentration de **100% et 75%** dans la plupart des cas. C'est également *S. aureus* qui s'est montré le plus résistant. Le miel de montagne et d'eucalyptus était le plus efficace sur les trois souches pour les quatre concentrations testées.

**Mots clés:** Miel, paramètres physico-chimiques, activité antimicrobienne, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## Abstract

Honey is the foodstuff produced by honeybees from the nectar or honeydew. Seven samples of natural honey Algerian origin from the region of Tipaza and Guelma were tested for their antimicrobial effect on three bacterial strains, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. It comes from a levy carried out at the level of the Hospital of « IBN ZOHR ».

The determination of the botanical origin was carried out by a physico-chemical analysis (electrical conductivity, pH, a free acidity, water content, levels of ash) confirmed that the studied honeys were originated from nectar and required by the **Codex Alimentarius**.

The evaluation of the antibacterial effect of honey has been carried out by the method of the solid method and liquid-method using concentrations of honey to **25, 50, 75, and 100%**.

The results obtained from the solid medium diffusion technique showed that all types of honey inhibited the growth of *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa* at all tested concentrations, except for orange honey, which expressed no inhibitory potency. With the *S. aureus* strain at all concentrations.

However, the tests in liquid medium reveal that the various honeys unevenly affect the growth of the three strains. The inhibitory power was very pronounced at the concentration of **100%** and **75%** in most cases. *S. aureus* was also the most resistant. Mountain and eucalyptus honey was the most effective on all three strains for the four tested concentrations.

**Keywords:** Honey, physicochemical Parameters, antimicrobial activity, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

## ملخص

العسل هو الغذاء الذي ينتجه النحل من رحيق العسل أو المغثر. تم اختبار سبع عينات من العسل الطبيعي من أصل جزائري من منطقة تيبازة و قالمة لمعرفة آثارها المضادة للميكروبات على ثلاث سلالات بكتيرية من *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* و التي تم عزلها و تحديد نوعها في مستشفى « ابن زهر».

تم تحديد الأصل النباتي من خلال التحليل الفيزيائي الكيميائي (التوصيل الكهربائي، درجة الحموضة، الحموضة الحرة، محتوى الرماد ومحتوى الماء) للتأكد من أن العسل المدروس ينبع من الرحيق ويلبي المعايير المطلوبة من قبل الدستور الغذائي.

تم تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للعسل بواسطة طريقة الانتشار في الوسط الصلب والوسط السائل باستخدام تركيزات العسل مع 25 ، 50 ، 75 و 100 %.

أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها من تقنية الانتشار في الوسط الصلب أن جميع أنواع العسل تثبتت نمو *Escherichia coli* و *Pseudomonas aeruginosa* في جميع التركيزات المختبرة ، باستثناء عسل البرتقال ، الذي لم يعبر عن قوته المثبطة مع *Staphylococcus aureus* في جميع التركيزات.

ومع ذلك ، فإن الاختبارات في الوسط السائل تكشف أن مختلف أنواع العسل تؤثر بشكل غير متساوي على نمو السلالات الثلاثة. كانت القوة المثبطة واضحة للغاية بتركيز 100 % و 75 % في معظم الحالات. وكان *Staphylococcus aureus* الأكثر مقاومة. عسل الجبل و الكاليتوس هما الأكثر فعالية في جميع السلالات الثلاثة بالنسبة للتركيزات الأربعة المختبرة.

**الكلمات المفتاحية :** العسل ، خصائص فيزيوكيميائية، نشاط مضاد للميكروبات, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.



# Références bibliographiques

## Références bibliographiques

- **Abid, M. (2017).** «Évaluation de l'activité antifongique des miels Algériens vis-à-vis deux souches de *Candida albicans* ».vol:84 ; p:15 ; 20.
- **Adcock, D. (1962).** «The effect of catalase on the inhibine and peroxide values of various honeys». J. Apicult. Res, vol.1, p.38-40.
- **Allen, K.L., Molan, P.C., Reid, G.M. (1991).** «A survey of antibacterial activity of some New Zealand honeys». J Pharm. Pharmacol, vol.43, p.817-822.
- **Alqarni, A.S., Owayss, A.A., and Mahmoud, A.A. (2012).** Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. Arabian Journal of Chemistry, 11: 13.
- **Alphandéry, R. (1992).** La route du miel. Le grand livre des abeilles et de l'apiculture. Ed Nathan. P 262.
- **Altman, N. (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.
- **Amirat, A. (2014).** Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel de *Thymus algeriensis* de la région de Tlemcen. Université Abou-Bekr Belkaid .Tlemcen.
- **Amri, A. (2016).** «Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique». Université Baji Mokhtar –Annaba. Thèse de doctorat.
- **Anne, C., Adrien, B., Patrick, M., Isabelle, F. (2015).** «Résultats des plans de surveillance et de contrôle des résidus de pesticides dans le miel en 2014 et 2015».p :49.
- **Annie, K. (2013).** «The therapeutic effects of honey». The Plymouth student Scientist, vol.6, n° 1, p.376-385.
- **Aiwaili, N.S. (2004).** «Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions». Medical Science Monitor, vol.10, n°8, p.94-98.
- **Athmani, M., Elmesaadi, H., Tifouti, O. (2018).** L'effet antibactérien du miel et de la propolis sur les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales. Mémoire de Master. Université 8 Mai 1945, Guelma. 68p.
- **Badet, C and Quero, F. (2011).** « In vitro the effect of Manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria». Anaerobe, vo.17, p. 19-22.

- **Balas, F. (2015).** «Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale revue de la littérature». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine. Université Nice. vol :86 ;p :27.
- **Bazoche, M. (2011).** «Les produits de la ruche». Edition GFA. Paris, 159 p.
- **Belhaj, O., Elabbadi, I., Ouchbani, T. (2016).** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. Rev Mar Sci Agron Vét ; 4 (3): 12-22.
- **Belhaj, O., Oumato, J., Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. Rev Mar Sci Agron Vét ; 3 (3):71-75
- **Benaziza, D.B., Schweitzer, P. (2010).** Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie. Cah Agric ; 19(6) :432-438.
- **Bergman, A., Yanai, J., Weiss, J., Bell, D., David, M.P. (1983).** «Accélération de blessure guérissant par application topique de miel: Un modèle animal». Le journal Américain de la chirurgie, vol. 45, p. 374-376.
- **Bertoncel, J., Dobersek, U., Jammik, M., Golob, T. (2007 )** . Evaluation Of The Phenolic Content, Antioxidant Activity And Colour Of Slovenian Honey. Food Chemistry.105: 822–828.
- **Blanc, M. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- **Bogdanov, S., Bleri, K Et Figar, M.(1995).** Miel: Définition Et Directives Pour l'analyse Et l'appréciation. Dans Le Revue Centre Suisse De Recherche Apicole, Pp: 9.
- **Bogdanov, S., Martin, P., and Lullmann, C. (2002).** Harmonised methods of the international honey commission. Swiss Bee Research Centre, FAM, Liebefeld Switzerland.59p.
- **Bogdanov, S., Pascale, B. (2001).** « Propriétés antibiotiques naturelles du miel». Centre Suisse de recherché: Apicole, p. 1-8.
- **Bogdanov, S. (1997).** «Nature and origin of the antibacterial Substances in honey». Lebensmittel Wissen hard und Technology, vol.30, p. 748- 753.
- **Bogdanov, S., Ruoff, K., Oddo, P.L. (2004).** Physicochemical Methods for the Characterization of Unifloral Honeys. Apidologie, 35: 4- 17.
- **Bogdanov, S, S, S., et Kilchenman, V. (2003).** « Critère d'appréciation de la qualité ». Dans Le Revue Centre Suisse De Recherche Apicole. P : 6.
- **Bogdanov, S. (2006).** « Contaminants of bee products. Apidologie, 37, (1), 1-18.

- **Bonté, F., et Desmouliere, A. (2013)** : « Le miel : origine et composition». Actualités Pharmaceutiques, 531,18-21.
- **Bourneck, R., Gonnet, M. (1980)**. « Hygiène des produits de la ruche ». In l'abeille. Toulouse information technique des services vétérinaires. Chapitre V, p. 91-95.
- **Boussaha, Kh., Boumzaoute, A., Layada, H. (2015)**. Effet antibactérien du miel. Université 8 mai1945 Guelma. 40p.
- **Bradbear, N. (2005)**. Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.
- **Bradbear, N. (2010)**. « Le rôle des abeilles dans le développement rural (Manuel Sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles)». Organisation des Nation Unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome. 176 p.
- **Brahmia, R., Medaregnaro, S et Tolba, I. (2016)**. La résistance des bactéries aux antibiotiques dans le milieu hospitalier. Mémoire de master. Université 8 mai 1945 Guelma. 69p.
- **Bruneau, E. (2005)**. « L'Essentiel Du Programme Européen Miel: Voyage au cœur du miel». Belgique, p.8.
- **Carson, C. F., Hammer, K. A., Riley, T.V. (1995)**. «Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of Escherichia coli and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of Melaleuca alternifolia (tea tree oil) ». *Microbios*, vol. 82, n°332, p. 181-5
- **Chaibi, A., Ababouch, H.L., Busta, F. (1996)**. Inhibition of bacterial spores and vegetative cells by glycerides. *J.Food Protect.* 59: 716-722.
- **Chanaud, P. (2010)**: Les miels. Variétés, bienfaits, recettes. Edisud, Aix-en-Provence, 192 p.
- **Chauvin, R. (1968)**. « Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In : Traité de biologie de l'abeille». Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 116-154.
- **Chettoum, A. (2006)**.Etude de la qualité de quelques miels commercialisés au Nord Est l'Algérie : Aspect physico-chimique. Mémoire de magistère : biochimie .Université de Badji Mokhtar. Annaba. p.105
- **Chouder, N. (2006)**. Contribution à l'étude des flores intestinales des poulets conventionnels sains. Mémoire de magister. Université de Mentouri Constantine. P : 16.

- **Chouia, A. (2014).**Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire de Magistère, Université Mohamed Khider Biskra.62p.
- **Clave, D. (2012).** *Escherichia coli*. Fiche technique bactériologie. Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique. P : 2.
- **Clémence, H. (2005).** « Le miel: de la source a la thérapeutique». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri-Poincaré-Nancy.
- **Codex Alimentarius. (2001).** Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, Revue, 1(1987) .12, 1-10.
- **Cushnie, T., Lamb, A. (2005).** «Antimicrobial activity of flavonoids». Int J Antimicrob Agents, vol.26, p. 343-346.
- **Dailly, H. (2008).**Le réfractomètre, un outil essentiel. abeilles & cie ; 1(122) :30-32.
- **Darvishi, M., Jahdi, F., Hamzegardeshi, Z., Goodarzi, S., Vahedi, M. (2015).** «The Comparison of Vaginal Cream of Mixing Yogurt, Honey and Clotrimazole on Symptoms of Vaginal Candidiasis» .Global Journal of Health Science, Vol. 7, n° 6, P.108-116.
- **Darrigol, J.L. (1979) :** Le miel pour votre santé (propriétés thérapeutiques, du pollen, de la gelée et de la propolis). Edition DANGELES : 140p.
- **Delarras, C. (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire. Tec & Doc. Paris. P : 289, 476.
- **Delphine, I. (2010).** « Le miel et ses propriétés thérapeutiques». Thèse du doctorat.
- **Descottes, B. (2004).** « Le miel comme agent cicatrisant». Th.doc médecine. Université Toulouse III-Paul SABATIER. Limoges. p, 32-3.
- **Derat-Carrière, F., Pochon, P. (2009).** Le miel, de l'histoire a` la cuisine. Phytothérapie, 7: 1–6.
- **Donadieu, Y. (1978) :** le miel thérapeutique naturelle.2<sup>ème</sup> édition MALOIN : 14-18.
- **Donadieu, Y. (1984).** Le miel, thérapeutique naturelle. 3<sup>e</sup> Ed. Lib. Maloine, Paris, pp 21–33.
- **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., et Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. Revue Ecologie-Environnement. 10 :37-49.

- **Djaafri, F., Rezzoug, S., Ounis, K. (2013).**Caractérisation physico-chimique et effet .Diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie. Ouargla : Université Kasdi Merbah.59p.
- **Djossou, J.A., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H., Alitonou, A.G., Soumanou, M.M.(2013).**Evaluation des caractéristiques physico-chimiques desmiels commercialisés à Cotonou. Tropicultura : 31(3) : 163-169.
- **Djelouat, S. (2011).** Les *Escherichia coli*. Blogspot. P : 1.
- **El-Sohaimy, S.A., Masry, Sh.D., Shehata, M.G. (2015).** « Physicochemicals characteristics of honey from different origins». Annal of Agricultural Sciences, vol.60, n°2, p. 279-287. (Science directe).
- **Etienne, B. (2012).** «Des produits contaminés, un nouveau défi pour demain».vol :148 ; p : 1,3.
- **Féas, X., Pirs, J., Estevinho, M.L., Iglesias, A ., Pinto de Arau, J.P. (2011).** Palynological and physicochemical data characterization of honysproduced in the Entre-DourMinho region of Portugal .International Journal of Food Science and Technology,45:pp.1255-1262
- **Felsner, M.L., Cano,C.B., Bruns,R.E., Wantanbe,H.M., AlmeidMuradianL.B., Mats,J.R. (2004).**Characterization of monofloral honeys by ash contents through ahierarchi-cal design. Journal of Food Composition and Analysis, Volume 17, Issue 6, Page 737-.747.
- **Fléché, M., Clément, S., Zeggane, et Faucon, J.-P. (1997).** «Contamination des produits de la ruche et risques pour la santé humaine : situation en France». Rev. sci. tech. Off. int. Epiz., 1997, **16 (2), 609-619.**
- **François, D., Marie-Cécile, P., Christian, M., Edouard, B., Roland, Q. (2011).**Bactériologie médicale. technique usuelles. paris : Elsevier Masson SAS. 879 p.
- **Fritz, H., Eric, C., Otto, H., ERIC, C., Rolf, M., peter, D., Johannes, E. (2008).** Microbiologie médicale. P:169, 245-249, 306-308.
- **Gonnet et vache, g. (1985).** «Le gout de miel». Ed. Unaf, paris. P : 150.
- **Gonnet, M. (1982) :** Le miel ; composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture. pp : 1-18.
- **Guarch, C. (2008) :** Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, 72 p.
- **Guerriat, H. (2000).** « Etre performant en Apiculture». Édition Rucher du Tilleul.415p.

- **Guerzou, M.N et Nadji, N. (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. P :25-26.
- **Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö., Oktay, M., Büyükkuroğlu, M.** Antioxidant, antimicrobial, antiulcer and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.), *Journal of Ethnopharmacology*, Volume 90, Issues 2–3, 2004, Pages 205-215.
- **Hoyet, C. (2005) :** « le miel : de la source à la thérapeutique ». Thèse de doctorat .Université Henri Poincaré-Nancy 1,96p
- **Huchet, E., Coustel, J., 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. 16p.
- **Irina, D., Georgiana, G., Livia, P., Alina, M. E., and Rodica, S. (2010).** The antioxidant activity of selected Romanian honeys. *Food Tech ; 34(2) : 77-83.*
- **Jean-Prost, P., Le Conte, Y.** Apiculture: connaître l'abeille, conduire le rucher. 7 ème édition. TEC & DOC Lavoisier Ed. (2005), 697 p.
- **Jessica, Y- Y. (2015).** «Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de Docteur en chirurgie dentaire .Université de Bordeaux.
- **Journal officiel des Communautés européennes, directive 2001/110/ce** du conseil relative au miel du 20 décembre 2001.
- **Khenfer, A., et Fettal, N. (1997).** Le miel. Edition el ouafak, p : 23.
- **Khoo, Y .T ., Halim, A .S ., Singh, K. B et Mohamed, N.A. (2010) :**wound contraction effects and anti-bacterial properties of Tualang honey on full-thickness burn wounds in rats in comparison to hydrofibre. *BMC Complementary and Alternative Medicine .p:10:48.*
- **Koehler, S. (2015).** « Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? ». Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Lorraine, 114p.
- **Kwakman, P.H.S., Tevelde, A.A., De Boer, L., Speijer, D., Vanden brouckegrauls, C.M.J.E., Sebastian, A. J. Zaat. (2010).** «How honey kills bacteria». *FASEB. J*, vol. 24, p.2576-2582.
- **Kwakman, P.H.S., Zaat, S.A.J. (2012).** «Antibacterial components of honey». *IUBMB Life*, vol.64, n°1, p.48-55.

- **Laredj, H. (2017).**caractérisation microbiologique et physicochimique des miels produits au niveau de la région de Tiaret. Thèse de doctorat. université IBN khaldoune .Tiaret .117p.
- **Lequet, L. (2010).** Du nectar a un miel de qualité: Contrôles analytiques du miel et conseils Pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur; thèse de Doctorat en vétérinaire, Université de Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie). 85p.
- **Lequet, L. (2010).** « Ecole nationale vétérinaire de Lyon». Du nectaire a un miel de qualité : contrôle analytique du miel et conseil pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. vol : 195 ; p :111.
- **Le Minor, L., et Véron, M. (1984).** Bactériologie Médicale. Flammarion Médecine-sciences. Paris. P : 214, 215.
- **Libonatti, S., Basualdo, M. (2014).** «Antimicrobial activity of honey: a review of honey around the world». Microbiology and Antimicrobials, vol.6, n°3, p.51-56.
- **Loiriche, N., (1984):** les abeilles pharmaciennes aillées (science pour tous). Ed. Mir, Mosco :40-71.
- **Louveaux, J. (1959).**LA TECHNOLOGIE DU MIEL (1). Les Annales de l'Abeille ; 2(4) : 343-354.
- **Louveaux, J. (1961):** le miel dans les l'alimentation moderne XVIIIe congrès international d'apiculture. madrid. Pp23-30.
- **Louveaux, J. (1985).** Le miel. Cahiers de Nutrition et de Diététique, 20(1) : 57-70
- **Maameri, Z. (2014).**Pistacia lentiscus L. Evaluation pharmaco toxicologique. Thèse. doctorat en Sciences. Constantine.
- **Mami, A. (2013).** Recherche des bactéries lactiques productrices de bactériocine à large spectre d'action vis-à-vis des germes impliqués dans les toxi-infections alimentaire en Algérie. Thèse de doctorat. Université d'Oran. P : 19
- **Majtan, J. (2011).** « Methylglyoxal – A Potential Risk factor of Manuka Honey in Healing of Diabetic Ulcers ». Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine.p.1-5.
- **Makhloufi, C., Schweitzer, P., Azouzi, B., Oddo, L. P., Choukri, A., Hocine, L., &Daibore, G. R. (2007).** Some properties of Algerian honey. Apiacta, 42, 73-80.
- **Makhloufi, C.H. (2010).** « Melisso-palynologie et étude des élément bioactifs des miels Algérienne». Thèse de doctorat en science agronomiques. Université Alger.
- **Makhloufi, C. (2011).** «Melisso palynologie et étude des éléments bioactifs des miels algériens». Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique d'El Harrach.



- **Malika, N., Faid, M., and El adlouni, C. (2005).** Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal of Agriculture & Biology*, Vol. 7, N° 5, 773–776.
- **Mandal, M.D., Mandal, S. (2011).** «Honey: its medicinal property and antibacterial activity». *Asian Pac J Trop Biomed*, vol.1, n°2, p.154-60.
- **Marchenay, P., (1988) :** Miel, miellats, miellées. *Bulletin d'agriculture traditionnelle et de botanique appliquée*. Volume 37 :121-146.
- **Marcel, M., Aubineau, M., Bermond, A. B., Ougler, J., Very, B et Estrade J. R (2002),** Larousse Agricole, le monde agricole au 21 siècle; © Ed. Larousse/ Vuff, P418.
- **Mazrou, K. (2008).** « L'effet de la température sur l'évolution de l'HMF dans les miels Algériens». Mémoire d'obtention de diplôme d'étude supérieure en biologie. Université Ibn Khaldoune, Tiaret, Algérie.
- **Mekious, S, (2016).** « Etude de la végétation mellifère et caractérisation physico-chimique et melisso-palynologique des miels de la région de Djelfa». Thèse de doctorat .vol :114 p : 63.
- **Mekious, S., Houmani, Z., Houmani, M. (2016).** Study of the Melliferous Potentialities of Two Regions in the North of Algeria. *Phytothérapie*; p:1-6p.
- **Melliou, E., Chinou, I. (2011).** Chemical constituents of selected unifloral Greek bee-honies with antimicrobial activity. *Food Chemistry* 129:284-290.
- **Merah, M., Bensaci Bachagha, M., Boudershem, A. (2010).** Étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Ann. Sci. Technol.* 2: 115-125.
- **Molan, P.C. (1992).** «The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity». *Bee world*, vol.73, p.59-76.
- **Molan, P.C. (2001).** «Why honey is effective as a medicine: 2- the scientific explanation of its effect». *Bee World*, vol.82, n°1, p.22-40.
- **Molan, P. (1999).** «Le rôle du miel dans la gestion des blessures». *Journal du soin de blessure*, vol. 8, n°8, p.415- 418.
- **Moniruzzaman, M., Sulaiman, S.A., Ibrahim Khalil, M.I., 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

- **Nadir, S. (2014).** « Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, 192p.
- **Obaseiki-Ebore, E., Afonya, T.C.A. (1984).** «In vitro evaluation of the ant candidiasis activity of honey distillate (IYY-1) compared to that of some antimycotic agents». *J. Pharm. Pharmacol*, vol.36, p. 4-283.
- **Olaitan, P.B., Adeleke, O.E., Ola, IO. (2007).** «Honey: a reservoir for Microorganisms and an inhibitory agent for microbes». *African Health Sciences*, vol. 7, n°3, p. 159-65.
- **Ouchemoukh, S., Louaileche, H. et Schweitzer, P. (2007).** «Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys». *Food Control*, 18, 52-58.
- **Ouchemoukh, S. (2003).** Caractérisations physico-chimiques d'échantillons de miel d'origine locale. Thèse de magister en biochimie-microbiologie. Université Abderrahmane Mira Bejaia.30p.
- **Oulymata, G. (2007).** Utilisation des méthodes biométriques dans l'identification de quelques bacilles à gram négatif. Thèse de doctorat. Université Cheikh Anta Diop de Dakar. P : 6,7, 13
- **Oujet, K., (2012):** Le miel : Une denrée à promouvoir. Infos-CACQE. Algérie. N02. 3pp.
- **Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., et He Gutt, G. (2013).** Rheological Aspects of Spanish Honeys. *Food Bioprocess Technol*. Vol6:228 –241
- **Parente, E., Brienza, C., Moles, M., Ricciardi, A. (1995).** «A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity». *Journal of Microbiological Methods*, vol.22, p.95– 108.
- **Paulus, H., Kwakman, S., Sebastian, A., Zaat, J. (2011).** « Antibacterial components of honey». *IUBMB Life*, vol.64, n°1, p.48-55.
- **Pelmont, P. (1993).**Bactéries et environnement. 2eéd.Grenoble : Patrice Gouet. M et hélène J, 617p.
- **Perez, C., Paul, M., Bazerque, P. (1990).** «An Antibiotic assay by the agar well diffusion method». *Acta. Bio. Med. Exp.* vol, 15, p. 113-115.
- **Philippe, J.M. (1991) :** la pollinisation par les abeilles. Ed Edisud. P 182
- **Philippe, J.M. (1988) :** le guide de l'apiculture EDSUD. Ex –en Province, France : 212-216.

- **Predrix, J.L. (2003):** critères de qualités du miel. Bulletin de liaison N°41.
- **Prescott, W., Harley, S et Klein, W. (2010).** Microbiologie. 3em édition. De boeck. Bruxelles. P: 843, 845.
- **Prost, P.J. (2005).** Apiculture, connaitre l'abeille –conduire le rucher. Lavoisier, paris, p. 382.
- **Postmes, T., Van Den Bogaard, E.A., Hazen, M. (1993).** «Le miel pour la conservation de blessures, d'ulcère et de greffe de peau». The Lancet, vol. 341, p. 756- 757.
- **Rahal, K., Benslimani, A., Ammari, H. (2011).**Standardisation de l'antibiogramme en médecine humaine à l'échelle nationale .selon les recommandations de L'OMS.6<sup>ème</sup>édition.P25-P26.
- **Rebai, H et Said isief, C.H. (2017).** Identification d'une souche cariogène Streptococcus sp et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche, Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 21-31, 42.
- **Rebiahi, S. (2012).** Caractérisation de souches de *Staphylococcus aureus* et étude de leur Anti bio résistance au niveau du centre hospitalo-universitaire de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université de Tlemcen. P : 3, 4, 10, 11.
- **Rezzag, M.O. (2010).** «Extraction de certains composés du miel naturel ayant l'effet antimicrobienne». Mémoire pour l'obtention de diplôme d'étude supérieure en biologie. Université Kasdi Merbah, Algérie.
- **Rodier, J. (1997).** L'analyse de l'eau, eau naturelle, eau résiduaire, eau de mer. 8<sup>ème</sup>Ed. Dunod. France. 57-65pp.
- **Rossant, A. (2011).** «Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Limoges. En français.
- **Salomon, D. (2010).** Le miel : de Noé aux soins de plaies. Dermatologie, 246(16) : 871–874.
- **Sana, H. (2017).** Etude des propriétés physicochimiques et antioxydantes du miel soumis au vieillissement accéléré. Université A. MIRA – Bejaia .p :26 ; 27 ; 28.
- **Schweitzer, P. (2004).**Nectar, miellat, pollen et environnement. Laboratoire d'analyses et d'écologie apicole. © CETAM-Lorraine.
- **Schweitzer, P. (2005).**encore des miels hors normes. Revue l'abeille de France N°917 .laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 03p.

- **Stefan, B., Aanton, I., charrière, J., Fluri, P., kilchenmann, V. (2003).** qualité des produit apicole et source de contamination. Centre suisse de recherche apicole. Station fédérale de recherche laitière, liebefeld.CH-3003 Berne. vol :12.p :02
- **Sib, A. (2007).** «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
- **Silva Luís, R., Videira, R., Monteiro Andreia, P., Valentão, P., Andrade Paula, B. (2009).** .Honeyfrom luso Région (Portugal): physicochemical caractéristiques and miner lcontents Microchemical Journal, Volume 93, Issue 1 Page 73-77.
- **Surendra, R., Hermann, P., Alfons, W., Werner, V. OHE.(2000).** Physico-chemical characteristics of Apisdorsata, A. cerana and A. mellifera honey from Chitwan district, central Nepal. Apidologie. 31: 367–375.
- **Sylvie, D. (2005).** Le miel : Un livre gourmand. Genève : Minerva.182p.
- **Tali-Maamar, H. (2008).** Spectre antibactérien des principales familles d'antibiotiques en milieu hospitalier basé sur les pourcentages de résistances des bactéries aux antibiotiques. Ministre de la santé, de la population et de la réforme hospitalière. Alger
- **Theunissen, F., Grobler, S., Gedalia, I. (2001).** «The antifungal action of three South African honeys on Candida albicans». Journal of Apidologie, vol. 32, p. 371–379. (Science Direct).
- **Terrab, A., Diez, M.J., and 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.
- **Terrab, A., Recamales, F., Dolores, H., Francisco Heredia, J. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents .Food Chemistry, 88:537-542.
- **Torres, A., Garedeu, G., Schmlöz, E., Lamprecht, I. (2004).** « Calorimetricin vestigation of the antimicrobial action and in sigh into the chemical properties of “angelita” honey, a production of the stingless bee Tetra goniscaan gustula from Colombia». Thermo chimica Acta, vol.415, n°1-2, 7, p.107-113.
- **Tosi, E., Ciappini, M., Ré, E., et Lucero, H. (2002).** Honey thermal treatment effects of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. Food chemistry. 88: 537-542.

- **Turhan, I., Tetika, N., Karhana, M., Gurelb, F. et Tavukcuoglua, H. R.(2008).** Quality of honeys influenced by thermal treatment. LWT. 41: 1396-1399.
- **Vanhanen, P., Emmertz, A., Savage, G. P. (2011).** Mineral analysis of monofloral New Zealand honey .Food Chemistry, Volume 128, Issue 1, Pages 236-240.
- **Werner, A., Laccourreye, O. (2011)** .Le miel en oto-rhino-laryngologie : quand, pourquoi et comment ? Annales Françaises d'Oto-rhino-laryngologie et de Pathologie Cervico-faciale, 128(3) : 153–157.
- **White, J. (1980).** Hydroxyméthylfurfural and honey adulteration 1 ASSOC. OFFAMEL. Chem.63.pp:7-10.
- **White, J et Rudyi. (1978)** .The protein oh honey .Juicers .17.pp:234-238.
- **White, J:** in "Honey"; Ed. E. Crane: Physical Characteristics of Honey. Heinemann, London (1975).
- **Yahia Mahammed, S et Yahai Mahammed, W. (2015).**Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla, Djendel, Bathia, Bourached et Miliana. Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique. p : 36 ; 38.
- **Yaiche Achour, H. Khali, M. (2014).** « Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques ». Afrique Science, vol. 10, n°2, p. 127 - 136.

- **Sites web**

1. **Anonyme. (2011).** « les bienfaits du miel ». En ligne< <https://www.anastore.com>>
2. **Donadiou, Y. (1981).** «Quelles sont les vertus du miel». Apitherapie Faculté de Medecine de Paris. En ligne<[http:// www.01santé.com](http://www.01santé.com)>.
3. **François, L. (2017).** «La texture du miel. Journal aliments naturels et biologiques». En ligne [www.essentielle-coop](http://www.essentielle-coop.com). Consulté le 12 mars 2019
4. **Gicquel, M. (2015).** «Le miel contre les mycoses vaginales». La Propolis et Vous. En ligne<[www.lapropolisetvous.com](http://www.lapropolisetvous.com)>.
5. **Velghe, C. (2016).** «Miel valeurs nutritionnelle et bienfaits». Santé-MGC Prévention. En ligne < [www.mgc-prevention.fr](http://www.mgc-prevention.fr) > Nutrition > Aliments et santé >.



# *Annexe*

## **Annexe 1: Verreries, petits matériels, produits et réactifs**

### ✓ **Verreries**

Lames et lamelles, Erlenmeyer, Tubes à essai, Béchers, Pipettes graduées, Verres de montre, burette, Éprouvette graduée.

### ✓ **Petits matériels**

Spatules	Gants
Pinces	Ruban adhésif (scotch)
Portoirs	Papier absorbant
Boîtes de Pétrie	Étiquettes
Masques	anse de platine

## **Annexe 2 : Produits et réactifs**

Alcool, Fuchsine, Lugol, violet de Gentiane, NaOH.

## **Annexe 3 : 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.

#### ✓ **Préparation**

Ajoutez 23g à 1000ml d'eau distillé froide, chauffer sous continuelle agitation et portez à ébullition, jusqu'à la dissolution complète, stériliser à 121°C pendant 15min.



- **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.

- ✓ **Préparation**

Mesurez 38g de Mueller Hinton et mettez-le dans un litre d'eau distillée stérile, chauffez sous agitation continue et portez à ébullition, jusqu'à la dissolution complète, autoclavez à 121°C pendant 15min.

- **Chapman**

- ✓ **Composition en g/l**

- Extrait de viande de bœuf .....1,0 g
- Chlorure de sodium .....75,0 g
- Mannitol .....10,0 g
- Rouge de phénol .....0,025 g
- Agar-Agar .....15,0 g

- ✓ **Préparation**

Poser 111g de Chapman dans 1 litre d'eau distillée stérile. Puis, agitez lentement sur une plaque chauffante jusqu'à la dissolution complète, remplissez dans des flacons et mettez dans l'autoclave pour la stérilisation. Enfin conservez-le pour l'usage après.

- **Milieux liquide**

- **Muller Hinton bouillon**

- ✓ **Composition en g/l**

- Extrait de viande..... 2g
- Caséine.....17,5g
- Amidon.....1,5g

✓ **Préparation**

Mettre 21g dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée, agiter lentement jusqu'à dissolution complète, répartir en tube ou en flacons, stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 min, conserver au réfrigérateur pour un usage ultérieur.

• **NaOH (0.1N)**

0,4 g du NaOH dans 75 ml d'eau distillé

**Annexe 4 : Coloration de Gram.**

• **Préparation de frottis**

- ✓ Mettre une goutte de l'eau distillée sur la lame.
- ✓ Prélever une colonie bien isolée de la bactérie.
- ✓ Mélanger la colonie avec l'eau distillée sur la lame, puis l'étaler en couche mince et régulière.
- ✓ Sécher et fixer par la chaleur, puis laisser refroidir.

• **Coloration**

- ✓ recouvrir la lame du Violet de Gentiane, laisser en contact 1 minute, jeter l'excès de colorant et rincer à l'eau.
- ✓ verser sur la lame quelques gouttes de Lugol et laisser agir 30 secondes.
- ✓ Faire couler de l'alcool-acétone sur la préparation environ 15 secondes, puis rincer immédiatement à l'eau.
- ✓ Recouvrir la préparation de Fuchsine, laisser agir de deux minutes, puis laver abondamment à l'eau.
- ✓ Sécher délicatement avec du papier buvard.
- ✓ Observer à l'immersion en pleine lumière, mettre une goutte d'huile à immersion sur la lame. Observer à l'objectif x100.

**Annexe 5 : Table de conversation: IR-BRIX-HUMIDITE (miel).**

$n_D^{20}$	Degré brix <sup>(1)</sup> brix (%) 100 - brix (%)	Teneur en eau <sup>(2)</sup> (%)
1,48295	77,0 23,0	21,4
1,48552	78,0 22,0	20,4
1,48811	79,0 21,0	19,3
1,49071	80,0 20,0	18,3
1,49333	81,0 19,0	17,3
1,49597	82,0 18,0	16,3
1,49862	83,0 17,0	15,2
1,50129	84,0 16,0	14,2

**(1)** : calculé en g de sucrose / 100 g.

**(2)** : calculée sur base de la méthode EHC.