

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



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie
Filière : Sciences Biologiques
Spécialité/Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

Contribution à l'étude du miel sur l'activité de quelques antibiotiques sur des souches bactériennes

Présenté par :

- BOUZIT Khadidja
- OBEIZI Amina
- ZERDOUDI Manal

Devant le jury composé de :

- | | | | |
|--------------|---------------------|--------|----------------------|
| • Président: | Mme. KHALLEF M. | M.C.B. | Université de Guelma |
| • Examineur: | Mme. ABDAOUI W. | M.A.A. | Université de Guelma |
| • Encadreur: | Mr. BENOUARETH D.E. | Pr. | Université de Guelma |

Juin 2019



Remerciements

*Nous remercions avant tout **ALLAH** tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie pour la réalisation de ce travail.*

Ce mémoire nous a donnée l'occasion de rencontrer et de travailler avec des personnes absolument épatantes. Au terme de ce travail, nous remercions profondément :

*En premier lieu notre encadreur **Mr BENOUARETH. D.E**, pour l'honneur qu'il nous a donné à nous diriger dans la réalisation de ce mémoire, qu'il trouve ici notre reconnaissance pour ses conseils, ses encouragements et sa présence tous le long de la réalisation de notre travail.*

*Nos remerciements pour **Dr. KHELLAF M.** pour avoir accepté de présider le jury, et pour **Mme. ABDAOUI W.** Pour avoir accepté d'examiner ce travail.*

*Nos remerciements s'adressent également au **Dr. DJAMAA F.** pour son aide et ses conseils.*

*Spécialement **Mme. MRABET HASSIBA** pour son aide et sa patience*

« Nos remerciements les plus sincères à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à l'élaboration de ce mémoire ainsi qu'à la réussite de cette formidable année universitaire »

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail :

♥ *A ma très chère mère, qui a tout donné pour bien éduquer ses enfants, la mère qui s'est battue de toutes ses forces pour voir ses enfants réussir, la mère qui m'a soutenue toute ma vie **je remercie dieu** de m'avoir donné l'honneur de grandir sous l'aile de cette femme.*

♥ *Mon très chère père, mon idole, le premier enseignant dans ma vie, le meilleur exemple à suivre, toujours soucieux pour mon avenir pour mieux réussir, je t'en serai à jamais reconnaissante.*

*A mon chère frère **Walid** ♥*

*A ma très chère et adorable sœur **khouloud** ♥*

♥ *A toute la famille **OBEIZI** et **NACER**.*

♥ *A mes oncles et Mes grands parents*

♥ *A mes trinômes **MANEL** et **KHADIDJA** je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les bons moments qu'on a passé ensemble ♥*

♥ *Et mes amis Surtout **Narimène, Imèn, sarsora, Souha***

♥ *A tous mes collègues de la promotion 2019*

Biologie Moléculaire et Cellulaire.

♥ **AMINA** ♥

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail:

*A ma très chère mère, qui a tout donner pour bien éduqué ses enfants, la mère qui s'est battue de toutes ses forces pour voir ses enfants réussir, la mère qui m'a soutenue toute ma vie. **je remercie dieu** de m'avoir donné l'honneur de grandir sous l'aile de cette femme .*

Mon très chère père, mon idole, le premier enseignant dans ma vie, le meilleur exemple à suivre ,toujours soucieux pour mon avenir pour mieux réussir, je t'en serai a jamais reconnaissante

*♥A ma tendre, gentille et adorable sœur **hanen**♥*

*♥A mes chers frères **yacine, hichem, fateh, et rezak** ma fierté dans cette vie♥*

*A toute la famille **BOUZIT** et **SEGOUALI***

*♥A mes trinômes **AMINA** et **MANEL** je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les bons moments qu'on a passé ensemble ♥*

*Et spécialement à ma chérie **nihed**♥*

*♥A mes amis Surtout **Narimène, Imèn, Amina, Asma, Souha***

♥A mes chères cousines ♥

♥A tous mes collègues de la promotion 2019

Biologie Moléculaire et Cellulaire.

*A la mémoire de ma frère **Azzedine** « Allah yarhmeh »*

*♥**KHADIJA** ♥*

Dédicaces

Je tiens à dédier ce modeste travail :

*A ma très chère mère, qui a tout donné pour bien éduquer ses enfants, la mère qui s'est battue de toutes ses forces pour voir ses enfants réussir, la mère qui m'a soutenue toute ma vie **je remercie dieu** de m'avoir donné l'honneur de grandir sous l'aile de cette femme.*

Mon très chère père, mon idole, le premier enseignant dans ma vie, le meilleur exemple à suivre, toujours soucieux pour mon avenir pour mieux réussir, je t'en serai à jamais reconnaissante.

*A mon Marie **Abdel Rahmen** qui m'a toujours aidé et encouragé ♥*

*A ma très chère et adorable sœur **hind** ♥*

*♥A mes chers frères **Salah, Alla, Nadjem** ma fierté dans cette vie ♥*

*♥A toute la famille **ZERDOUDI** et **AOUAMRI**.*

*♥A mes trinômes **AMINA** et **KHADIDJA** je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les bons moments qu'on a passé ensemble ♥*

A mes oncles et Mes grands-parents ♥

*♥A mes amis Surtout **Meriem, Narimène, Imèn, Souha***

A mes chères cousines ♥

♥A tous mes collègues de la promotion 2019

Biologie Moléculaire et Cellulaire

*♥ **MANEL** ♥*

Partie bibliographique

Figure 1 : Echange de nourriture par trophallaxie.....	04
Figure 2 : Abeille léchant du miellat.....	06
Figure 3 : Composition générale moyenne du miel.....	07
Figure 4 : Réaction enzymatique produisant le H ₂ O ₂	11
Figure 5 : Mode d`action des antibiotiques.....	17
Figure 6 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négatif	21

Partie expérimentale

Figure 1 : Echantillons du miel étudiés.....	24
Figure 2 : Réfractomètre de type Bellingham et Stanley.....	25
Figure 3 : Conductimètre de type Hanna instruments (HI 9033)	26
Figure 4 : PH mètre de type AD1030.....	27
Figure 5 : Mesure l`acidité libre du miel par titration.....	28
Figure 6 : Four a moufle de type NABERTHERM.....	29
Figure 7 : Spectrophotomètre de type Prim Light SECOMAM.....	32
Figure 8 : Disposition des disques sur la GMH.....	33
Figure 9 : La teneur en eau des échantillons de miel.....	35
Figure 10 : La teneur en degré de Brix des échantillons de miel.....	36
Figure 11 : Conductivité électrique des échantillons de miel.....	37
Figure 12 : Le pH des échantillons de miel.....	37
Figure 13 : Acidité libre des échantillons de miel.....	38
Figure 14 : Miel avant l`ajout de Fe Cl ₃	39
Figure 15 : Miel après l`ajout de Fe Cl ₃	39
Figure 16 : La teneur en cendre des échantillons de miel.....	40
Figure 17 : Miel a l`état normal.....	40
Figure 18 : Miel après l`incinération.....	40
Figure 19 : Antibiogramme des cinq bactéries testées.....	41
Figure 20 : Effet antibactérien du miel sur <i>S. aureus</i> en milieu solide.....	44
Figure 21 : Diamètre d`inhibition avec <i>S. aureus</i>	44
Figure 22 : Effet antibactérien du miel sur <i>P. aeruginosa</i> en milieu solide	45

Liste des figures

Figure 23 : Diamètre d'inhibition avec <i>P. aeruginosa</i>	45
Figure 24 : Effet antibactérien du miel sur <i>E. coli</i> en milieu solide.....	46
Figure 25 : Diamètre d'inhibition avec <i>E. coli</i>	46
Figure 26 : Effet antibactérien du miel sur <i>S. aureus</i> en milieu liquide.....	48
Figure 27 : Effet antibactérien du miel sur <i>P. aeruginosa</i> en milieu liquide	49
Figure 28 : Effet antibactérien du miel sur <i>E. coli</i> en milieu liquide.....	49
Figure 29 : Photographie des résultats de la combinaison réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.....	50
Figure 30 : Photographie des résultats de la combinaison réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.....	51
Figure 31 : Nombre de bactéries calculées après 18 heures d'incubation en présence de concentration croissante de la pénicilline G.....	52
Figure 32 : Effet antibactérien des différentes concentrations de la pénicilline G en milieu liquide.....	52
Figure 33 : Résultat de la culture avec <i>S. aureus</i>	53
Figure 34 : Résultat de la culture avec <i>P. aeruginosa</i>	53
Figure 35 : Résultat de la culture avec <i>E. coli</i>	54
Figure 36 : Résultat de la culture avec <i>S. aureus</i>	54
Figure 37 : Résultat de la culture avec <i>P. aeruginosa</i>	55
Figure 38 : Résultat de la culture avec <i>E. coli</i>	55

Partie bibliographique

Tableau 1 : La différence entre miels de nectar et de miellat.....06

Partie expérimentale

Tableau 1 : Les Milieux de culture et l'aspect macroscopique des colonies isolées.....23

Tableau 2 : Origine des échantillons de miels étudiés.....23

Tableau 3 : Antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance.....24

Tableau 4 : Résultats de l'antibiogramme.....41

Tableau.5 : Diamètre d'inhibition en mm des 3 souches bactériennes.....43

Tableau 6 : Indice d'inhibition pour les 3 souches bactériennes testées.....47

Liste des abréviations

Bactérie MDR : Multiple drug resistance ou multi résistance.

KDa : kilo Dalton.

ADN : acide désoxyribonucléique.

ARN : acide ribonucléique.

PLP : protéines de liaison aux pénicillines.

PBP : Penicillin Binding Protein.

S.aureus : Staphylococcus aureus.

E. coli : Escherichia coli.

P. aeruginosa : Pseudomonas aeruginosa.

E. faecalis : Enterococcus faecalis.

ATB : antibiotique.

ATCC : American Type Culture Collection.

BMH : Bouillon Muller Hinton.

GMH : Gélose Muller Hinton.

G.N : Gélose nutritive.

V/V : volume par volume.

°C : degré Celsius.

T° : Température.

H : heure.

Méq : Mélli équivalent.

DO : densité optique.

pH : potentiel d'hydrogène.

CE : conductivité électrique.

BMR : bactérie multi résistance.

IR : indice de réfraction.

mS.cm-1 : milli Siemens par centimètre.

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la société français de Microbiologie.

II : indice d'inhibition.

CRP : protéine C-réactive.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

N : Normalité.

FeCl₃ : chlorure de fer.

M : miel.

SARM : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline.

	Page
Introduction	01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel

1. Définition du miel.....	03
2. Production du miel.....	03
3. Origine du miel	04
3.1. L'origine directe « le nectar ».....	04
3.1.1. Les différents types de miel de nectar	05
3.2. L'origine indirecte « miellat »	05
3.3. Principales différences entre miels de nectar et de miellat.....	06
4. La composition chimique du miel	07
5. Les propriétés physicochimiques du miel.....	08
5.1. La Densité.....	08
5.2. La viscosité.....	08
5.3. La conductivité électrique	08
5.4. L'indice de réfraction	08
5.5. Le pH	09
5.6. La solubilité	09
5.7. La conductivité thermique	09
6. Les propriétés organoleptiques	09
6.1. La coloration.....	09
6.2. L'odeur et le goût	09
6.3. La cristallisation du miel	09
6.4. Fermentation.....	10
6.5. Conservation.....	10
7. Les effets bénéfiques du miel sur la santé	10
7.1. Les propriétés antibactériennes du miel	10
7.1.1. L'osmolarité	10
7.1.2. Le pH acide	11
7.1.3. Le système peroxyde d'hydrogène.....	11
7.1.4. Les facteurs phytochimiques	12

7.1.5. La défensine-1	12
7.1.6. Le méthylglyoxal.....	12
7.2. Propriétés antioxydantes.....	12
7.3. Propriétés cicatrisantes	12
7.4. Propriétés anti-diarrhéiques	13
7.5. Propriétés anti-inflammatoires	13
7.6. Miel et diabète	13
8. Effets indésirables du miel.....	13

Chapitre II : Généralités sur les antibiotiques

1. Définition d'antibiotique.....	15
2. Type des antibiotiques	15
2.1. D'origine naturelle.....	15
2.2. D'origine synthétique	15
3. Classification des antibiotiques	15
4. Modes d'action des antibiotiques	16
4.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne	16
4.2. Inhibiteurs de la synthèse de la membrane cytoplasmique.....	16
4.3. Inhibiteurs de la synthèse protéiques.....	17
4.4. Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques	17
5. La résistance aux antibiotiques	18
5.1. La résistance naturelle	18
5.2. La résistance acquise	18
5.2.1. Résistance par mutation chromosomique.....	18
5.2.2. Résistance par acquisition de gène.....	19
6. Mécanisme de résistance des antibiotiques	19
6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique	19
6.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique.....	19
6.3. Pompes à efflux	20
6.4. Perméabilité réduite.....	20
6.5. Protection de la cible de l'antibiotique.....	20
6.6. Piégeage de l'antibiotique.....	21

Partie expérimentale

Chapitre III : Matériel et méthodes

1. Les souches bactériennes	22
2. Milieux de culture	23
3. Types de miel	23
4. Les antibiotiques	24
5. Analyses physico-chimiques du miel	24
5.1. Teneur en eau et indice de réfraction	24
5.2. La matière sèche (Degré Brix)	25
5.3. Mesure de la conductivité électrique	26
5.4. Détermination du pH	26
5.5. Détermination de l'acidité libre	27
5.6. Détermination de la teneur en polyphénols	28
5.7. Détermination de la teneur en cendres	29
6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques	30
7. L'effet antibactérien du miel	31
7.1. En milieu solide	31
7.2. En milieu liquide	31
8. L'effet de l'association miel + antibiotique	33
8.1. En milieu solide	33
8.2. En milieu liquide	34

Chapitre IV : Résultats et Discussion

1. Résultats	35
2. Discussion	56
Conclusion	63

Références bibliographiques

Annexes



Introduction

Introduction

Depuis toujours, la recherche des activités antibactériennes a concentré de nouveaux composés ayant Ces activités est d'actualité. Pour cela, des efforts considérables ont été déployés pour trouver des traitements efficaces en combinant différents antibiotiques dans le traitement des infections.

La thérapie combinée a été présentée comme une stratégie visant à réduire l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques, car l'utilisation de deux composés ou plus tend à réduire la probabilité d'une résistance (**Rahal, 2006**). L'utilisation de combinaison synergique d'agents antibactériens permet d'obtenir une efficacité supérieure à celle attendue en utilisant un seul agent ou en combinant deux agents non synergiques (**Jenkins et Cooper, 2012**).

Le réexamen d'anciens remèdes tels que l'ail, le thé vert a suscité de l'optimisme quant à la recherche d'inhibiteurs d'agents pathogènes résistants aux antibiotiques. Le miel est un autre candidat possible pour une action synergique avec des antibiotiques. Le premier rapport d'action synergique entre un miel indien et des antibiotiques contre la bactérie MDR (Multiple drug resistance) isolées à partir d'échantillons cliniques date de 1998 (**Karayil et al., 1998**).

Le miel, cette substance sucrée offerte à la nature par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera*, a accompagné l'homme depuis les temps les plus reculés. C'est ce qui a poussé Albert Einstein à dire : « Si l'abeille venait à disparaître, l'homme n'aurait plus que quelques années à vivre ».

Le miel a une composition chimique très complexe qui varie en fonction de la source botanique. Il a été utilisé à la fois comme aliment et comme médicament depuis les temps anciens. Outre son rôle important dans la médecine traditionnelle, le miel naturel a fait l'objet, au cours des dernières décennies, de recherches en laboratoire et cliniques par plusieurs groupes de chercheurs et a trouvé une place de choix dans la médecine moderne. Le miel aurait des effets inhibiteurs sur environ 60 espèces de bactéries, certaines espèces de champignons et de virus. La capacité antioxydant du miel est également importante dans de nombreuses maladies par un large éventail de composés, notamment des composés phénoliques, des peptides, des acides organiques, et des enzymes. Le miel a également été utilisé dans certains états gastro-intestinaux, cardiovasculaires, inflammatoires et néoplasiques (**Eteraf-Oskouei et Najafi, 2013**).

Introduction

Cette étude est une contribution à l'évaluation de l'effet de combinaison du miel avec des antibiotiques. Ce travail s'articule autour de deux grandes parties :

- Dans la première partie, une synthèse bibliographique sera abordée sur le monde bactérien, les antibiotiques, et sur le miel.
- Dans la deuxième partie, le matériel d'étude et les méthodes analytiques utilisées pour les analyses physico-chimiques, l'activité antibactérienne de plusieurs types de miel et l'activité de combinaison du miel avec des antibiotiques, ainsi que la présentation des résultats obtenus et leur discussion.
- Ce manuscrit sera clôturé par une conclusion et des perspectives.

Chapitre I

Généralités sur le miel



1. Définition du miel

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

2. Production du miel

La production de miel commence lorsque les abeilles collectent le nectar et le pollen des fleurs, mais seul le nectar est utilisé pour fabriquer du miel. Le nectar a été décrit comme une «récompense» donnée par la plante pour attirer les abeilles (**Olaitan et al., 2007**). Les abeilles butineuses aspirent le nectar des fleurs ou le miellat, qu'elles stockent dans leurs jabots (**Balas, 2005**). Le pollen est transporté vers la ruche dans les paniers de pollen posture sur la patte postérieure (**Olaitan et al., 2007**).

Durant le retour à la ruche, une enzyme, l'invertase, est sécrétée dans le jabot de l'abeille et s'ajoute au nectar, ce qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et fructose maltose et autres sucres. Une fois arrivées à leur ruche, les abeilles butineuses régurgitent le nectar à des abeilles receveuses. Ces abeilles, à tour de rôle, régurgiteront et réingurgiteront ce nectar en le mêlant à de la salive et des sucs digestifs, ce qui complètera le processus de digestion des sucres (trophallaxie) (**Fig.1**). D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sécrétions salivaires riches en enzymes (invertase, diastase et glucose-oxydase). Simultanément, d'autres sucres qui n'existent pas au départ sont synthétisés comme (l'erlose et le raffinose). Le miel est ensuite stocké dans des alvéoles où il est déshumidifié par brassage à l'aide de leurs pièces buccales et par ventilation avec les ailes des ouvrières ventileuses, qui créent un courant d'air permettant l'évaporation de l'eau (**Balas, 2005**). En moins de cinq jours, la composition du miel passe de 50 % à un peu moins de 18 % d'eau pour 80 % de sucre (**Bonté et Desmoulière, 2013**). L'évaporation est améliorée par l'étalement du liquide en couches minces dans des cellules formées de cire. Elle se fait sous la double influence de la chaleur régnant dans la ruche et de la ventilation assurée par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes. Lorsque la teneur en eau atteint un seuil inférieur

à 18%, le miel est alors emmagasiné dans d'autres alvéoles, qui une fois remplies, seront operculées. Le miel est ainsi stocké comme réserve de nourriture (**Balas, 2005**).



Figure 1 : Echange de nourriture par trophallaxie (**Tourneret, 2015**).

3. Origine du miel

Selon **Ancheling (2005)**, Le miel est élaboré par les abeilles à partir de sucres produits par des végétaux, soit sous forme de nectar, soit sous forme de miellat :

3.1. L'origine directe « le nectar »

Le nectar, exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % de sucres les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de chacun d'entre eux sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, atc...), des protéines notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine sérine, tyrosine, etc...), et des composés inorganiques (comme les phosphates) (**Rossant, 2011**). Dans certains nectars peuvent se retrouver des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides. Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui confèrent au miel sa saveur et son parfum. Ce nectar est produit par des glandes nectarifères ou nectaires et sa quantité dépend de plusieurs facteurs dont la structure des inflorescences, la durée de floraison, l'humidité de l'air et le moment de prise du nectar dans la journée (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

3.1.1. Les différents types de miel de nectar

Ils peuvent être classés en deux grands groupes :

A. Les miels uni-floraux « mono-floraux »

Les miels mono-floraux sont élaborés à partir du nectar provenant d'une seule espèce végétale et cela nécessite bien sûr d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée (**Rossant, 2011**). Ils sont aussi appelés miels de cru. On peut citer les plus importants : le miel de colza, d'acacia, de romarin, de lavande (**Meziri, 2004 in Amri, 2016**).

B. Les miels multi-floraux « poly-floraux »

Ces miels sont élaborés à partir du nectar provenant de plusieurs espèces végétales (**Rossant, 2011**). Ils sont caractérisés par leur origine représentée soit par l'aire de production (région, département, massif), soit par un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigue, maquis, forêt) (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

3.2. L'origine indirecte « miellat »

Le miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons) (**Bonté et Desmoulière, 2013**). Ces insectes, munis d'un appareil buccal piqueur-suceur, prélèvent la lymphe végétale dont ils se nourrissent en perforant la plante qui les abrite. Il est plus dense que le nectar, couleur ambre foncé, son goût est agréable, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes (**Biri, 2011**). Il est récolté par les abeilles (**Fig.2**). En complément ou en remplacement du nectar, il est moins humide que le miel de nectar. La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalisant essentiellement sur les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (**Bonté et Desmoulière, 2013**).



Figure 2 : Abeille léchant du miellat (Clement, 2011).

3.3. Principales différences entre miels de nectar et de miellat

Le miel de miellat est de couleur plus sombre et possède un goût plus prononcé que le miel de nectar. Il possède également des sucres plus complexes comme le mélézitose ou l'erlose, qui sont formés dans le tube digestif des Homoptères. Il est aussi plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux. Ces différentes caractéristiques permettent d'identifier les miels de miellats (Rossant, 2011) (Tab. 1).

Tableau 1 : La différence entre miel de nectar et de miellat (Rossant, 2011).

	Miel de miellat	Miel de nectar
pH	4,5	3,9
Minéraux (cendres)	0,58%	0,26%
Fructose + glucose	61,6%	74%
Autres sucres exprimés en % des sucres totaux		
Mélézitose	8,6%	0,2%
Raffinose	0,84%	0,03%
Maltose +isomaltose	9,6%	7,8%

4. La composition chimique du miel

Le miel est un produit très complexe dont la fabrication demande plusieurs étapes qui toutes ont une influence sur sa composition chimique finale. En effet, la composition qualitative de ce produit est soumise à de nombreux facteurs très variables qu'il est impossible de maîtriser tels que :

- la nature de la flore visitée.
- le sol sur lequel pousse ces plantes.
- les conditions météorologiques lors de la miellée.
- la race des abeilles.
- l'état physiologique de la colonie, etc... (**Rossant, 2011**).

Le miel peut avoir comme composition moyenne :

- Hydrates de carbone (sous formes de sucres divers) : 79.5%.
- Eau : 17%.
- Divers : 3.5% (**Huchet et al., 1996**). (**Fig.3**).

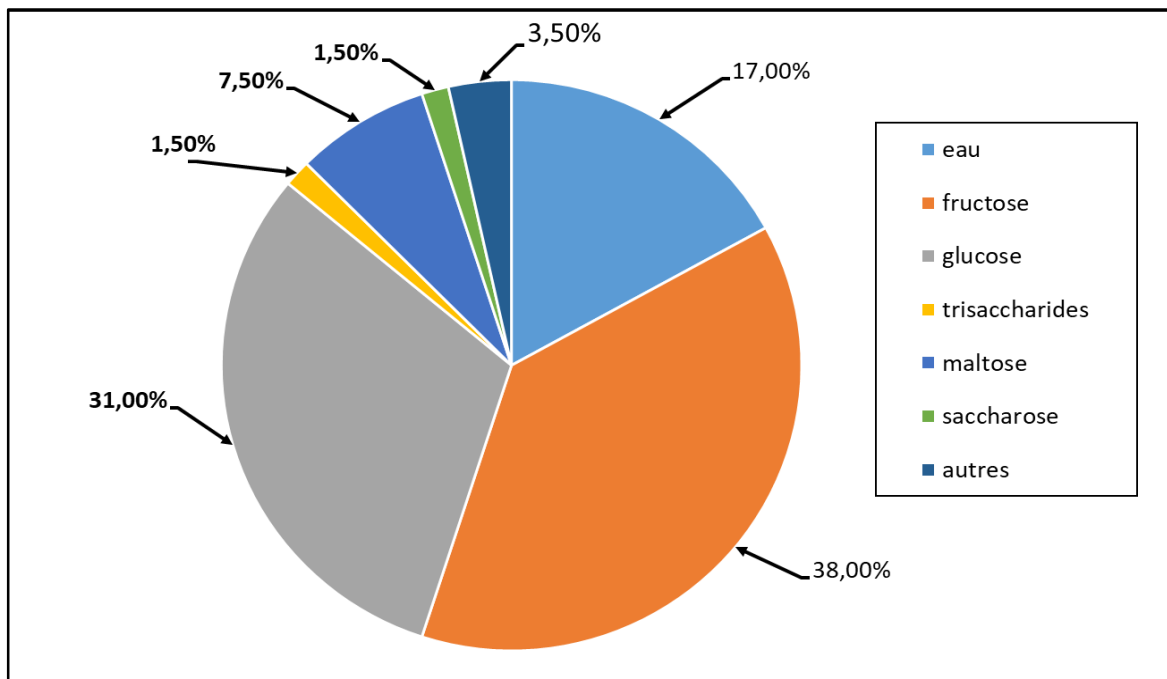


Figure 3 : Composition générale moyenne du miel (**Bruneau, 2009**).

5. Les propriétés physicochimiques du miel

5.1. La Densité

C'est le rapport de la masse d'un miel avec le même volume d'eau, elle se détermine de préférence au pèse sirop ou densimètre. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. Il y a une correspondance entre la teneur en sucre et la densité (**Assie, 2004**). Pour une teneur moyenne en eau de 17,2% à 20°C, la densité moyenne est de 1,42 et varie généralement de 1,39 à 1,44 selon la nature des miels analysés (**Hoyet, 2005**).

5.2. La viscosité

La majorité des miels ont une viscosité normale, c'est-à-dire qu'ils suivent les lois de Newton sur l'écoulement des fluides. La viscosité du miel dépend de trois facteurs qui sont, la teneur en eau, la composition chimique et de la température (**Louveaux, 1985 in Amri, 2016**). La viscosité diminue au fur et à mesure que la température augmente (**Koechler, 2015**).

5.3. La conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel (**Amri, 2016**), Car elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds vu leur richesse en minéraux (**Rossant, 2011**). La conductivité électrique s'exprime en siemens par centimètre et se mesure par un conductimètre (**Amri, 2016**).

5.4. L'indice de réfraction

C'est la propriété optique qui caractérise toute substance transparente. C'est une constante qui dépend de la nature chimique du corps. Lorsque le corps en question est en solution dans l'eau, l'indice de réfraction varie régulièrement entre l'indice de l'eau pure et l'indice du corps pur. La mesure de l'indice de réfraction permet donc de connaître facilement la teneur en eau d'un produit en solution tel que le miel. Cette mesure se fait au moyen d'un réfractomètre (**Louveaux, 1959**).

5.5. Le pH

Sa valeur varie en général entre 3.5 et 5.5, elle est due à la présence des acides organiques (BOGDANOV *et al.*, 2004), notamment l'acide gluconique qui résulte de la transformation du glucose par l'action d'une bactérie *Gluconobacter* lors de la maturation du miel. Le miel contient aussi de l'acide acétique, citrique, lactique, formique, succinique (Blanc, 2010). Il est généralement inférieur à 4 dans le cas des miels de nectar, et supérieur à 5 pour ceux de miellats (Koechler, 2015).

5.6. La solubilité

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

5.7. La conductivité thermique

La conductivité thermique est une mesure du transfert de chaleur. Elle est aussi désignée en tant qu'indice thermique. La conductivité du miel est relativement faible. Le miel un mauvais conducteur de la chaleur (Gonnet et Vache, 1985 in Amri, 2016).

6. Les propriétés organoleptiques

6.1. La coloration

La coloration des miels est une donnée importante parce que c'est une caractéristique physique dépendant de l'origine du produit mais également un élément sensoriel primordial qui détermine en partie le choix du consommateur (Schweitzer, 2001).

6.2. L'odeur et le goût

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

6.3. La cristallisation du miel

Résulte de la formation de cristaux de glucose monohydrates, dont le nombre, la forme, les dimensions et la qualité varient en fonction de la composition du miel et des conditions de stockage. Plus l'eau est basse et la teneur en glucose du miel est élevée, plus la cristallisation est rapide (Eteraf-Oskouei et Najafi, 2013).

6.4. Fermentation

Sous l'influence d'une température favorable (supérieure à 20°C), lorsque sa teneur en eau dépasse la valeur des 18% ou bien s'il est récolté trop tôt, le miel peut fermenter sous l'action des levures. La pasteurisation, qui consiste en un chauffage puissant suivi d'un refroidissement brutal, empêche ce phénomène. Mais ce traitement est à éviter au maximum puisqu'il dénature les composants du miel et notamment les enzymes qui sont thermolabiles (Clement, 2011 in Koechler, 2015).

6.5. Conservation

Le miel se conserve dans un endroit sec puisqu'il est hygroscopique, à température ambiante stable (température optimale de 14°C) et à l'abri de la lumière. Dans ces conditions, il pourra se garder pendant de nombreux mois. Cependant pour bénéficier de toutes ses propriétés thérapeutiques et gustatives, il est recommandé de le consommer dans l'année (Donadieu, 1978 in Koechler, 2015).

7. Les effets bénéfiques du miel sur la santé

7.1. Les propriétés antibactériennes du miel

La puissante activité *in vitro* du miel observée vis-à-vis de bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de son application sur des plaies ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatique (Olaitan *et al.*, 2007). Bien que tous les mécanismes impliqués ne soient pas totalement connus, aujourd'hui six facteurs principaux sont décrits (Kwakman et Zaat, 2012).

7.1.1. L'osmolarité

L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel. En effet, il est connu qu'une osmolarité importante, induite par une forte teneur en sucre, présente un effet bactéricide et favorise la cicatrisation (Archer *et al.*, 1990). Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont alors plus suffisamment d'eau pour survivre. Cependant, il est intéressant de noter qu'à osmolarité équivalente avec une solution de sucre, le miel est plus efficace pour inhiber la prolifération de nombreux germes et notamment celle des *staphylocoques* à coagulase négative (French *et al.*, 2005).

7.1.2. Le pH acide

Le pH du miel est relativement acide, situé entre 3,5 et 5,5. Même si de nombreuses bactéries sont capables de supporter un pH bas, ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de certaines espèces de bactéries pathogènes (Couquet, 2013).

7.1.3. Le système peroxyde d'hydrogène

La principale « inhibine » que contient le miel est le peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) encore appelé eau oxygénée. De nombreuses études ont été réalisées pour apprécier le rôle du peroxyde d'hydrogène dans les effets antibactériens du miel (Brudzynski, 2006). Il s'agit d'un très bon antiseptique, produit par réaction enzymatique. C'est la glucose-oxydase sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet cette réaction (fig. 4).

La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. L'eau oxygénée produite a donc une origine végétale grâce au glucose provenant du nectar des plantes, mais sa formation implique une enzyme d'origine animale, la glucose-oxydase, qui est sécrétée par l'abeille.

L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes. Lors de l'application de miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère de façon lente et prolongée, permettant ainsi une action locale efficace. L'action du peroxyde d'hydrogène contenu dans le miel sur des bactéries résistantes (*Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et quatre souches d'*Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine) prélevées dans des plaies infectées a été récemment soulignée (Brudzynski et Lannigan, 2012).

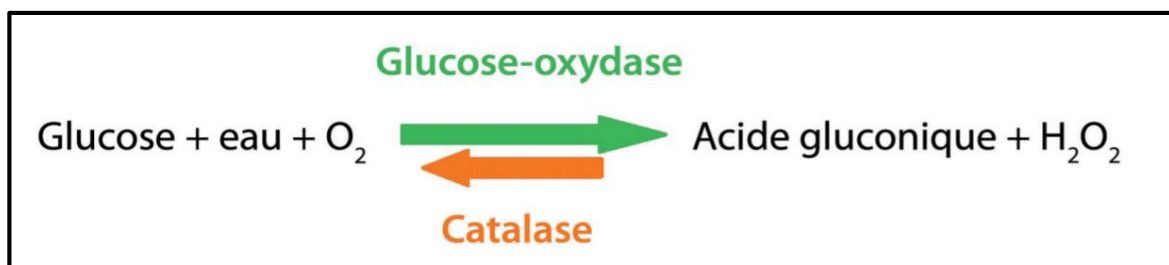


Figure 4. Réaction enzymatique produisant le H₂O₂.

7.1.4. Les facteurs phytochimiques

Parmi les facteurs phytochimiques se retrouvent les huiles essentielles des nectars de fleurs dont le pouvoir antibactérien est déjà connu, comme le thymol du thym ou la pinocembrine, flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels. De par son effet antiseptique, cette dernière jouerait un rôle important dans le maintien de l'hygiène à l'intérieur de la ruche. D'autres composés ayant une activité antibactérienne ont été identifiés dans le miel mais ils sont en quantité trop faible pour contribuer de manière significative à cette activité. (Couquet, 2013).

7.1.5. La défensine-1

La défensine-1 est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Chez l'homme, les défensines constituent une famille de peptides antimicrobiens naturels largement impliqués dans l'immunité innée. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3.5 à 6 KDa qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne. Il a été montré récemment que la grande majorité des propriétés antibactériennes du miel provient de cette protéine (Kwakman *et al.*, 2010).

7.1.6. Le méthylglyoxal

Le méthylglyoxal (MGO) est un antibactérien naturel retrouvé en particulier dans le miel de Manuka (Couquet, 2013).

7.2. Propriétés antioxydantes

Grâce à la présence de nombreux flavonoïdes, le miel a un important pouvoir antioxydant (Rakha *et al.*, 2008). Car ces derniers neutralisent les radicaux libres (Küçük *et al.*, 2007) ayant ainsi un effet bénéfique dans la prévention de certains cancers ou certaines maladies cardiovasculaires (Estevinho *et al.*, 2008 ; Vinson *et al.*, 1998). On peut également noter ici que le miel « foncé », plus riche en flavonoïdes et en fructose, serait plus efficace pour ces propriétés thérapeutiques (Frankel *et al.*, 1998 ; Beretta *et al.*, 2005 ; Bertoneclj *et al.*, 2007).

7.3. Propriétés cicatrisantes

L'une des utilisations les plus étudiées et les plus efficaces du miel concerne la cicatrisation des plaies (Medhi *et al.*, 2008). L'effet remarquablement rapide du miel sur le nettoyage des plaies est dû à la combinaison du flux osmotique et de l'effet bioactif du miel. L'enzyme

glucose oxydase du miel fournit du glucose aux leucocytes, ce qui est essentiel pour que le sursaut respiratoire produise du peroxyde d'hydrogène menant à une activité antibactérienne des macrophages. L'acidité du miel favorise l'activité antibactérienne (Efem, 1998).

7.4. Propriétés anti-diarrhéiques

A une concentration de 40%, le miel a un effet bactéricide sur différentes bactéries de l'intestin souvent associées à la diarrhée et la dysenterie comme *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli enteropathogène* et *Vibrio cholera*. Une étude a montré que le miel donné avec un liquide de réhydratation aux enfants réduit la durée de la diarrhée bactérienne (Amri, 2016).

7.5. Propriétés anti-inflammatoires

Une étude récente a montré que le miel réduisait les activités de la cyclooxygénase-1 et de la cyclooxygénase-2, produisant ainsi des effets anti-inflammatoires (Markelov et Trushin, 2006). Le miel a une action anti-inflammatoire sans effets secondaires indésirables (Molan, 2001).

7.6. Miel et diabète

Le miel comparé au dextrose a entraîné une augmentation significativement plus basse de la glycémie chez les sujets diabétiques. Elle a également entraîné une réduction des lipides sanguins, des taux d'homocystéine et des taux de protéine C-réactive (CRP) chez les sujets normaux et hyperlipidémiques (Bansal *et al.*, 2005 ; Al-Waili, 2004). Des observations antérieures ont montré que le miel stimule la sécrétion d'insuline, diminue les taux de glucose dans le sang, augmente la concentration en hémoglobine et améliore le profil lipidique (Al-Waili, Haq, 2004).

8. Effets indésirables du miel

- Il ne faut jamais donner du miel avant l'âge de un an. Car le miel peut entraîner des proliférations au niveau du tube digestif de l'enfant qui n'est pas mature. Les abeilles prélèvent le miel sur les fleurs qui contiennent de la poussière. Elles prélèvent donc un tas d'éléments, parmi eux : le *clostridium botulinum*, une bactérie qui quand elle passe dans un tube digestif immature, peut se multiplier et donner une toxine qui passe dans le sang et devient dangereuse (Olivier, 2015).
- Le miel est relativement exempt d'effets indésirables. L'application topique de miel peut provoquer une sensation de brûlure passagère. Sinon, il est décrit comme apaisant, soulageant la douleur, non irritant et modifiant le pansement sans douleur.

- L'allergie au miel est rare, mais il pourrait y avoir une réaction allergique au pollen ou aux protéines d'abeille dans le miel.
- Une application excessive de miel peut entraîner une déshydratation des tissus.
- Le risque théorique d'augmentation de la glycémie peut toujours être présent lorsqu'il est appliqué sur une grande plaie ouverte chez le diabétique (**Bansal *et al.*, 2005**).

Chapitre II
**Généralités sur les
antibiotiques**



1. Définition d'antibiotique

Les antibiotiques sont des substances chimiques, élaborées par des micro-organismes ou par synthèse chimique, capables d'inhiber la multiplication (*bactériostatique*) ou de détruire (*bactéricide*) des bactéries (**Caruba et Jaccoulet, 2015**). Leur action étant spécifique et dirigée contre les micro-organismes, ils ne sont pas toxiques pour les cellules eucaryotes (**Guinoiseau, 2010**).

2. Type des antibiotiques

Il existe des antibiotiques d'origines naturelle ou synthétique :

2.1. D'origine naturelle

Parmi les 10 000 antibiotiques d'origine naturelle recensés dans le monde :

- 20 % proviennent de champignons : *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*.
- 70 % proviennent d'actinomycètes microfilaments dont le genre *Streptomyces* est un producteur majeur d'antibiotiques : tétracyclines, aminoglycosides. Entre 1998 et 1992, 1000 nouveaux agents anti-infectieux issus des actinomycètes ont été isolés.
- 10 % proviennent des bactéries (non actinomycètes), en particulier des genres *Bacillus* et *Pseudomonas*. La bacitracine utilisée pour certains traitements locaux en est un exemple (**Saadaoui, 2008**).

2.2. D'origine synthétique

Les antibiotiques synthétiques sont obtenus soit à partir de dérivés artificiels, soit en recréant des substances primitivement extraites de micro-organismes. Parmi les antibiotiques d'origine synthétiques on distingue : Sulfamides, métronidazole, isoniazide, acide nalidixique (1962) et les fluoroquinolones, pénèmes (1976). On distingue aussi des antibiotiques d'origine semi-synthétique, ils sont obtenus en modifiant en laboratoire une substance produite par un micro-organisme (**Saadaoui, 2008**).

3. Classification des antibiotiques

Les antibiotiques sont classés selon différents critères :

- **L'origine de l'antibiotique** : élaboré par un organisme (naturel) ou produit par synthèse (synthétique ou semi-synthétique).
- **Le Mode d'action** : paroi, membrane cytoplasmique, synthèse des protéines, synthèse des acides nucléiques.

- **Le Spectre d'activité** : liste des espèces sur lesquelles les antibiotiques sont actifs (spectre étroit ou large).
- **La Nature chimique** : très variable, elle est basée souvent sur une structure de base (ex : cycle B-lactame) sur laquelle il y a hémi synthèse.

Les principales familles d'antibiotiques sont : les bêtalactamines (pénicilline, céphalosporine et autres), les tétracyclines, les aminosides, les macrolides et apparentés, les fluoroquinolones, les antibiotiques glycopeptidiques, les sulfamides et les antibiotiques divers (acide fusidique, fosfomycine, thiampénicol, polymyxine, Linézolide, rifampicine...) (**Rahal, 2013**).

4. Modes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent de manière spécifique sur les bactéries en bloquant une des étapes essentielles à leur survie ou à leur multiplication. Ainsi, certains antibiotiques inhibent la formation des enveloppes protectrices de la bactérie (membrane ou paroi), d'autres perturbent certaines réactions chimiques essentielles à la vie des bactéries et d'autres enfin empêchent la traduction de leurs gènes en protéines (**Rosner, 2014**) (**Fig.5**).

4.1. Inhibiteurs de la synthèse de la paroi bactérienne

Bacitracine, Pénicilline, Céphalosporines sont tous des familles d'antibiotiques qui agissent sur les germes en croissance inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (la muréine, composant essentiel de la paroi bactérienne) (**Zeba, 2005**). En particulier de la synthèse du peptidoglycane, ce qui modifie la rigidité de la structure et la forme de la bactérie. L'enveloppe externe est alors fortement fragilisée. La bactérie devient très sensible aux stress extérieurs (pression osmotique, température, stress mécanique) provoquant la lyse cellulaire (**Hélène et Hubert, 2014**).

4.2. Inhibiteurs de la synthèse de la membrane cytoplasmique

Parmi ces antibiotiques on distingue les polymexines qui sont actifs que sur les bactéries Gram négatif. Ils agissent sur les membranes lipidiques, la membrane externe d'abord, puis la membrane cytoplasmique. La fixation de polymyxine va désorganiser la structure de ces membranes et les rendre perméable, ce qui aboutit à la mort rapide de la bactérie (**Saadaoui, 2008**).

4.3. Inhibiteurs de la synthèse protéiques

Les Tétracyclines, Aminosides, Chloramphénicol, Macrolides, Acide Fusidique, Linézolide. Ceux-ci empêchent la traduction de l'ARNm par la fixation sur la petite sous-unité des ribosomes ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéine anormale (Yala *et al.*, 2001).

4.4. Inhibiteurs de la synthèse des acides nucléiques

La synthèse des acides nucléiques, ADN et ARN est absolument vitale pour les cellules, sans elle, la division cellulaire et la fabrication des protéines est impossible. Un certain nombre de composés peuvent bloquer de manière directe ou indirecte ces voies de biosynthèse des acides nucléiques et ont en conséquence une activité antibiotique (Benjira, 2016). La Perturbation de la structure de l'ADN, en se fixant sur des enzymes majeures de régulation : la topoisomérase et l'ADN gyrase (Hélène et Hubert, 2014). Il existe des antibiotiques qui bloquent l'action de l'ADN gyrase, il s'agit des aminocoumarines et des quinolones. Plus récemment, ces dernières ont été supplantées par les fluoroquinolones, molécules de synthèse permettant de contourner les mécanismes de résistance aux quinolones (Benjira, 2016).

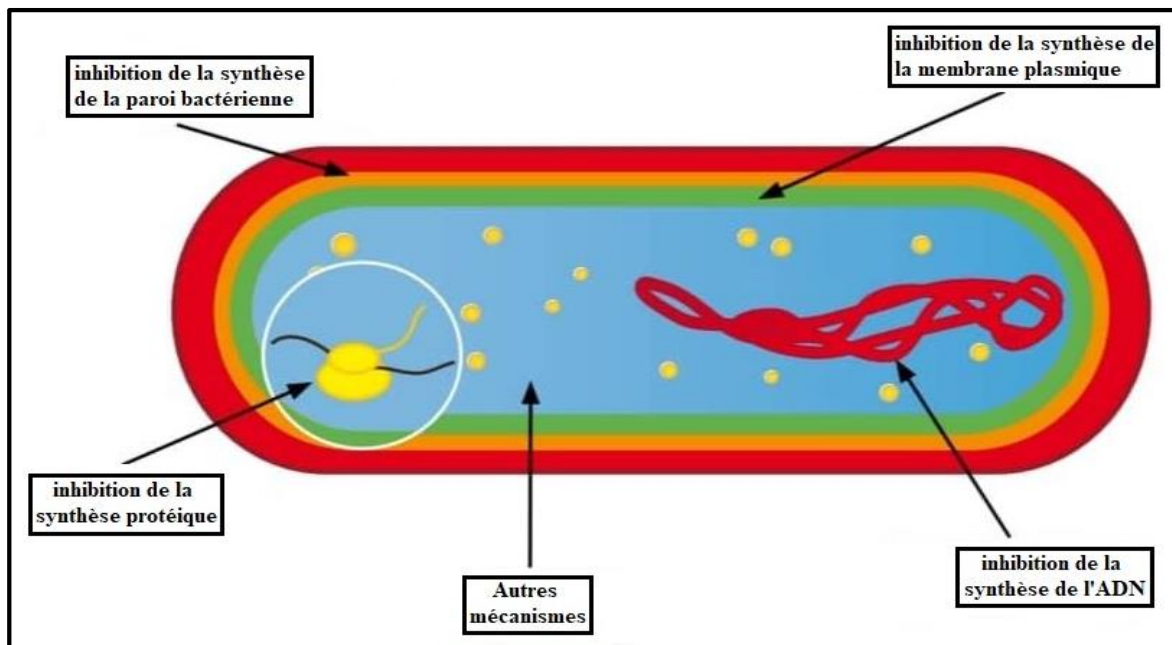


Figure 5 : Mode d'action des antibiotiques (Hélène et Hubert, 2014).

5. La résistance aux antibiotiques

Une souche bactérienne est dite résistante lorsqu'elle se cultive en présence de concentration plus élevée en antibiotique comparativement à d'autres souches qui lui sont phylogénétiquement liées (Muylaert et Mainil, 2012), c'est-à-dire la capacité de croître en présence d'une concentration d'antibiotique supérieure à celle qui inhibe la croissance de la majorité des souches appartenant à la même espèce (Wassa, 2008).

La résistance bactérienne aux antibiotiques se caractérise par son caractère naturel ou acquis son mécanisme et son support génétique (Yala *et al.*, 2001).

5.1. La résistance naturelle

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale) (Sylvie, 2009).

5.2. La résistance acquise

C'est l'acquisition de nouveaux gènes capables de rendre la bactérie insensible à un antibiotique ou à un groupe d'antibiotiques. Ce nouveau gène peut être obtenu soit par mutation au niveau du chromosome qui est un phénomène rare soit par transfert d'ADN de plasmides conjugatifs ou de transposons (mécanisme le plus fréquent) (Yala *et al.*, 2001).

En effet Cette résistance est souvent instable (Sylvie, 2009), n'est présente que chez certaines souches de la même espèce ou du même genre (Courvalin, 2008).

5.2.1. Résistance par mutation chromosomique

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le

même mécanisme d'action. L'utilisation d'une association de deux ou de plusieurs antibiotiques semble pouvoir prévenir l'émergence de mutants résistants. Par exemple, la résistance à la rifampicine et aux quinolones résulte toujours d'une mutation (Sylvie, 2009).

5.2.2. Résistance par acquisition de gène

Elle est due à l'acquisition d'informations génétiques exogènes (acquisition de plasmides ou de transposons) (Guindo, 2008) La transmission d'éléments génétiques mobiles, comme les plasmides et les transposons, favorise également l'acquisition des résistances par les bactéries. Elle peut s'effectuer par transduction, conjugaison ou transformation (Guinoiseau, 2010).

6. Mécanisme de résistance des antibiotiques

Les bactéries ont développé différents mécanismes afin de neutraliser l'action des agents antibactériens six mécanismes principaux sont responsables de la résistance aux antibiotiques (Muylaert et Mainil, 2012) (Fig. 6).

6.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique

L'inactivation enzymatique de l'antibiotique représente le principal mécanisme de résistance des bêta-lactames, des aminoglycosides et des phénicolés. L'enzyme en modifiant le noyau actif de l'antibiotique par clivage ou par addition d'un groupement chimique, empêchant ainsi la fixation de l'antibiotique sur sa cible et provoque une perte d'activité (Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009).

Les bêta-lactamases hydrolysant l'anneau bêta-lactame des pénicillines et des céphalosporines, mécanisme le plus répandu de résistance à la pénicilline. Les aminosides peuvent être inactivés par phosphorylation, adénylylation ou acétylation (Roy, 1997).

6.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La cible de l'antibiotique peut être structurellement modifiée ou remplacée, de telle sorte que le composé antibactérien ne puisse plus se lier et exercer son activité au niveau de la bactérie. Quelques exemples de ce mécanisme de résistance :

- Altération des protéines de liaison aux pénicillines (PLP) aussi connues sous PBP (Penicillin Binding Protein).
- Altération des sites de liaison ribosomiaux.
- Altération de l'ADN-gyrase et de la topoisomérase.

- Altération des précurseurs cibles de la paroi cellulaire bactérienne (**Guardabassi et Courvalin, 2006 ; Alekshun et Levy, 2007 ; Nikaido, 2009**).

6.3. Pompes à efflux

L'efflux actif, médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, est un mécanisme nécessitant de l'énergie et utilisé par les bactéries, par les cellules eucaryotes dont notamment les protozoaires, pour expulser à l'extérieur des métabolites et des composés toxiques étrangers tels que des antibiotiques et d'autres médicaments. Ces pompes à efflux ont généralement une spécificité de substrats assez large, et seulement certaines d'entre elles confèrent une résistance aux antibiotiques. La résistance provient de la réduction de concentration en antimicrobien dans le cytoplasme de la bactérie, ce qui prévient et limite l'accès de l'antibiotique à sa cible (**Poole, 2001 ; Li et Nikaido, 2004 ; Kumar et Schweizer, 2005**).

6.4. Perméabilité réduite

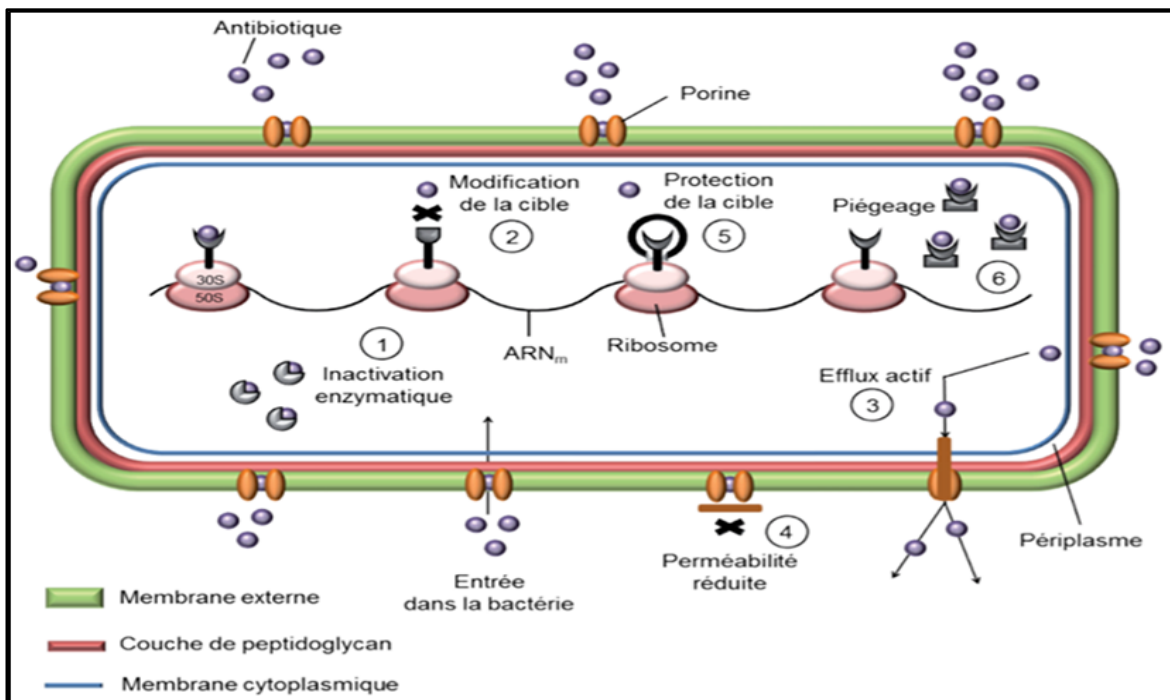
La réduction de la perméabilité cellulaire se produit par diminution de l'entrée de l'antibiotique sur son site, provoquée par une modification de la perméabilité de la membrane interne ou externe de la bactérie. Une altération des porines dans la paroi des bactéries à gram négatif peut réduire ou bloquer la pénétration de l'antibiotique jusqu'à son site d'action. Cette forme de résistance s'exerce généralement à l'endroit de plusieurs antibiotiques appartenant à plus d'une classe, étant donné que de nombreux médicaments différents peuvent emprunter la même porine (**Sylvie, 2009**).

6.5. Protection de la cible de l'antibiotique

La protection de la cible de l'antibiotique est, plus rare et surtout associée à certaines classes de composés est un mode de résistance bien connu pour la famille des tétracyclines et plus récemment décrit pour les quinolones et les fluoroquinolones (**Muylaert et Mainil, 2012**). Par exemple La molécule de quinolone arrive intacte au niveau de l'ADN gyrase et de la topoisomérase, mais une protéine à motifs penta peptidiques répétés, nommée Qnr, gènes plasmidiques qnr (pour quinolone résistance) vient interférer dans le complexe ADN gyrase/ADN/quinolones et inhibe l'action des quinolones sur sa cible (**Mérens et Servonnet, 2010**).

6.6. Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries sont capables de piéger un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule possédant une affinité pour ce dernier. Il en résulte une diminution de l'antibiotique à l'état libre au niveau de la cible. Ainsi des mutations chromosomiques responsables d'une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprim ont été décrites chez de nombreuses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également impliqué dans des bas niveaux de résistance aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus*, et à la tobramycine chez *E. coli* (Muylaert et Mainil, 2012).



- 1 : inactivation enzymatique de l'antibiotique. 2 : modification de la cible de l'antibiotique.
 3 : efflux actif de l'antibiotique. 4 : perméabilité réduite. 5 : protection de la cible de l'antibiotique.
 6 : piégeage de l'antibiotique.

Figure 6 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négatif (Guardabassi et Courvalin 2006).

Chapitre III
Matériel et méthodes



Les Bactéries Multi Résistantes (BMR) sont un véritable problème de santé publique et elles peuvent être introduites en milieu hospitalier de deux façons. Elles peuvent émerger par voie endogène de la flore d'un patient qui a reçu plusieurs antibiothérapies, Ou bien, elles peuvent entrer via l'arrivée de nouveaux résidants déjà colonisés ou infectés. L'objectif principal de ce travail est de déterminer l'effet du miel sur l'activité de quelques antibiotiques sur des souches bactériennes. Cette étude est réalisée au laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté S.N.V.S.T.U de l'université 08 Mai 45 durant la période allant de février à mai 2019.

A côté de cet objectif, nous avons également déterminé :

- Les caractéristiques physicochimiques des différentes variétés de miels testés.
- La résistance et la sensibilité de bactéries testées vis-à-vis de quelques antibiotiques.
- L'effet antibactérien du miel.

1. Les souches bactériennes

Le choix des bactéries a été porté sur cinq souches fréquentes en pathologie humaine. Ces espèces constituent un problème majeur de santé publique par leur résistance naturelle à divers agents antibactériens.

Il s'agit des espèces référenciées suivantes :

- Deux souches à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ATCC27853.
- Trois souches à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC25923 et *Staphylococcus aureus* ATCC 43300 et *Enterococcus faecalis* ATCC29212.

Qui ont été isolée au niveau du laboratoire de bactériologie, Hôpital « Ibn zohr » Guelma.

2. Milieux de culture

Tableau 1 : Les Milieux de culture et l'aspect macroscopique des colonies isolées.

Milieu	Bactérie	Aspect des colonies
Chapman	<i>Staphylococcus Aureus</i>	Petite colonie de couleur jaune (doré), ronde, bombée et lisse à contour régulier, filante sous l'anse avec un virage de couleur du milieu vers le jaune.
Gélose Nutritif	<i>Escherichia Coli</i>	Petite colonie blanc cassé ou beige, arrondie, aplatie, de texture sèche et brillante et à croissance régulière. sans pigment mais changent de couleur lorsqu'elle est transformée par un plasmide.
Blood agar base	<i>Entérocoques faecalis</i>	Petite colonie grise, circulaire, non hémolytique.
King A	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Les colonies présentant une fluorescence jaune verte.
Gélose Muller Hinton (MH)		Le milieu le plus employé pour les tests de sensibilité aux agents antibactériens.
Bouillon MH		Pour la détermination de l'effet antibactérien du miel et des antibiotiques.

3. Types de miel

Les différents types de miel utilisés dans ce travail sont présentés dans le **tableau 2** et dans la **figure 1**.

Tableau 2 : Origine des échantillons de miels étudiés.

Échantillon	Origine botanique	Date	Région
Miel 1	Origan (zaatar)	2018	Ain Defla
Miel 2	Eucalyptus	2018	Tipaza
Miel 3	Montagne 1 (Multi fleurs)	2018	Ain Defla
Miel 4	Montagne 2 (Multi fleurs)	2018	Guelma
Miel 5	Oranger	2018	Ain Defla
Miel 6	Peganum (El Harmel)	2018	Ain Defla
Miel 7	Jujubier (sidr)	2018	Ain Defla



Figure 1 : Échantillons du miel étudiés (photo personnelle, 2019).

4. Les antibiotiques

Les différents antibiotiques utilisés dans ce travail sont présentés dans le **tableau 3**.

Tableau 3 : Antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance.

Antibiotique	Code	Charge du disque
Pénicilline G	P	10µg
Vancomycine	VA	30µg
Erythromycine	E	15µg
Gentamycine	CN	10µg
Amoxicilline	AMC	30µg
Ofloxacin	OF	05µg

5. Analyses physico-chimiques du miel

5.1. Teneur en eau et indice de réfraction

L'indice de réfraction est une mesure optique qui varie en fonction de la concentration en eau du produit à analyser et de la température. La détermination de la teneur en eau s'effectue par la mesure optique de l'indice de réfraction (IR) du miel à 20°C. Cette mesure est réalisée par un réfractomètre de type Bellingham et Stanley (**Fig.2**).

Mode opératoire : (Bogdanov, 2009)

- Nettoyer et sécher le prisme du réfractomètre.
- Régler le réfractomètre à zéro.
- Le miel à analyser est homogénéisé et liquéfié. Dans le cas où l'échantillon est cristallisé, on le met dans un flacon fermé hermétiquement et on le place à l'étuve à 40°C ou dans un bain marie à 50°C, jusqu'à ce que tous les cristaux de sucres soient dissous.
- Après refroidissement à température ambiante à l'aide d'une spatule, une goutte de miel est déposée et étalée en couche mince sur la surface du prisme.
- La lecture de l'IR est effectuée à travers l'oculaire à 20°C, si elle est faite au-dessus de 20°C, on ajoute 0,00023 par degré et dans le cas contraire on soustrait 0,00023 par 1°C.
- Les résultats obtenus seront portés à la table de CHATAWAY (**Annexe 1**) qui indique la teneur en eau correspondante.

5.2. La matière sèche (Degré Brix)

Avec la méthode de la réfractométrie (**Fig.2**), on peut évaluer le taux de matière séchée. La lecture est faite sur l'échelle qui indique la teneur en matière sèche ou « Degré Brix » qui se trouve en parallèle avec l'échelle de l'indice de réfraction. (**Annexe 2**).



Figure 2 : Réfractomètre de type Bellingham et Stanley (photo personnelle, 2019).

5.3. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique est un bon indicateur de l'origine botanique du miel, très souvent utilisé dans le contrôle de routine du miel (Chouia, 2014). Elle est déterminée par un conductimètre de type Hanna instruments (HI 9033) (Fig.3), la mesure est effectuée à 20°C pour une solution de miel à 20% (1V/5V). Les résultats sont exprimés en milli Siemens par centimètre (mS.cm-1).

Mode opératoire : (Benaziza et Schweitzer, 2010)

- Peser dans un petit bécher 10g de miel, le dissoudre dans un 50ml d'eau distillée. Bien mélanger jusqu'à homogénéisation.
- Placer la solution au bain marie à 20°C.
- Plonger l'électrode du conductimètre dans la solution (lorsque la température est à $20\text{c}\pm 0.5^\circ\text{C}$).
- Lire la valeur qui s'affiche sur l'écran.



Figure 3 : conductimètre de type Hanna instruments (HI 9033) (photo personnelle, 2019).

5.4. Détermination du pH

C'est la mesure du potentiel hydrogène d'une solution de miel à l'aide d'un pH mètre de type AD1030 (Fig.4).

Mode opératoire : (Bogdanov, 2009)

- Peser dans un petit bécher 10g de miel le dissoudre dans 75ml d'eau distillée.
- Rincer l'électrode à l'eau distillée puis la sécher.
- Placer la solution de miel a analysé sous agitation magnétique.
- Plonger l'électrode propre et sèche dans la solution à analyser.
- Attendre la stabilisation de la valeur du pH.



Figure 4 : PH mètre de type AD1030 (photo personnelle, 2019).

5.5. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre est déterminée par une titration avec une solution d'hydroxyde de sodium (NaOH) (**Fig.5**).

Mode opératoire : (Bogdanov, 2009)

- Dissoudre 10 g d'échantillon dans 75 ml d'eau distillée dans un bécher
- Remuer avec l'agitateur magnétique, plonger l'électrode du pH mètre dans la solution et ajouter goutte à goutte la solution de NaOH (0.1N) jusqu'à l'obtention d'un pH de 8.3 (ce point doit être obtenu dans un délai de 2 minutes du début de la titration).

- Les résultats sont donnés en milliéquivalents ou milli moles d'acide par kilo gramme de miel (méq/kg) selon la formule :

$$\text{acidité libre} = V1 \times 10$$

Où V1 : Volume de NaOH nécessaire pour avoir un pH de 8,30

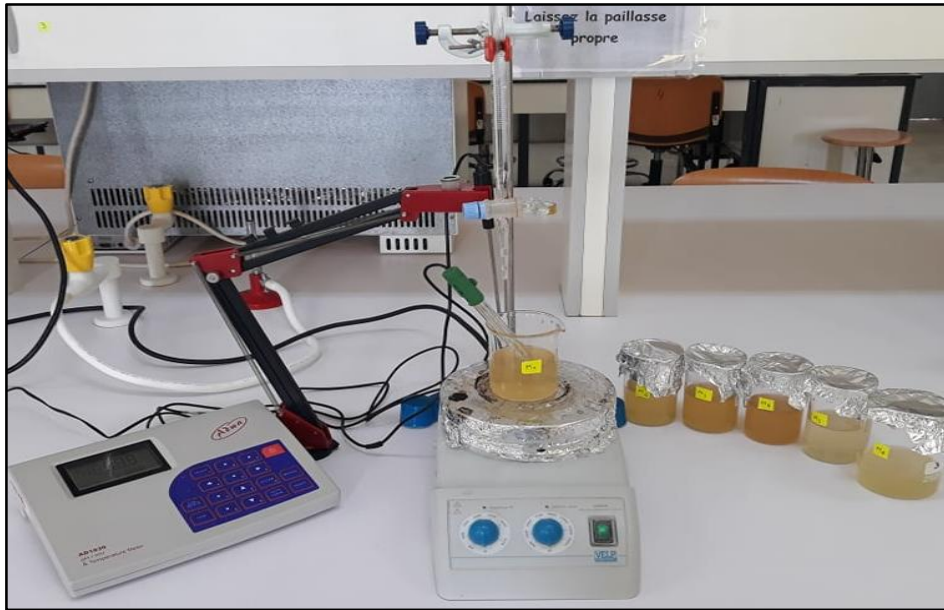


Figure 5 : Mesure l'acidité libre du miel par titration (photo personnelle, 2019).

5.6. Détermination de la teneur en polyphénols

La mise en évidence de polyphénols par le chlorure de fer (FeCl_3) avec formation éventuelle de précipité sombre, méthode employée au laboratoire d'analyses et d'écologie apicole (CETAM Lorraine, France).

Mode opératoire : (Makhloufi, 2011)

- Peser 2 g de miel dans un verre de montre.
- Mettre à l'étuve à une température inférieure à 50°C pour liquéfier le miel.
- Ajouter 6 gouttes de FeCl_3 (9g/100ml), mélanger.
- La formation d'un précipité violet/noir indique la présence de polyphénols.

5.7. Détermination de la teneur en cendres

La mesure de la teneur en cendre est déterminée selon la méthode de (Williams, 1984. In Amri, 2016). La méthode est basée sur l'incinération de miel à une température de 600°C pendant 4 heures.

Mode opératoire :

- Carboniser une masse M0 miel (M0 = 5g), dans une capsule en porcelaine, à une température de 600°C dans un four à moufles (Fig.6) pendant 4 heures, jusqu'à l'obtention d'une cendre blanche.
- Après refroidissement, on pèse la cendre obtenu (M1).
- L'expression des résultats est calculée selon la formule suivante :

$$\text{Teneur en cendres} = \frac{M1 - M2}{M0} \times 100\%$$

- ✓ M1 : poids de la capsule avec les cendres.
- ✓ M2 : poids de la capsule vide.
- ✓ M0 : poids de miel.



Figure 6 : Four a moufle de type NABERTHERM (photo personnelle, 2019).

6. Étude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme) a été réalisée selon la méthode classique de diffusion des disques d'antibiotiques sur milieu Mueller-Hinton en suivant les recommandations du *Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie*. (CA-SFM, 2018).

6.1. 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 pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Suspending les colonies dans l'eau distillée stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne.

6.2. Ensemencement de la gélose pour l'antibiogramme

La gélose utilisée est la gélose Muller Hinton (MH). Son ensemencement est effectué selon les étapes suivantes :

- Couler la gélose MH en boîtes de pétri, laisser sécher et solidifier avant utilisation.
- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne préparée.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum.
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose de haut en bas, en stries serrées.
- Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose.

6.3. Application des disques d'antibiotiques

- Les disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant légèrement sur le disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paille pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose.
- L'incubation s'est faite dans l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

6.4. Lecture

- Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes CASFM. (**Comité de l'Antibiogramme de la société française de Microbiologie**).
- Il convient de noter toutefois, qu'une souche est déclarée sensible, intermédiaire ou résistante en fonction de la taille du diamètre d'inhibition autour du disque d'antibiotique.

7. L'effet antibactérien du miel

7.1. En milieu solide

L'action antibactérienne des différents types de miel étudiée contre les souches bactériennes choisies. Est réalisé par la méthode de diffusion des puits pour l'estimation de l'effet inhibiteur. Il est à noter que nous avons utilisé comme milieu la Gélose Muller Hinton au lieu du Gélose trypticase soy (non disponible).

- Le milieu stérile en surfusion en tubes à essai, calibré à la température de 45 à 50°C, est préalablement inoculé par une colonie de la souche à tester d'une culture de 18 à 20 Heures.
- Le tube est homogénéisé puis coulé en boîte de Pétri.
- Après solidification du milieu, des puits de 8 mm de diamètre sont réalisés dans la gélose.
- Le fond des puits est colmaté par une goutte de gélose MH pour limiter la diffusion du produit testé sous la gélose.
- Le puits est rempli sans débordement par le miel à tester.
- Les zones d'inhibition sont mesurées après incubation.
- Le miel est testé avec les concentrations de 100, 75, 50 et 25% (**Belhadj, et al ; 2016**).

7.2. En milieu liquide

L'effet antibactérien sur les 3 souches a été déterminé selon la méthode adoptée par (**Chaibi et al ; 1996**). Il est à noter que nous avons utilisé comme milieu le Bouillon Muller Hinton au lieu du Bouillon trypticase soy (non disponible).

- Les tubes contenant 10 ml de Bouillon Muller Hinton (BMH), sont additionnés par différentes concentrations du miel à tester (100, 75, 50 et 25%).

- Les tubes sont aseptiquement inoculés par une colonie de la souche à tester puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 h.
- La densité optique (DO) est mesurée à une longueur d'onde de 625 nm au temps initial et après 24 h d'incubation (**Fig.7**).
- L'inhibition est exprimée par l'indice d'inhibition (II) calculé selon la formule suivante :

$$II = 1 - \frac{dA1}{dA2}$$

- ✓ dA1 : différence entre l'absorbance après 24 h d'incubation et l'absorbance au temps initialensemencé et contenant l'échantillon (miel).
 - ✓ dA2 : différence entre l'absorbance après 24 h d'incubation et l'absorbance au temps initialensemencé et sans l'échantillon.
- 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.
 - Un II < 0 indique qu'il y a une stimulation de la croissance.



Figure 7 : Spectrophotomètre de type Prim Light SECOMAM (photo personnelle, 2019).

8. L'effet de l'association miel + antibiotique

8.1. En milieu solide

Deux disques d'antibiotiques sont sélectionnés pour chaque bactérie (vis-à-vis des quels la souche bactérienne a présenté fort résistance), deux types de miel sont testé (Origan, Eucalyptus).

- *Staphylococcus aureus* : Pénicilline G et Erythromycine.
- *Pseudomonas aeruginosa* : Pénicilline G et Vancomycine.
- *Escherichia coli* : Pénicilline G et Vancomycine.

Mode opératoire (Abd-El Aal, *et al* ; 2007)

- Les disques de miel sont préparés en utilisant du papier filtre stérile sec (6 mm de diamètre).
- Les boîtes de pétri contenant de la gélose Müller-Hinton sont ensemencés par la souche bactériennes à tester.
- Sur une moitié de la boîte sont déposés les disques d'antibiotiques, et sur l'autre moitié sont déposés les disques d'antibiotiques imbibés par le miel. Au centre de la boîte est déposés un disque imbibé avec du miel (**Fig.8**).
- Les boîtes sont incubées à 37 ° C pendant 24 h.

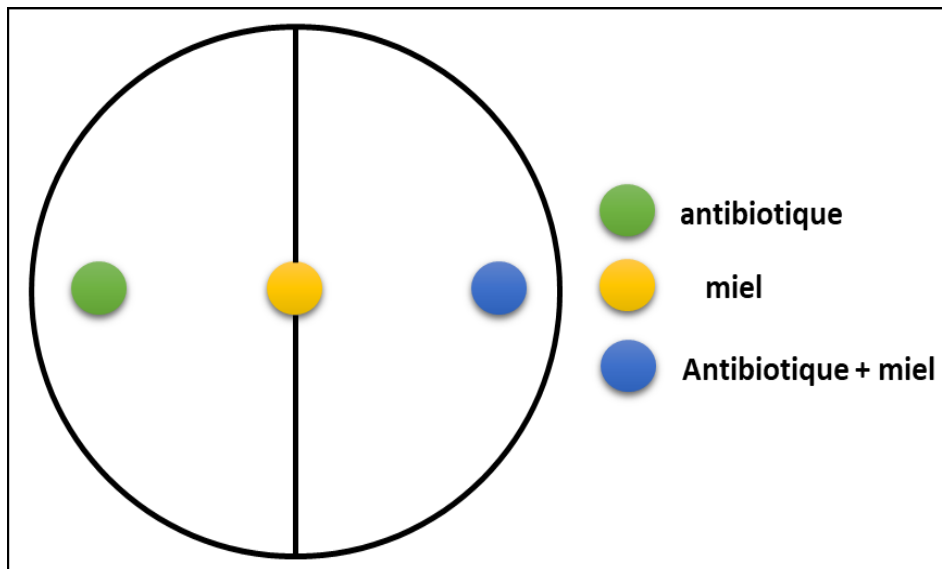


Figure 8 : disposition des disques sur la GMH.

8.2. En milieu liquide

8.2.1. Test de l'activité antibactérienne de Pénicilline G

L'effet antibactérien de la Pénicilline G sur les 3 souches en milieu liquide a été déterminé selon la méthode suivante :

- Les tubes contenant 10 ml de Bouillon Muller Hinton (BMH), sont additionnés par différentes concentrations du Pénicilline G (1mg, 10mg, 50mg, 100mg).
- Les tubes sont aseptiquement inoculés par une colonie de la souche à tester puis les tubes sont incubés à 37°C pendant 24 h.
- Le Nombre de cellules bactériennes est déterminé par la méthode de **(Davis et al ; 1994)** ($1\text{DO/ml}=8\times 10^8$ cellules/ml).

8.2.2. L'association miel + Pénicilline G en milieu liquide

Par le dénombrement à intervalles réguliers (2h) des bactéries survivantes dans les 4 tubes en calculant la densité optique à l'aide d'un spectrophotomètre visible (Prim Light SECOMAM) (**Fig.7**) (**Bresnick, 2004**). D'après **(Davis et al ; 1994)** le nombre de cellules peut être facilement estimé par mesure de la lumière diffusée à 600 nm du fait que la lecture de la DO est linéaire avec le nombre des cellules bactériennes : $1\text{DO/ml}=8\times 10^8$ cellules/ml.

Quatre tubes sont préparés :

- ✓ Les tubes contenant 10 ml de Bouillon Muller Hinton (BMH).
- Tube témoin ne contenant ni miel ni Pénicilline G.
- Tube contenant le miel à concentration 50%.
- Tube contenant la Pénicilline G à concentration de 1mg/ml.
- Tube contenant l'association miel + Pénicilline G de concentration 50% et 1mg/ml respectivement.
- ✓ Inoculer tous les tubes par la souche à tester.
- ✓ Incuber les tubes à 37°C avec agitation.

Chapitre IV
Résultats et discussion



1. Analyses physico-chimiques du miel

1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

La teneur en eau est un facteur hautement important car il permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur la stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours de stockage (kuçuk *et al.*, 2007).

Les résultats de la teneur en eau des échantillons étudiés sont représentés dans la (fig.9).

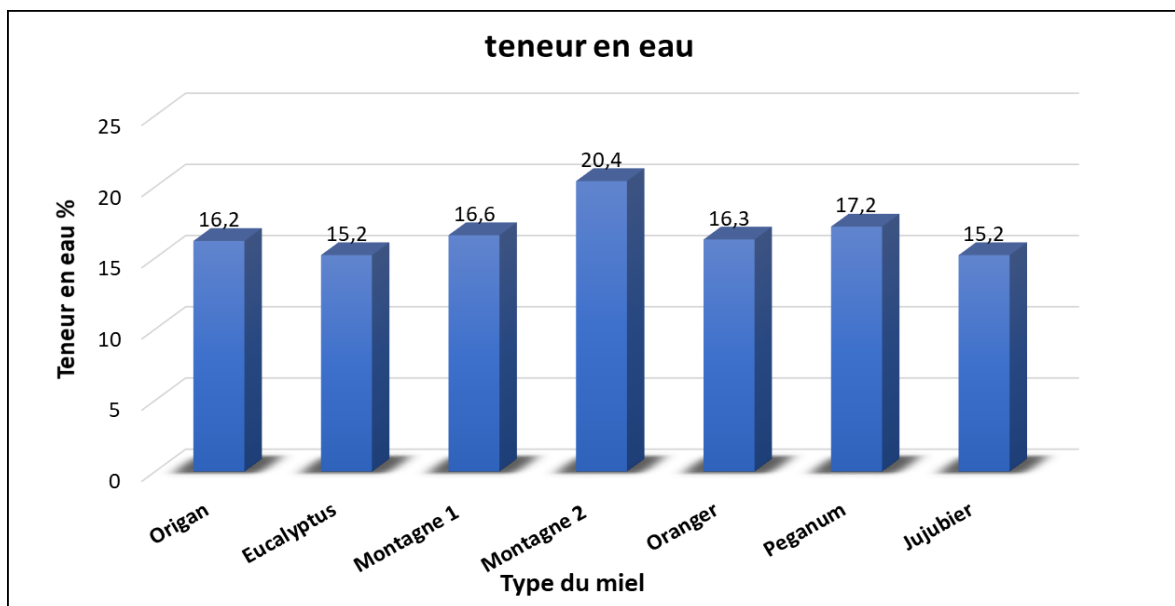


Figure 9 : La teneur en eau des échantillons de miel.

Les valeurs obtenues sont comprises entre 15.2% et 20.4% avec une valeur moyenne de 16.72%. Ces dernières sont dans les normes internationales (Codex Alimentarius, 2001). Elles sont largement inférieures à 21%. Le miel d'Eucalyptus et du Jujubier provenant des régions de Tipaza et d'Ain Defla présente la plus faible teneur en eau 15.2%. Cela confirme que le risque de fermentation très faible dans ces échantillons. Contrairement, le miel de montagne 2 région de Guelma, il présente la plus forte teneur en eau 20.4% et de ce fait, contient la plus faible teneur en matières sèches. En effet, la variation de l'humidité pourrait s'expliquer par la composition et l'origine florale du miel.

1.2. La matière sèche (Degré Brix)

Le miel est une solution extrêmement concentrée en sucre simple. Parmi ces sucres figurent le fructose et le glucose que l'on trouve en quantité voisine dans les miels (Tosun, 2013).

Les résultats d'analyse de la matière sèche des différents types du miel sont représentés sur la (fig. 10).

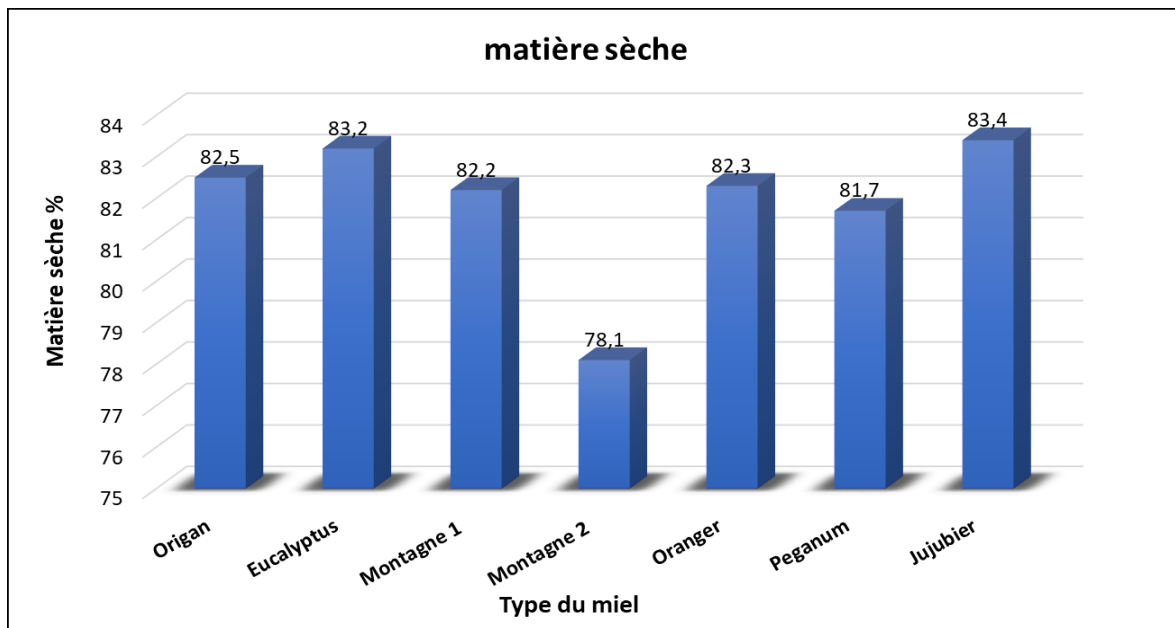


Figure 10 : La teneur en degré de Brix des échantillons de miel.

Le degré Brix ou pourcentage de matière sèche indique la quantité de sucres contenue dans le miel. La variation du taux de matière sèche (Degré Brix) des miels est entre 78.1 et 83.4 % avec une moyenne de 81.91%. Ces taux sont conformes aux normes du (Codex Alimentarius, 2001). Le miel de Jujubier présente la forte valeur 83.4 %, par contre le miel de montagne 2 présente la valeur la plus faible 78.1 %. Ces taux sont conformes aux normes du (Codex Alimentarius, 2001).

1.3. La conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre qui montre une grande variabilité liée à l'origine florale, elle est considérée comme un paramètre pour la différenciation entre les miels de différentes origines florales (Terrab et Heredia, 2004 ; Terrab et al., 2004).

Les résultats de la conductivité électrique des échantillons des miels étudiés sont représentés dans la (Fig. 11).

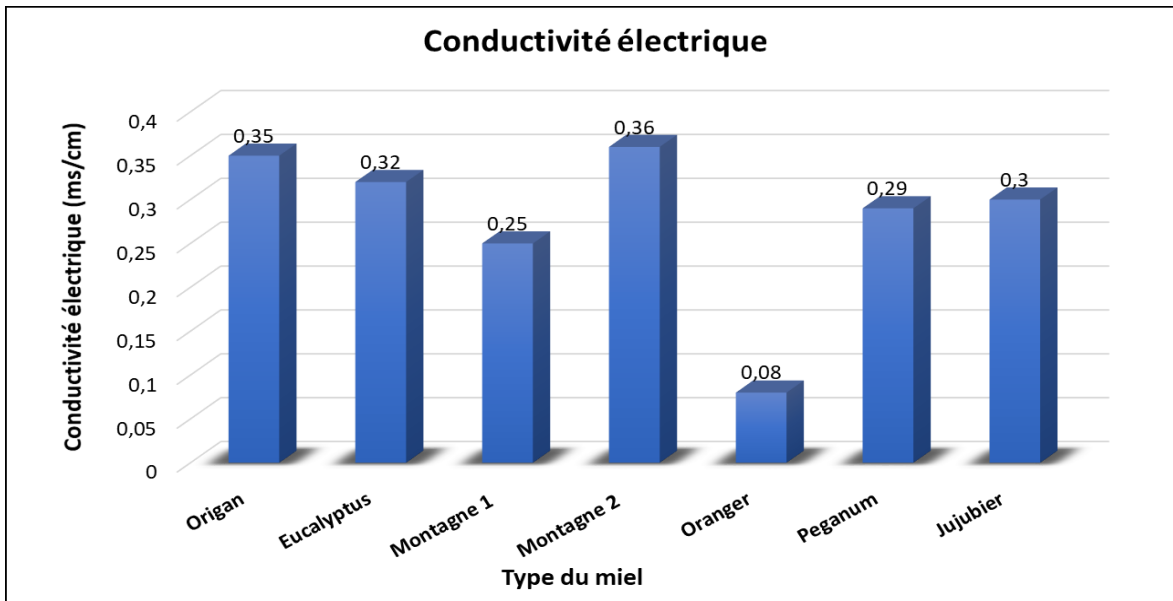


Figure 11 : Conductivité électrique des échantillons de miel.

Les valeurs de la conductivité électrique varient respectivement entre 0.08 ms/cm pour le miel d'Oranger région d'Ain Defla et 0.36 ms/cm pour Le miel de Montagne 2 région de Guelma. Les valeurs obtenus de tous nos échantillons de miel analysées sont inférieures à 0.8 ms/cm cela veut dire que ce sont des miels de nectars.

1.4. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu, il représente la concentration des ions H^+ d'une solution.

Les valeurs du pH des différents échantillons étudiés sont représentées dans la (Fig. 12).

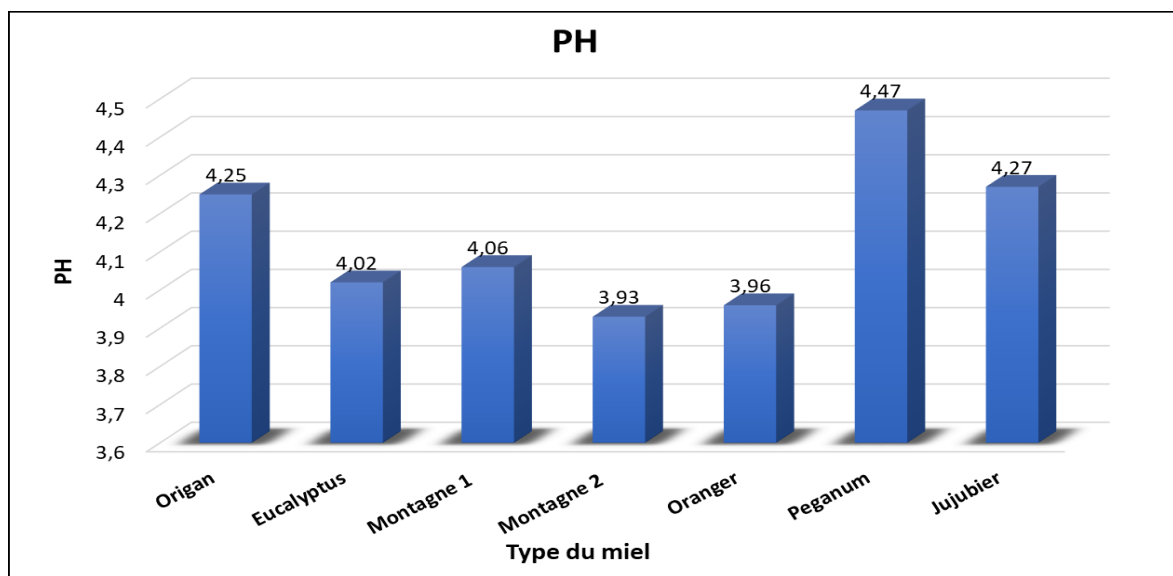


Figure 12 : Le pH des échantillons de miel.

Les valeurs de pH des miels étudiés tendent vers l'acidité, elles sont comprises entre 3.93 pour miel de Montagne 2 et 4.47 pour le miel de Peganum, avec une moyenne de 4.13. Ces valeurs sont en accord avec les recommandations du (**Codex Alimentarius 2001**).

1.5. L'acidité libre

L'acidité libre est un critère de qualité important, puisque tous les miels sont acides, Cette acidité provient d'acides organiques, certaines proviennent du nectar et d'autres du miellat, mais leur origine principale est recherchée du côté des sécrétions salivaires de l'abeille et dans les processus enzymatiques et fermentatifs (**Amri, 2016**).

Les résultats de l'acidité des échantillons étudiés sont représentés dans la (**Fig. 13**).

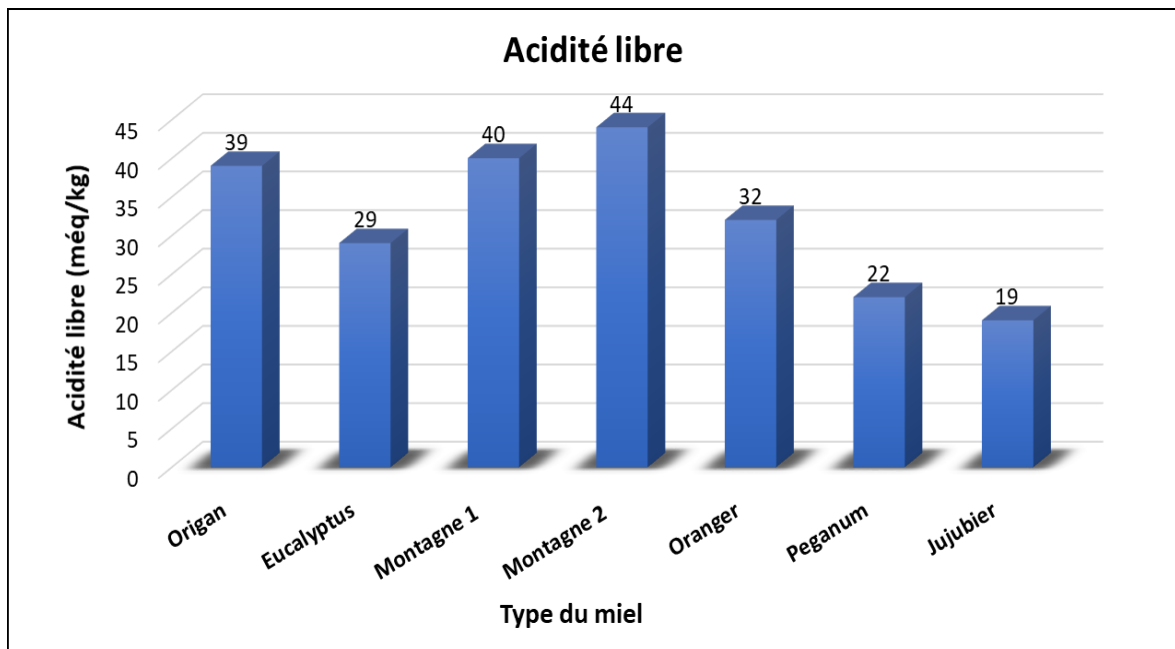


Figure 13 : Acidité libre des échantillons de miel

Les valeurs de l'acidité des miels analysés varient de 19 à 44 mEq /kg, avec une valeur moyenne de 32.14 mEq /kg. Ces valeurs d'acidité totale ont inférieures à la valeur fixée par **le Codex Alimentarius (2001)** qui est de 50 mEq/kg. Cela indique l'absence de fermentations indésirables.

1.6. La teneur en polyphénols

Les polyphénols font partie des groupes de composés naturels importants, de haut intérêt thérapeutique par le miel (Djossou *et al.*, 2013).

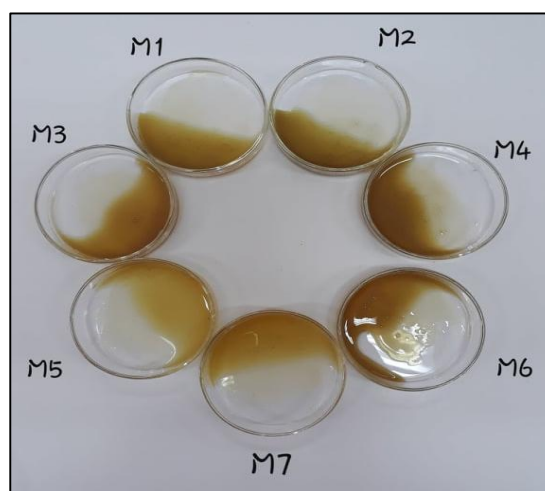
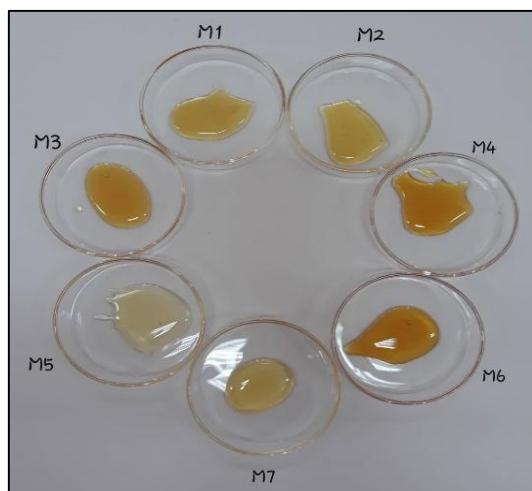


Figure. 14 : Miel avant l'ajout de $FeCl_3$. **Figure. 15 :** Miel après l'ajout de $FeCl_3$.

Selon Makhloufi, (2011), l'apparition d'un précipité noir dans l'échantillon de miel indique la présence de polyphénols (Fig. 14 et 15). Nos résultats montrent des teneurs variables en composés phénoliques des miels suivant leurs origines qui se traduisent par des différences marquées de leur couleur. À titre d'exemples, les miels foncés proviennent des échantillons Montagne 1 (M3), Origan (M1), Eucalyptus (M2), Montagne 2 (M4), et Peganum (M6), ce sont donc les plus riches en composés phénoliques et ceux moins foncés provient des échantillons de Jujubier (M7), Oranger (M5), de couleur claire, donc les plus pauvres en polyphénol.

1.7. La teneur en cendres

La teneur en cendres est un critère de qualité qui dépend de l'origine botanique et géographique du miel. La teneur en matière minérale est un critère utilisé dans les normes internationales (Amri, 2016).

Les résultats de la teneur en cendres des échantillons étudiés sont représentés dans la (Fig. 16, 17 et 18).

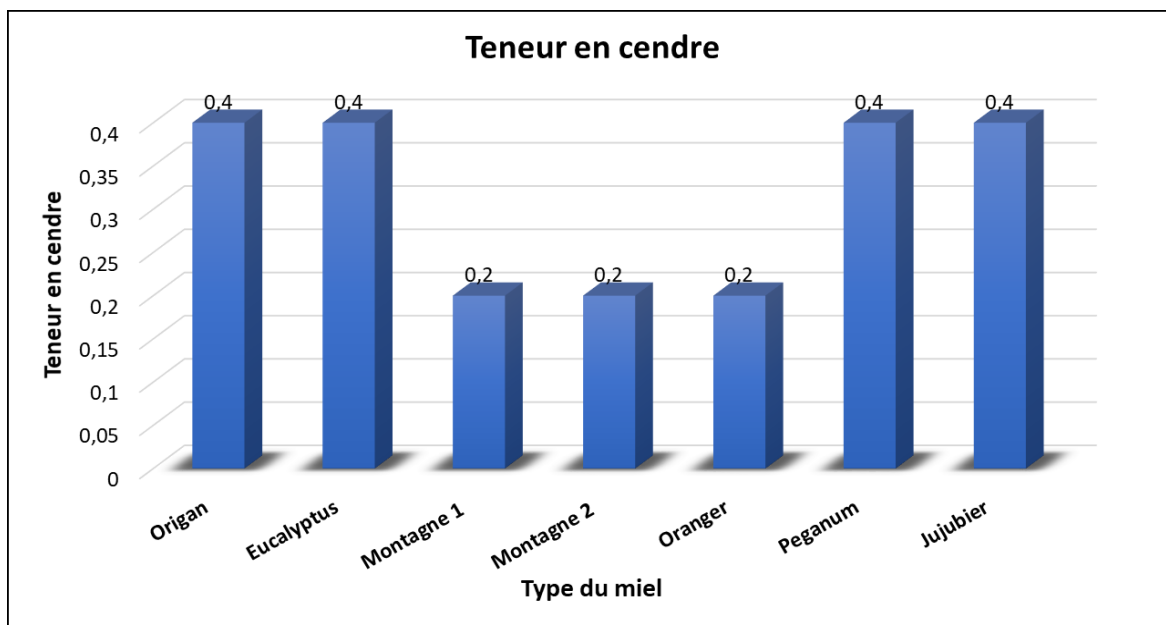


Figure 16 : la teneur en cendre des échantillons de miel

La matière minérale des miels analysés varie entre 0.2% et 0.4 %. Avec une moyenne de 0.31%. Ces valeurs sont proches à celle trouvées par **Doukani et al., (2014)** de 0.09 à 0.45%. **Nandaa et al., (2003) in Bakchiche et al., (2018)** indiquent que la limite permise de la teneur en cendres des miels de nectar est de 0.6%. Les valeurs de cendres obtenues étaient en dessous de 0.6%. Ces résultats sont en accord avec la limite autorisée par (**Codex Alimentarius 2001**) pour les miels de nectar.



Figure 17 : Miel à l'état normal



Figure 18 : Miel après l'incinération

2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques

La résistance aux antibiotiques constitue aujourd’hui l’une des plus graves menaces pesant sur la santé mondiale, la sécurité alimentaire et le développement. Les deux grandes causes impliquées dans cette augmentation proviennent en grande partie de l’abus des antibiotiques et le transfert plasmidiques codant pour de différents mécanismes de résistance acquise. Les résultats du pouvoir antibactérien des antibiotiques testés sont récapitulés dans le **tableau 4** et la **figure 19**.

Tableau 4 : Résultats de l’antibiogramme.

Bactéries \ ATBs	<i>S.aureus</i> 00	<i>S.aureus</i> 23	<i>P.aeruginosa</i>	<i>E. coli</i>	<i>E. faecalis</i>
Pénicilline G (P)	00 - R	36 - S	00 - R	00 - R	00 - R
Vancomycine (VA)	17 - S	16 - I	00 - R	00 - R	00 - R
Erythromycine (E)	00 - R	26 - S	10 - S	08 - S	10 - S
Gentamycine (CN)	23 - S	20 - S	15 - S	26 - S	16 - I
Amoxicilline (AMC)	08 - S	30 - S	00 - R	22 - S	00 - R
Ofloxacin (OF)	26 - S	26 - S	25 - S	37 - S	25 - S

S = Sensible. I = Intermédiaire. R = Résistante.

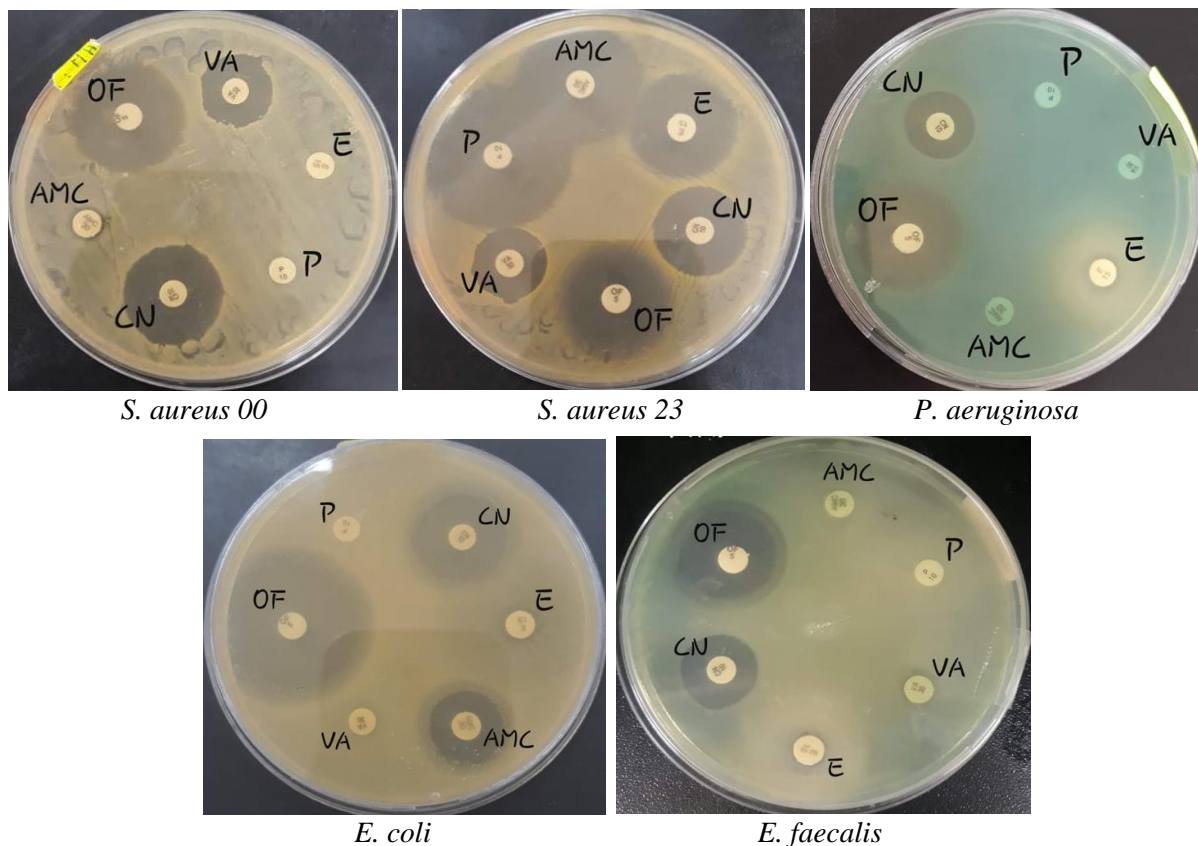


Figure 19 : Antibiogramme des cinq bactéries testées.

D'après les résultats du tableau, la croissance des quatre souches bactériennes *S. aureus* 00, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *E. faecalis* n'est pas affectée par la majorité des antibiotiques.

- La souche *S. aureus* 00 est résistante pour les antibiotiques : Pénicilline G, Erythromycine, par contre avec les antibiotiques : Vancomycine, Gentamycine, Amoxicilline et Ofloxacin elle présente une sensibilité.
- La souche *P. aeruginosa* est résistante pour les antibiotiques : Pénicilline, Vancomycine et Amoxicilline, par contre elle est sensible vis à vis des antibiotiques : Erythromycine, Gentamycine et Ofloxacin.
- La souche *E. coli* est résistante pour les antibiotiques : Pénicilline et Vancomycine, par contre, elle est sensible vis à vis des antibiotiques : Amoxicilline, Erythromycine, Gentamycine et Ofloxacin.
- La souche *E. faecalis* est résistante pour les antibiotiques : Pénicilline, Vancomycine et Amoxicilline, par contre elle est sensible vis à vis des antibiotiques : Erythromycine, Gentamycine et Ofloxacin.
- La souche *S. aureus* 23 s'est révélée sensible à tous les antibiotiques testés.

À travers les résultats du tableau 04, l'objectif de l'antibiogramme est de sélectionner les souches bactériennes qui présentent une forte résistance, c'est le cas de : *S. aureus* 00, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

3. L'effet antibactérien du miel

Plusieurs études réalisées *in vitro* ont mis en évidence les propriétés thérapeutiques et antibactériennes du miel. Cependant, l'analyse des différents résultats rapportés sur les inhibitions de croissance bactérienne causées par le miel à des concentrations variables révèle à la fois des similitudes et des divergences. Cette étude expose les résultats relatifs à l'action de sept miels sur la croissance de ces 3 souches bactériennes sélectionnés.

3.1. En milieu solide

L'évaluation de l'effet inhibiteur des différents miels testés sur les trois souches bactériennes sur milieu solide est exprimée par le diamètre de l'auréole d'inhibition.

Les résultats obtenus pour les différentes souches testés sont résumés dans le **tableau 5**.

Tableau.5 : Diamètre d'inhibition en mm des 3 souches bactériennes.

Dilutions	<i>S. aureus</i>				<i>P. aeruginosa</i>				<i>E. coli</i>			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
M1	17	16	11	00	42	26	00	00	45	40	28	22
M2	12	12	00	00	35	25	00	00	40	33	33	25
M3	12	10	00	00	30	00	00	00	28	27	25	20
M4	14	11	00	00	25	20	17	00	34	30	25	15
M5	00	00	00	00	30	28	25	00	37	35	27	25
M6	18	12	00	00	20	00	00	00	22	17	12	00
M7	00	00	00	00	35	26	00	00	47	38	28	21

Les concentrations en miel testées sont A : 100%, B : 75%, C : 50%, D : 25%

- Pour *S. aureus*, les zones d'inhibition obtenues sont entre 0 et 18 mm de diamètre. La valeur maximale a été attribuée aux miels d'origan et Peganum testés sans dilution.

Le miel d'oranger et jujubier montrent une activité antibactériennes nulle pour toute les concentrations. Cependant, le miel d'origan apparaît un effet antibactériennes sur les concentrations 100%, 75%, 50% et les autres miels eucalyptus, montagne1 et 2, Peganum apparu un effet pour les concentrations 100%, 75%. A la concentration de 25% aucun effet n'est observé avec cette souche (**Fig. 20 et 21**).

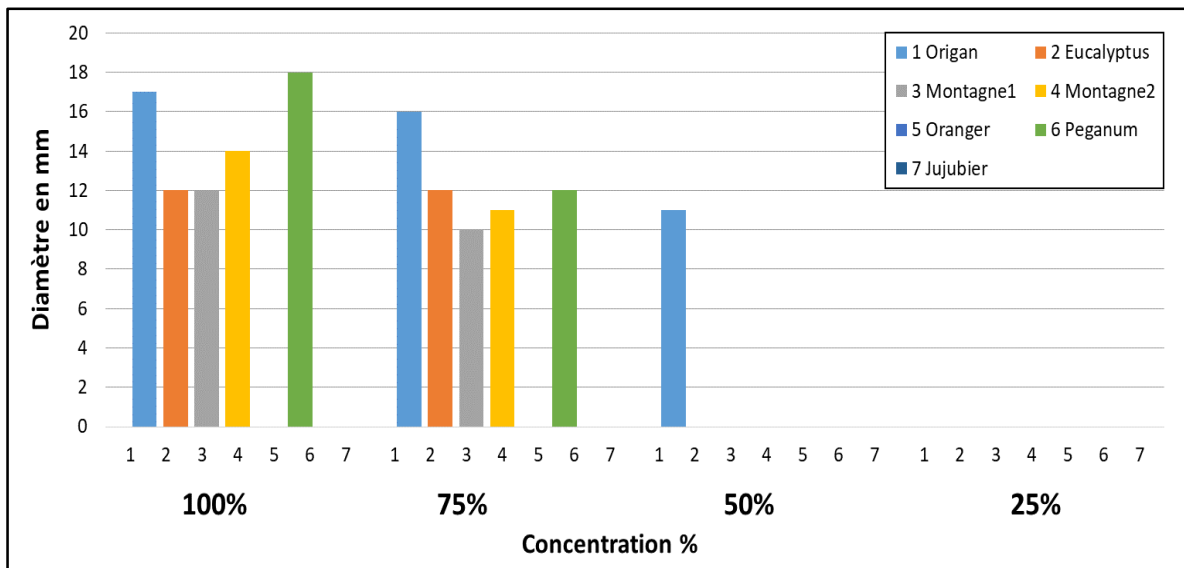


Figure 20 : Effet antibactérien du miel sur *S. aureus* en milieu solide

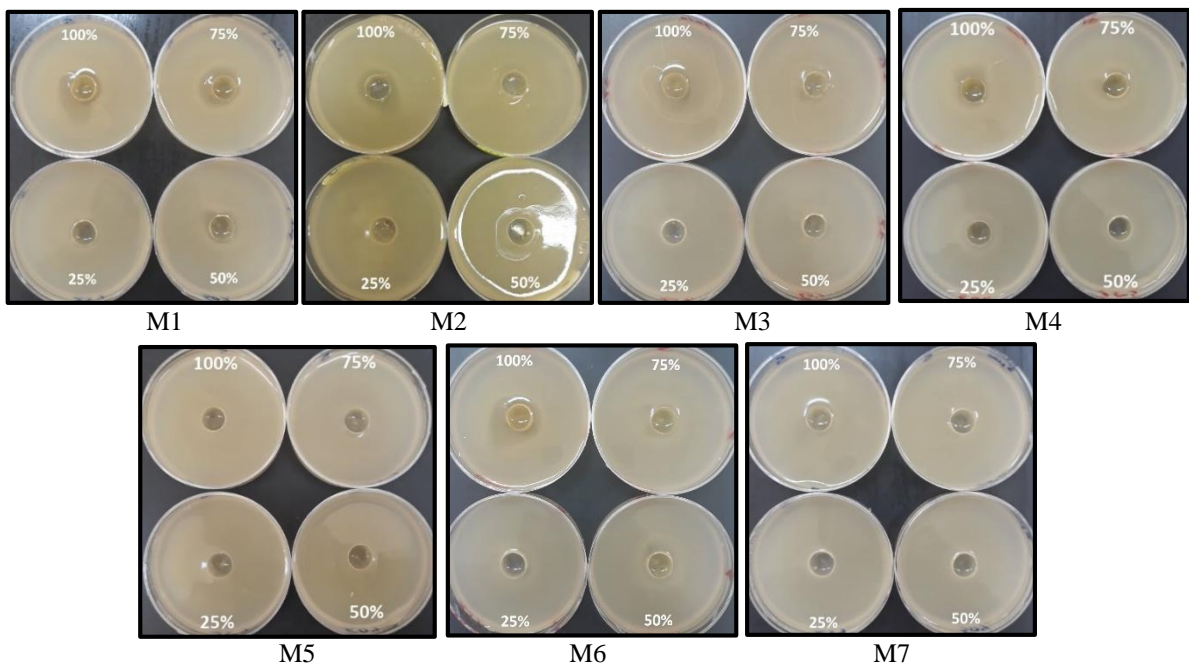


Figure 21 : Diamètre d'inhibition avec *S. aureus*.

- Pour *P. aeruginosa*, les zones d'inhibition obtenues sont entre 0 et 42 mm de diamètre. La valeur maximale a été attribuée aux miels d'origan, eucalyptus et jujubier sans dilution. Les miels d'oranger, montagne 2 montrent une activité antibactérienne avec les concertations 100%, 75% ,50%. On parallèle, les miels d'origan, eucalyptus et jujubier montrent un effet à 100% et à 75%. Cependant le miel montagne 1 et Peganum montrent une

activité à 100% seulement. Tous les miels n'ont montré aucune inhibition à la concentration 25% sur cette souche (Fig. 22 et 23).

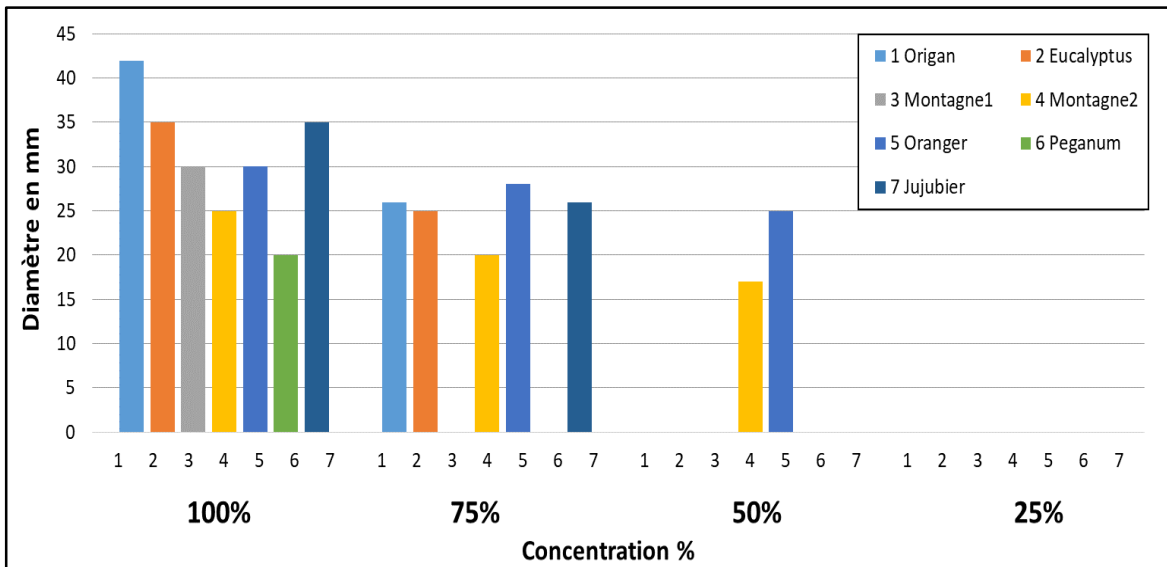


Figure 22 : Effet antibactérien du miel sur *P. aeruginosa* en milieu solide

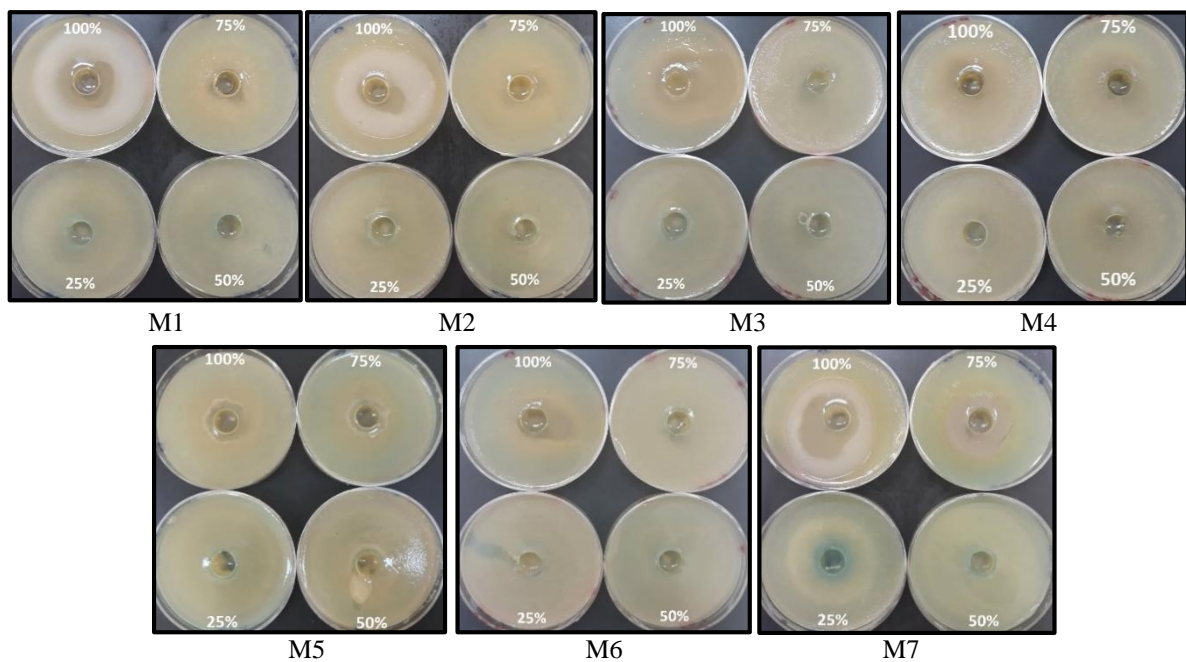


Figure 23 : Diamètre d'inhibition avec *P. aeruginosa*.

- Pour *E. coli* les zones d'inhibition obtenues sont entre 12 et 47 mm de diamètre. La valeur maximale a été attribuée aux miels d'origan, eucalyptus et jujubier sans dilution. Tous les miels étaient efficaces contre *E. coli* à toutes les concentrations testées 100%, 75%, 50 %, 25%, L'action antimicrobienne la plus faible a été enregistrée par le miel Peganum à 25%, qui a montré une action nulle à cette concentration (Fig. 24 et 25).

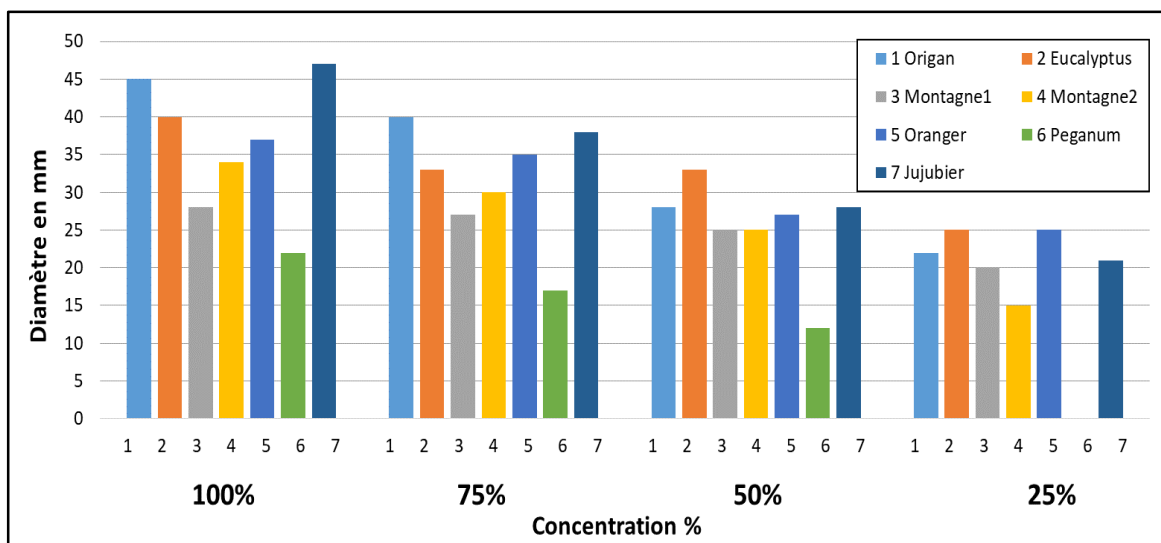


Figure 24 : Effet antibactérien du miel sur *E. coli* en milieu solide

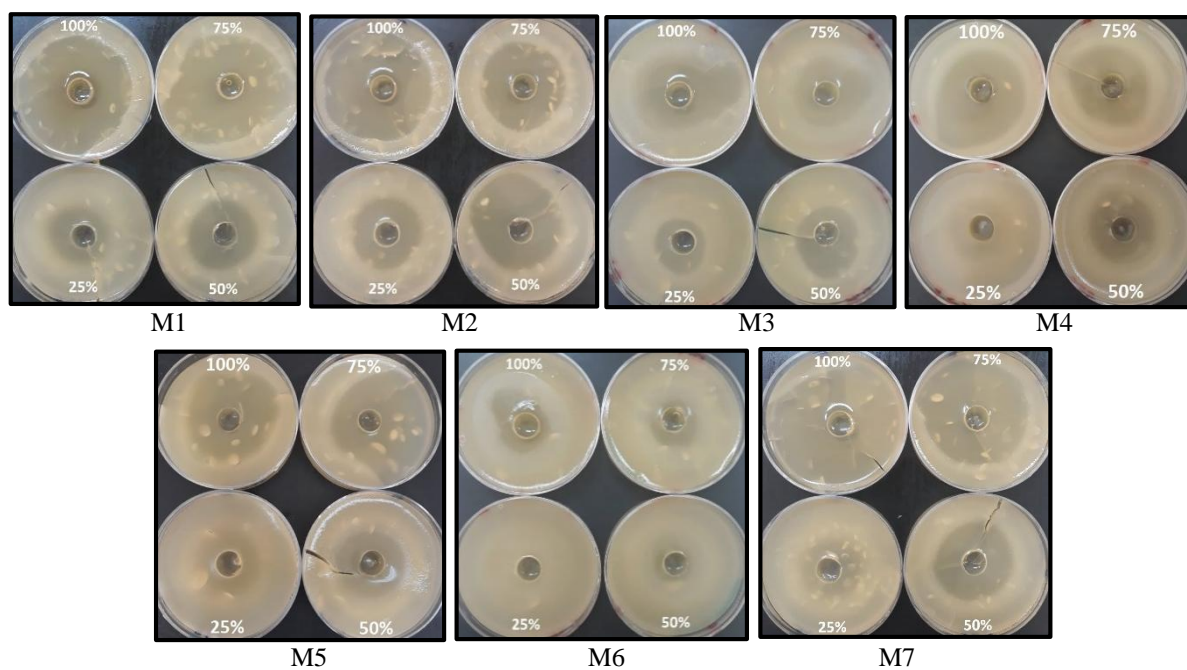


Figure 25 : Diamètre d'inhibition avec *E. coli*

3.2. En milieu liquide

Tableau 6 : Indice d'inhibition pour les 3 souches bactériennes testées

Dilutions	<i>S. aureus</i>				<i>P. aeruginosa</i>				<i>E. coli</i>			
	A	B	C	D	A	B	C	D	A	B	C	D
M1	1.03	1.02	1.02	1.00	1.00	1.03	1.03	-0.6	1.08	1.04	1.04	-0.36
M2	1.06	1.04	0.89	0.74	1.13	1.13	1.11	1.10	1.13	1.11	0.81	0.09
M3	1.01	1.00	0.80	0.61	1.06	1.04	0.62	0.32	1.05	1.05	1.01	0.11
M4	0.93	0.93	0.92	0.44	0.88	0.80	0.79	0.53	1.05	1.05	1.03	0.27
M5	1.03	0.97	0.81	0.65	1.11	0.97	0.42	-0.72	1.11	1.08	0.61	00
M6	1.01	1.01	0.99	0.33	1.03	0.98	0.64	00	1.09	1.09	1.08	0.24
M7	1.02	1.00	0.82	0.52	0.95	0.81	0.55	-1.14	1.07	1.01	0.33	-0.02

Les concentrations en miel testées sont A : 100%, B : 75%, C : 50%, D : 25%

Le **tableau 6** et les **figures 26, 27 et 28** montrent que les différentes concentrations de miels testés ont une activité accentuée sur l'ensemble des souches à fortes concentration (100%, 75% et 50%).

En se basant sur la faible concentration testée (25%), l'activité inhibitrice des miels contre la croissance de chacune des trois souches, peut être classée de la plus efficace vers la plus faible comme suit :

- Pour *S. aureus* : Miel origan (M1) > miel eucalyptus (M2) > miel d'oranger (M5) > miel montagne1 (M3) > miel jujubier (M7) > miel montagne2 (M4) > miel Peganum (M6).
- Pour *P. aeruginosa* : Miel eucalyptus (M2) > miel montagne2 (M4) > miel montagne1 (M3) > miel Peganum (M6) > miel origan (M1) > miel d'oranger (M5) > miel jujubier (M7).
- Pour *E. coli* : Miel montagne2 (M4) > miel Peganum (M6) > miel montagne1 (M3) > miel eucalyptus (M2) > miel d'oranger (M5) > miel jujubier (M7) > miel origan (M1).

A cette concentration (25%), presque tous les miels ont montré un indice d'inhibition inférieur ou égal à 1.10.

Le miel de jujubier a montré un indice d'inhibition plus faible avec les concentrations 50 et 25%.

Le miel d'Eucalyptus a montré une inhibition totale sur *P. aeruginosa* avec toutes les concentrations (100%, 75%, 50% et 25%) et pour les deux premières concentrations 100%, 75% sur *S. aureus* et *E. coli*.

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 $II > 0.97$ dans la plupart des cas.

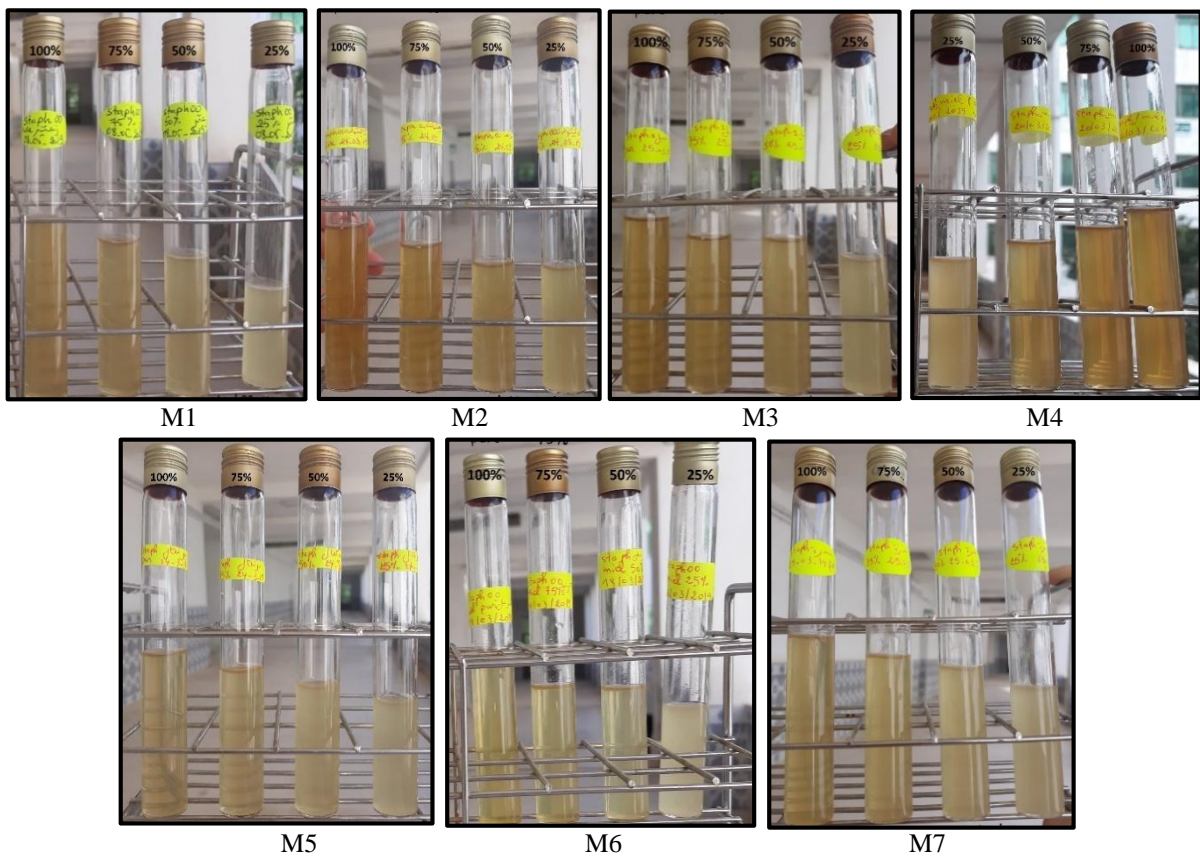


Figure 26 : Effet antibactérien du miel sur *S. aureus* en milieu liquide

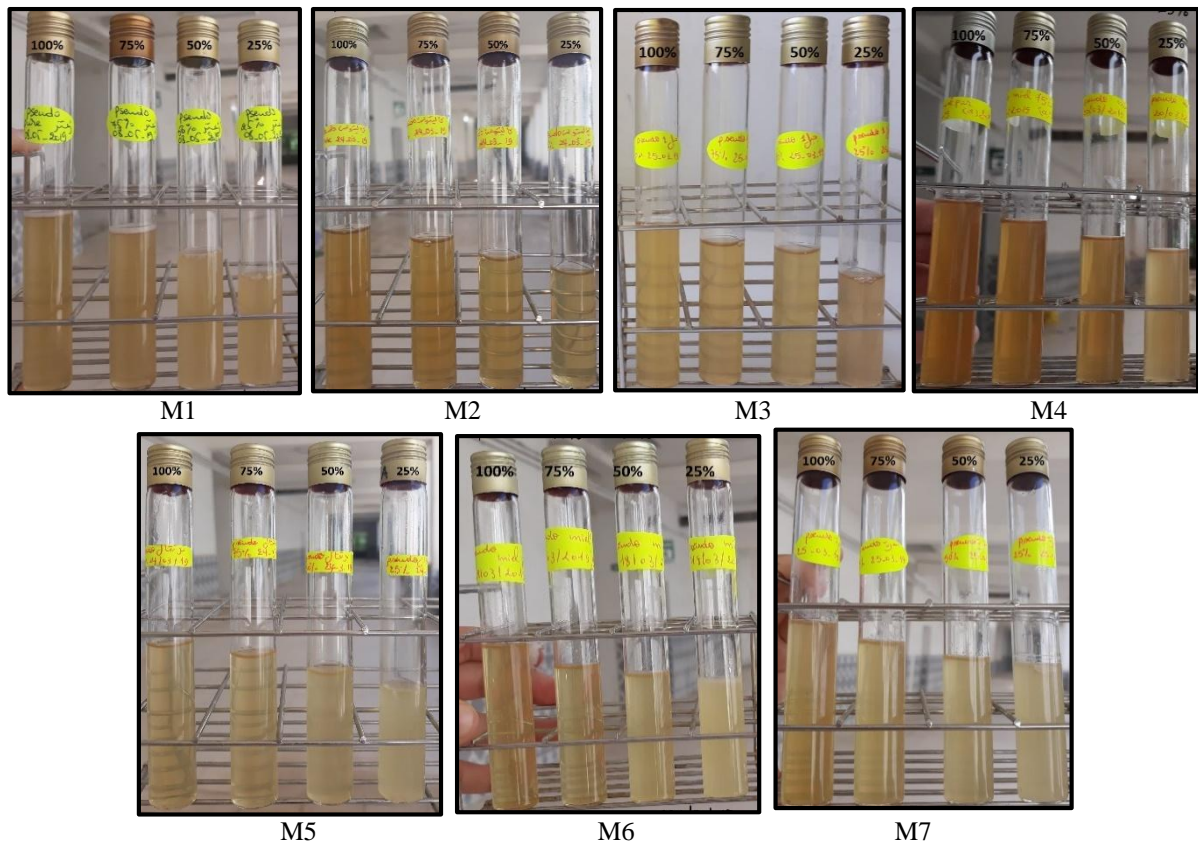


Figure 27 : Effet antibactérien du miel sur *P. aeruginosa* en milieu liquide

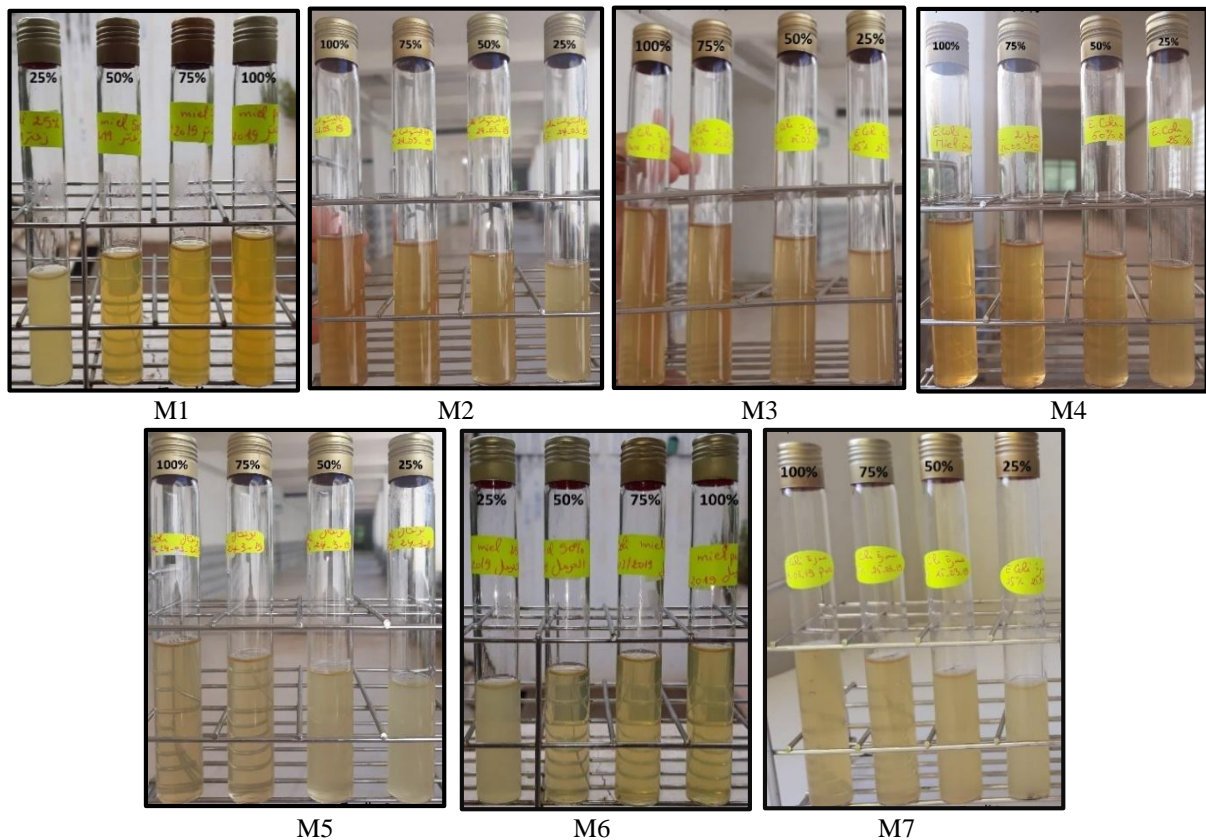


Figure 28 : Effet antibactérien du miel sur *E. coli* en milieu liquide

4. L'effet de l'association miel + antibiotique

4.1. En milieu solide

4.1.1. L'effet de l'association entre le miel d'origan + antibiotiques :

Le résultat de la combinaison de miel d'origan avec des antibiotiques par la méthode de diffusion sur milieu gélosé est mentionné dans la **figure 29** :

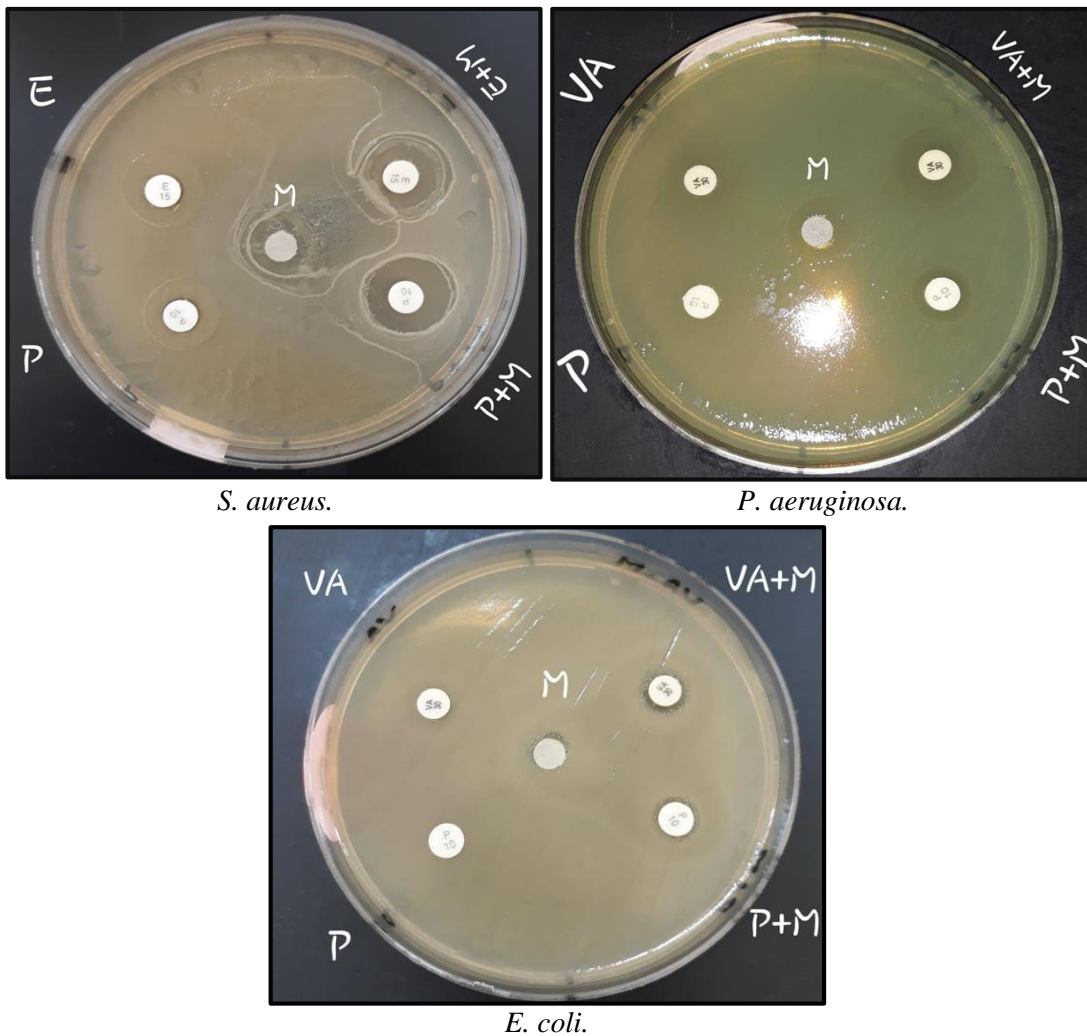


Figure 29 : Photographie des résultats de la combinaison réalisée par la méthode de diffusion sur gélose.

La zone d'inhibition moyenne du miel d'origan est nettement supérieure pour les trois bactéries étudiées à celle des antibiotiques : Pénicilline G (P), Erythromycine (E), Vancomycine (VA).

Lorsque le miel est ajouté aux disques d'antibiotiques, il y'a une augmentation de l'action d'inhibition surtout avec la souche *Staphylococcus aureus*. On parallèle il y'a une

augmentation moins importante de la zone d'inhibition avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*.

4.1.2. L'effet de l'association entre le miel d'eucalyptus + antibiotiques :

Le résultat de la combinaison de miel d'eucalyptus avec des antibiotiques par la méthode de diffusion sur milieu gélosé est mentionné dans la **figure 30** :

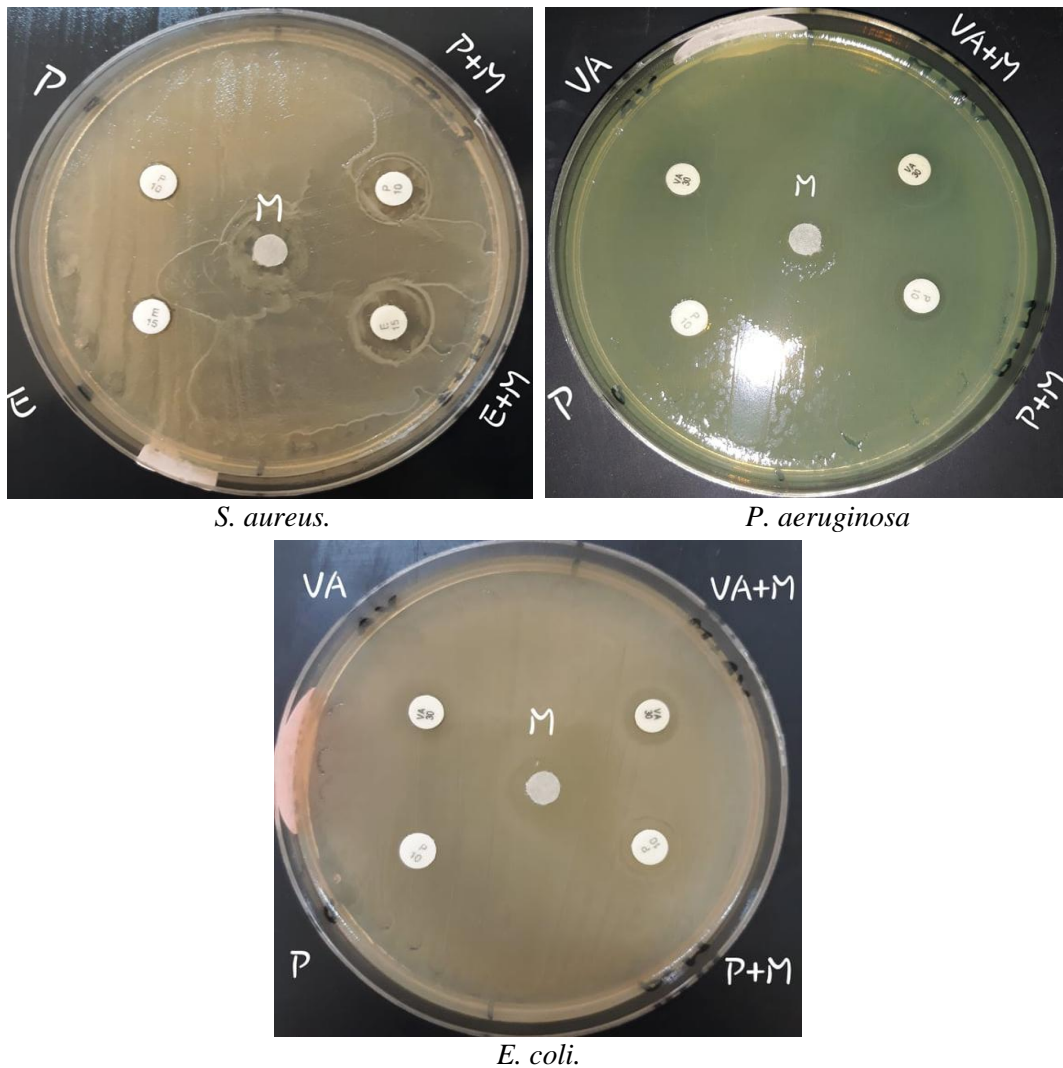


Figure 30 : Photographie des résultats de la combinaison réalisée par la méthode de diffusion sur gélose

Nous constatons que les résultats du mélange miel d'eucalyptus + antibiotique ont le même effet que de la première expérience avec le miel d'origan. En particulier pour la bactérie *S.aureus* où il y'a une augmentation de la zone d'inhibition et avec *P.aeruginosa* et *E. coli* donne une augmentation moins importante.

4.2. En milieu liquide

4.2.1. Test de l'activité antibactérienne de Pénicilline G

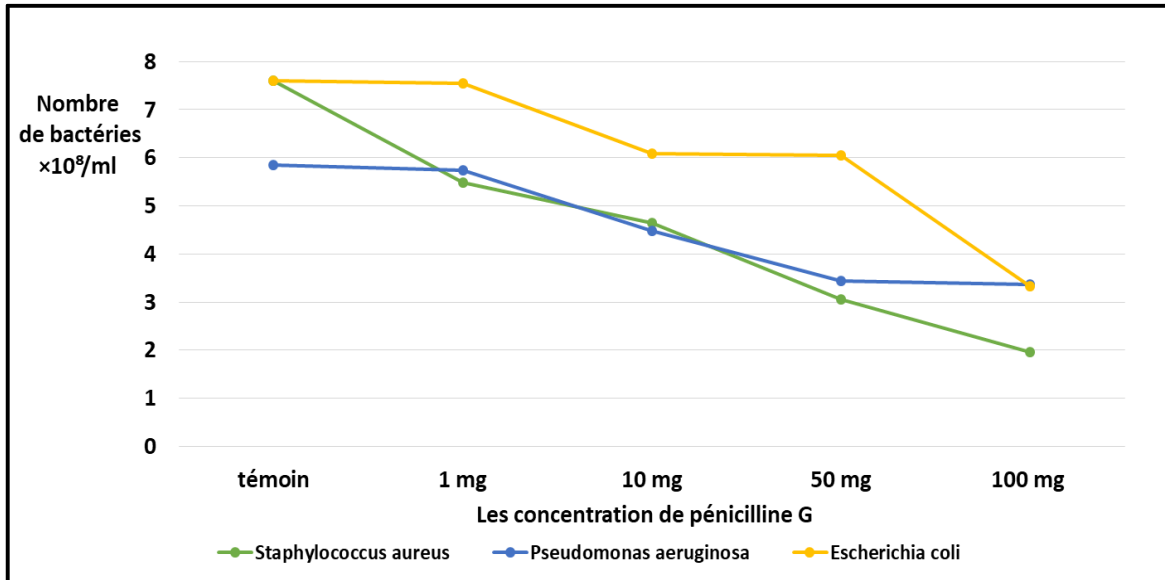


Figure 31 : Nombre de bactéries calculées après 18 heures d'incubation en présence de concentration croissante de la pénicilline G.

À travers les courbes des trois souches bactériennes testées (**Fig. 31 et 32**), nous constatons qu'avec les faibles concentrations de l'antibiotique, le nombre de bactéries est élevé (résistance) comme celui du témoin. Cette résistance diminue mais faiblement au fur et à mesure que la concentration de la pénicilline est élevée. De là nous concluons que les trois bactéries sont résistantes à la pénicilline G à la concentration 10mg.

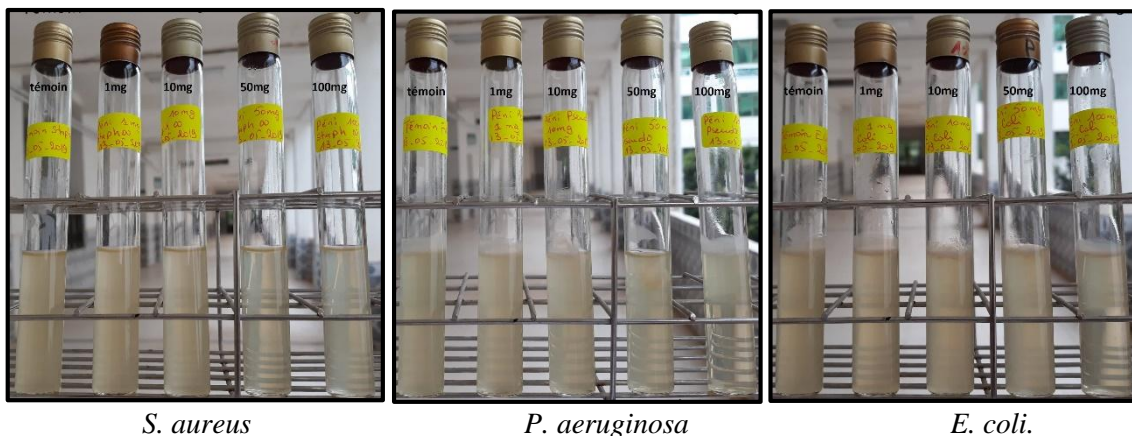


Figure 32 : Effet antibactérien des différentes concentrations de la pénicilline G en milieu liquide.

4.2.2. L'effet de l'association miel + pénicilline G

Les histogrammes suivants montrent le nombre de bactéries obtenu en fonction du temps d'une culture bactérienne en présence du miel, de pénicilline G et de la combinaison des deux.

A. L'effet de l'association entre le miel d'origan + pénicilline G

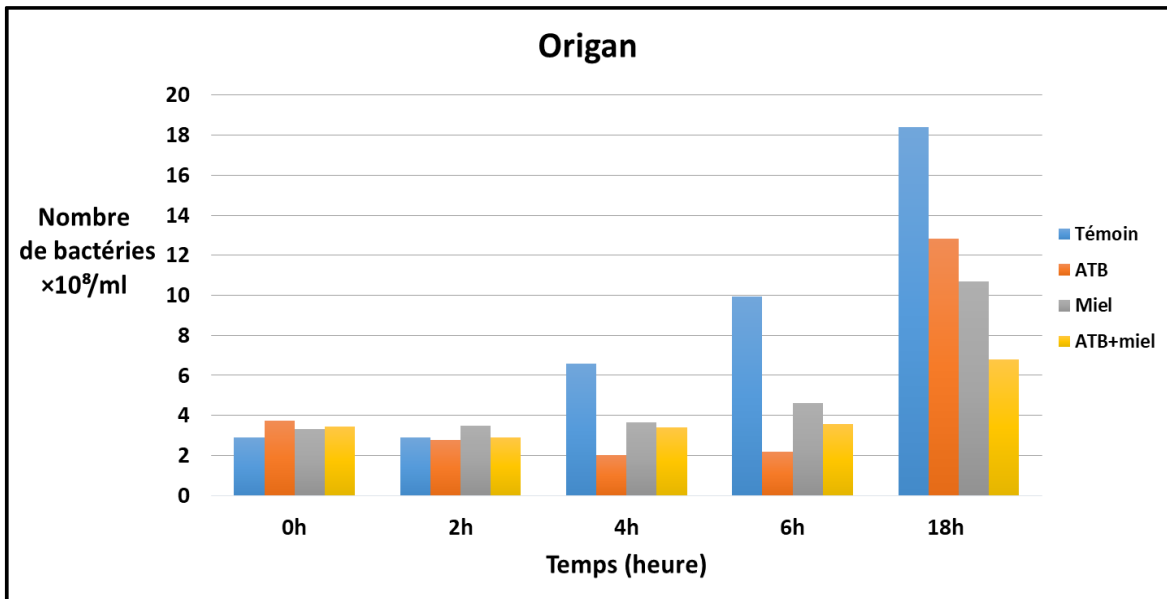


Figure 33 : Résultat de la culture avec *S. aureus*

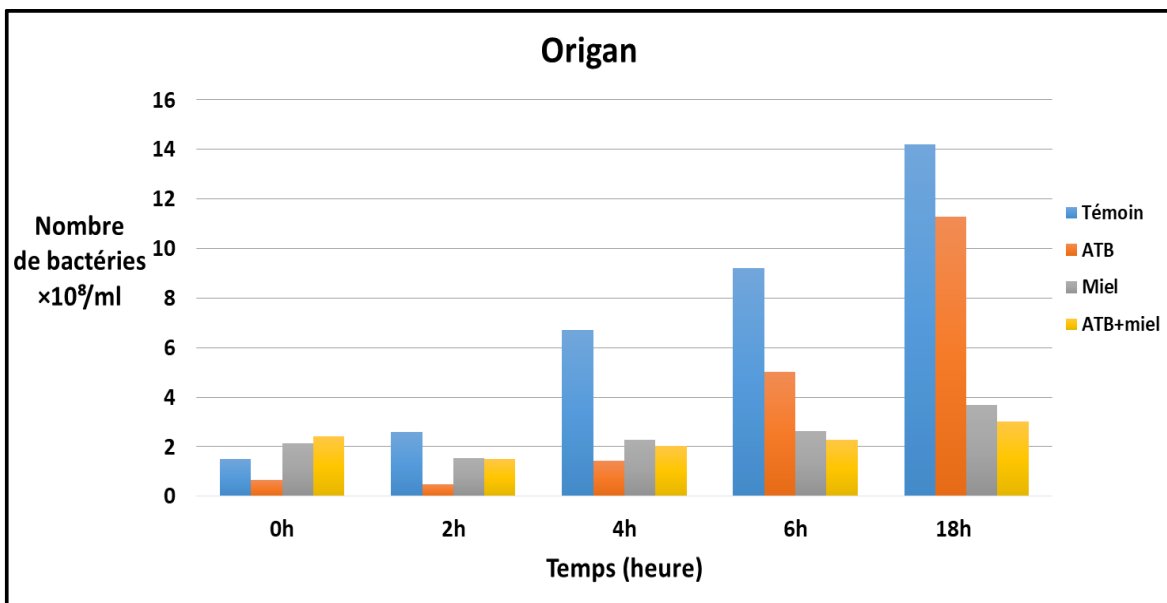


Fig. 34 : Résultat de la culture avec *P. aeruginosa*

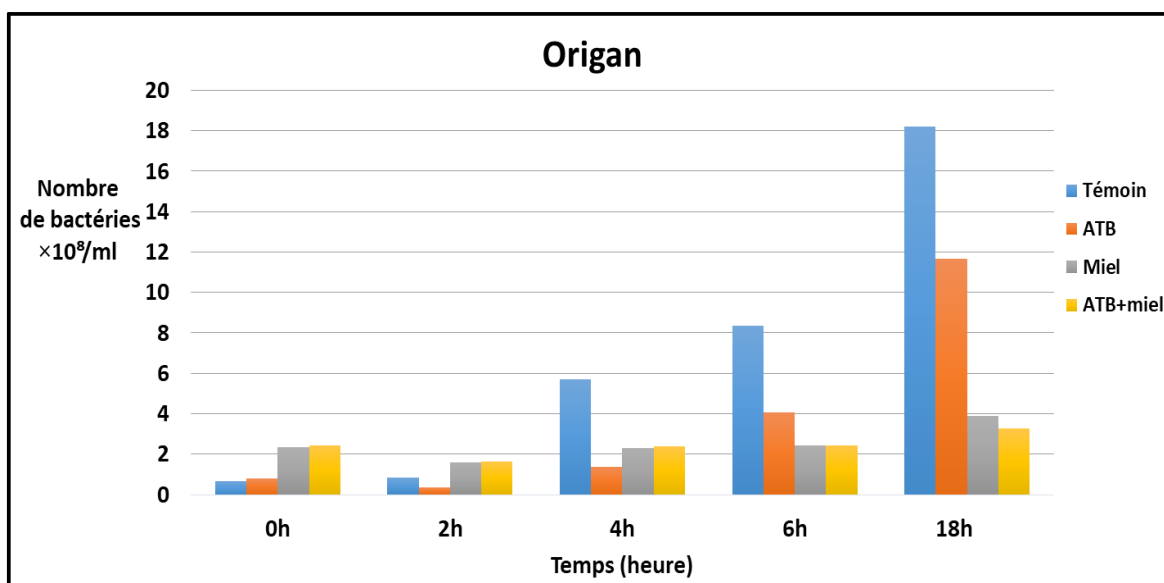


Fig. 35 : Résultat de la culture avec *E. coli*.

L'effet d'inhibition de la croissance des 3 types de bactéries avec l'association miel d'origan + pénicilline G est plus supérieure que l'effet obtenu avec le miel ou ATB seul après 18 heures d'incubation.

B. L'effet de l'association entre le miel d'eucalyptus + pénicilline G

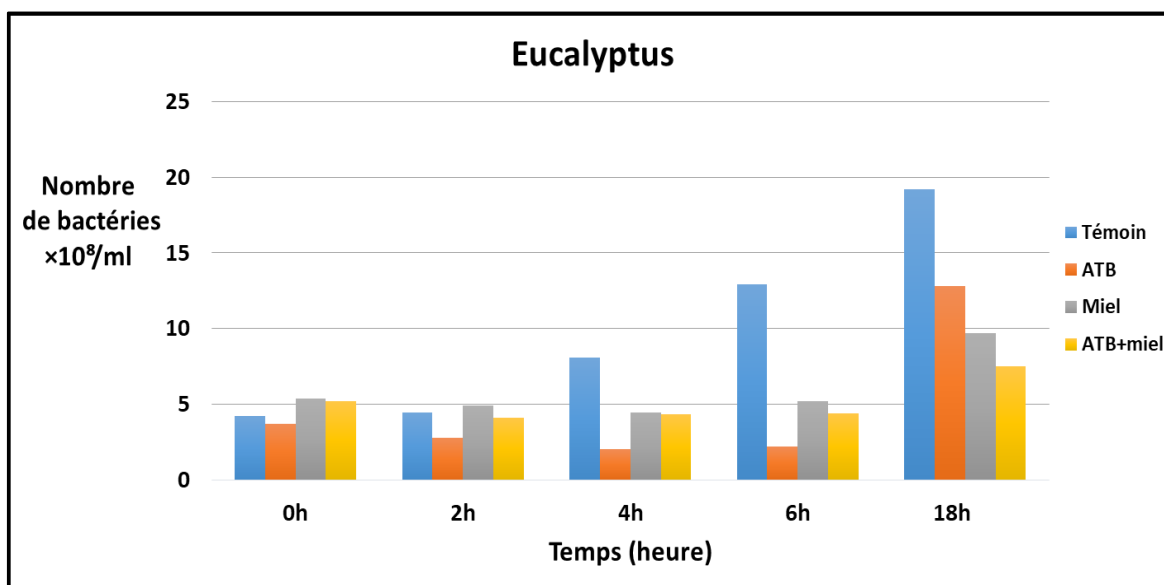


Fig. 36 : Résultat de la culture avec *S. aureus*.

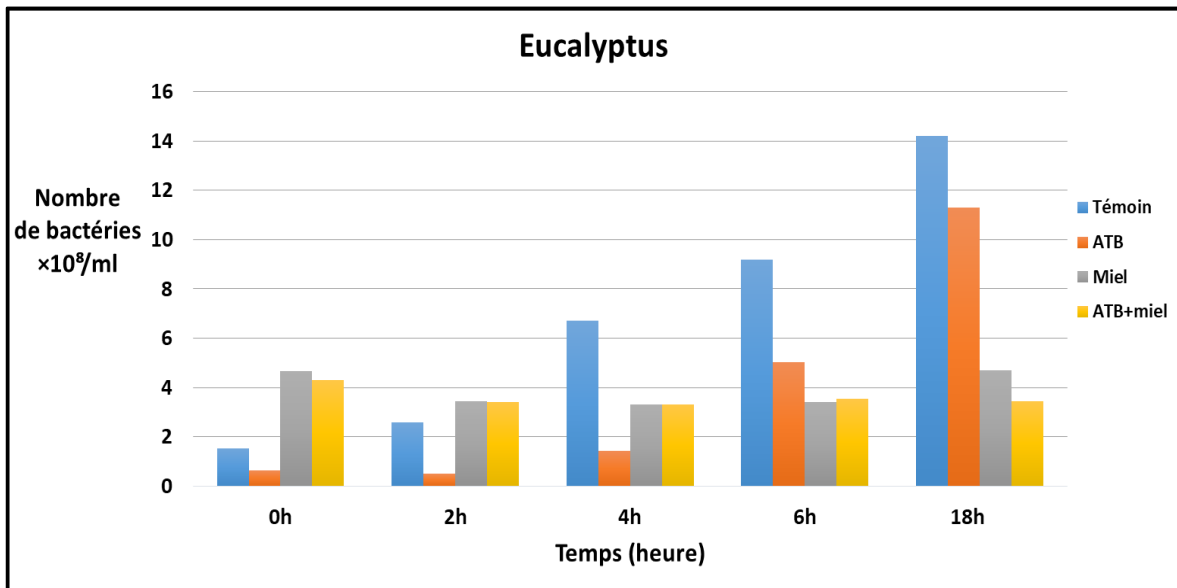


Fig. 37 : Résultat de la culture avec *P. aeruginosa*.

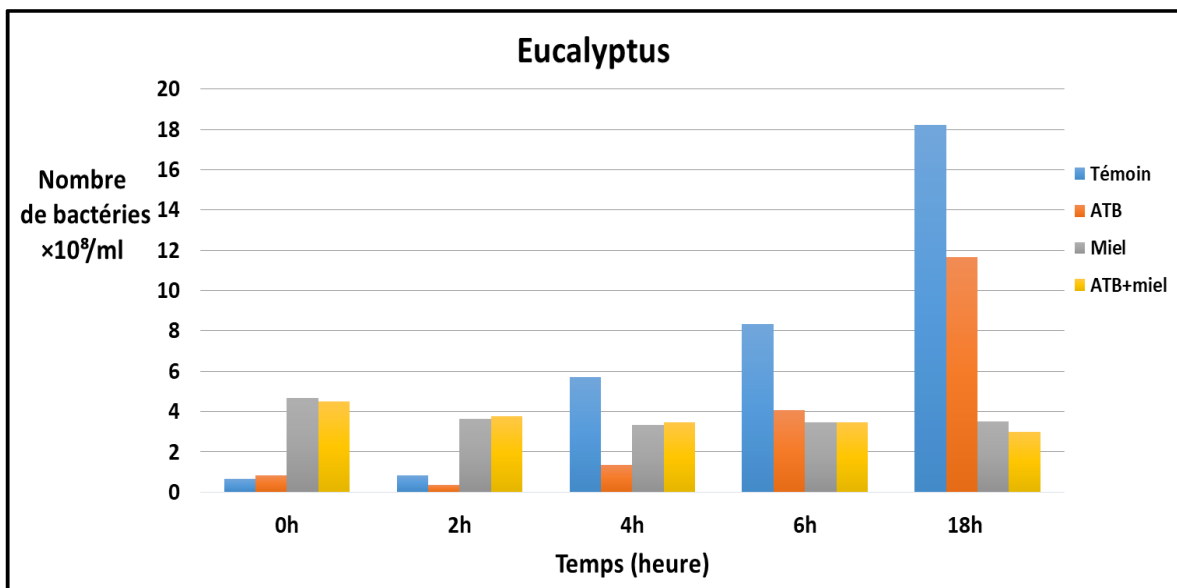


Fig. 38 : Résultat de la culture avec *E. coli*.

L'effet d'inhibition de la croissance des 3 types de bactéries avec l'association miel d'eucalyptus + pénicilline G ont le même effet lors de la première expérience avec le miel d'origan.

Le fait de combiner le miel avec l'antibiotique montre un effet d'inhibition plus important aussi bien en milieu liquide que sur milieu solide en comparaison avec l'effet de l'antibiotique ou du miel seul et ceci avec les 3 types de bactéries.

1. Analyses physico-chimiques du miel

1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

Les résultats obtenus dans ce travail sont dans la même fourchette par comparaison avec les résultats des autres travaux :

Benzohra et Ben saada (2017), qui en analysant quelques miels de différentes régions en Algérie, ont trouvé des valeurs variant entre 14,5 et 16,5%, avec une valeur moyenne de 15,8%.

L'étude de **Yahia Mahammed et Yahia Mahammed (2015)** sur quelques miels des régions d'Ain Defla, de Djendel, de Bathia, de Bourached et de Miliana, a révélé des valeurs comprises entre 14,8% et 18,2% avec une moyenne de 16,5 %.

Belhadj et al. (2015) ont trouvé dans 5 échantillons de miels marocains des valeurs allant de 18,5% à 21,0% avec une valeur moyenne de 19,7%.

Selon **Khalil et al. (2012)**, la teneur en eau est très importante pour la durée de vie du miel lors du stockage et peut conduire à leur fermentation indésirable. En effet, la variation de l'humidité peut s'expliquer par la composition et l'origine florale du miel. La forte interaction du sucre avec les molécules d'eau réduit l'eau disponible au développement des micro-organismes.

Le miel est une solution de sucre sursaturée avec une faible activité de l'eau, ce qui signifie qu'il n'y a pas assez d'eau disponible pour soutenir la croissance des bactéries et des levures (**Naman et al., 2005**). D'après **Zerrouk et al. (2011)**, l'eau et la teneur en sucre du miel sont strictement corrélées. La teneur en eau dépend de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche et les facteurs climatiques. La valeur obtenue indiquant un bon degré de maturité est inclus dans la gamme de l'eau approuvée par le Codex Alimentarius (**Codex Alimentarius, 2001**).

1.2. La matière sèche (Degré Brix)

Le miel est principalement constitué de sucres, ils représentent 85 à 95 % de la matière sèche. Les travaux de **Benzohra et ben saada (2017)** sur quelques miels de différentes régions, ont montré que la variation du taux de matière sèche (**Degré Brix**) des miels oscille entre 82 et 83% avec une moyenne de 82.5%. La matière sèche de miel est en relation inverse avec la teneur en eau, en effet, le pourcentage de la matière sèche est généralement de 80% (**Daily, 2008**).

1.3. La conductivité électrique

La conductivité électrique permet de distinguer aisément des miellats, des miels des fleurs, d'après (**Downey et al., 2005**), les miels de miellat, possèdent une conductivité électrique beaucoup plus élevée que les miels de fleurs.

D'après les études de **Yahia Mohammed et Yahia Mohammed (2015)** et **Benzohra et Ben saada (2017)**, la conductivité électrique des miels algériens répondent aussi aux normes : 0.018 à 0,064 ms/cm pour le premier et 0.145 à 0.545 ms/cm pour le second, ces résultats sont différents ceux à des miels marocains étudiés qui sont présentes des conductivités électriques variant entre 0.196 et 0.413 ms/cm (**Belhadj et al., 2015**).

Zerrouk et al. (2011), signalent que la conductivité électrique du miel est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, d'acides organiques et de protéines, elle est considérée comme un paramètre de grande variabilité selon l'origine florale et l'un des meilleurs paramètres de différenciation entre miels à fleurs et miellats. En outre, la valeur de CE des échantillons étudiés est semblable au miel à fleurs, **Naman et al. (2005)**, 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. Il est facile à évaluer la teneur en cendre, cette dernière étant plus longue, coûteuse et comporte des erreurs plus élevées. La teneur en cendre représente une mesure directe de résidu inorganique après carbonisation du miel, tandis que la conductivité électrique mesure toutes substances organiques et inorganiques. Il faut noter que la conductivité électrique d'un miel est d'autant plus élevée que le miel est foncé, c'est à dire riche en matières ionisables.

1.4. Potentiel d'hydrogène (pH)

Le miel contient des acides fixes tels que les acides citriques, maliques, maléiques, succiniques, oxaliques et en très faible quantité, quelques acides volatiles dont l'acide formique. Elle se mesure par le pH (**Makhloufi, 2011**).

Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par **Benzohra et Ben saada (2017)**, **Yahia Mohammed et Yahia Mohammed (2015)**, **Belhadj et al. (2015)** qui ont montrés que les miels sont acides avec un pH généralement compris entre 3.3 et 4.4. Selon **Pesenti et al. (2008)**, les miels de nectar ont un pH faible (3,3 à 4,5), tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (4.5 à 5.5). **Khalil et al. (2012)**, indiquent que le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne.

Le pH des échantillons du miel est important au cours du processus d'extraction, car il affecte la texture, la stabilité et la durée de vie. Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (Naman *et al.*, 2005).

1.5. L'acidité libre

L'acidité du miel est due principalement à la présence d'acide gluconique qui dérive du glucose selon la réaction suivante, Outre les acides organiques libres ou combinés sous forme de lactones (Makhloufi, 2011).



Les résultats obtenus sont similaires à ceux obtenus par Yahia Mahammed et Yahia Mahammed (2015) qui varient de 15.5 à 40 méq/kg, et Benzohra et Ben saada (2017) qui varient de 21 et 39 méq/Kg.

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou à des variations en raison de la saison de la récolte (Pe'rez-Arquillue *et al.*, 1995). D'après Schweitzer (2004), l'acidité naturelle du miel s'accroît lorsque le miel vieillit, lorsqu'il est extrait des rayons avec de la propolis et notamment lorsqu'il s'altère par la fermentation. L'acidité est un critère important de qualité, elle donne des indications très importantes de l'état du miel (Bogdanov *et al.*, 1999 et Gonnet, 1982 in Belhadj *et al.*, 2015).

1.6. La teneur en polyphénols

En plus du taux de sucre élevé et du pH bas du miel, d'autres substances antimicrobiennes, appelées inhibines ont été identifiées ces dernières années. En effet, les lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques, les composés phénoliques et autres composants indéterminés ont été décelés (Bogdanov et Blumer, 2001).

Les résultats de la teneur en polyphénols montrent une forte variabilité de la couleur des miels et ceci en fonction de leur origine florale. Ces résultats, montrent que les polyphénols peuvent être considérés comme des marqueurs de l'origine florale du miel.

Par ailleurs, les teneurs en composés phénoliques peuvent varier de façon appréciable selon l'origine, l'année et l'environnement des ruches (Alix *et al.*, 1985 in Makhloufi 2011). Ainsi pour un même type de miel, on note des teneurs en polyphénols variables. Ces substances possèdent certaines activités biologiques : germicide, anti-inflammatoire, anti cancérigène et antioxydant (lutte contre le vieillissement) (Amiot *et al.*, 1989).

1.7. La teneur en cendres

En règle générale, le miel a une faible teneur en sels minéraux, en fonction de la matière première collectée par les abeilles lors de la récolte sur la flore (**Rodriguez et Ferrer, 2004**).

Le potassium domine dans tous les miels, environ 80 % de la matière minérale totale. Par ailleurs, le miel contient à l'état de traces une trentaine d'éléments parmi lesquels le fer, le cuivre, le cobalt, le chlore, le soufre, le phosphore, le magnésium, le manganèse, le calcium, le sodium et le zinc (**Makhloufi, 2011**). La grande variabilité de la composition du miel se reflète également dans la teneur en cendres, paramètre utilisé pour la détermination de l'origine botanique (florale, miellat ou mixte) et pouvant être due à : la méthode de récolte, les techniques d'apiculture, le matériel collecté par les abeilles pollinies sur la flore (**Finola et al., 2007**) et principalement déterminée par les caractéristiques du sol et du climat (**Acquaron et al., 2007**).

2. Étude de la sensibilité aux antibiotiques

Des études antérieures ont démontré que la majorité des antibiotiques ont un effet antibactérien plus prononcé contre les Gram+. La résistance des Gram- est attribuée à leur membrane externe hydrophile qui peut bloquer la pénétration de composés hydrophobes dans la membrane cellulaire cible (**Wan, 1998**).

On parle de résistance naturelle lorsque toutes les souches d'une même espèce sont résistantes à un antibiotique. L'expression d'un caractère inné, partagé par l'ensemble de la communauté bactérienne, rend inappropriée l'utilisation de certains antibiotiques. Des particularités structurales de la paroi cellulaire, empêchant les antibiotiques d'accéder à leur cible, ou l'absence de cible sont autant de facteurs qui conditionnent la résistance naturelle (**Normak et Normak, 2002**).

3. L'effet antibactérien du miel

3.1. En milieu solide

Les résultats d'évaluation de l'activité inhibitrice du miel montrent que les trois souches bactériennes testées sont sensibles à l'action antibactérienne des sept échantillons de miel testés. Des différences d'inhibition ont été enregistrées d'un type de miel à un autre et d'une souche bactérienne à une autre. L'effet inhibiteur du miel est plus prononcé avec les échantillons concentrés.

En milieu solide, les deux miels d'origan et eucalyptus, étaient les plus inhibiteurs sur les trois souches testées. Toutefois, les autres échantillons de miel n'ont inhibé que *P.*

aeruginosa et *E. coli*. Ceci montre que les bactéries à Gram négatives sont plus sensibles que les Gram positif. Plusieurs travaux ont montré que les bactéries Gram positif dotées d'une paroi épaisse et dense, résistent mieux à de fortes pressions exercées par des concentrations élevées en sucres que les bactéries à Gram négatif possédant une paroi fine et lâche (Merah *et al.*, 2010). Selon Belhaj *et al.* (2016). Les miels naturels montrent deux types d'action sur les bactéries : une action *bactéricide* observée sur les zones les plus proches des puits remplis de miel où la diffusion est très forte et une action *bactériostatique* sur les zones relativement lointaines. Dans le premier cas, la croissance est inhibée définitivement puisque les bactéries sont tuées, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les bactéries ne sont pas tuées. 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, et d'autre part de la composition du miel lui-même.

3.2. En milieu liquide

Sur milieu liquide, les trois souches ont été affectées d'une façon similaire par les divers miels testés surtout aux concentrations les plus élevées.

A la concentration de (25%), c'est également *E. coli* qui s'est montré la plus résistante par rapport aux deux autres souches. Dans une étude similaire Belhaj *et al.* (2016) a montré que *S. aureus* s'est montré le plus résistant. Selon Delphine (2010) in Belhaj *et al.* (2016) le miel Tualang a montré un puissant effet inhibiteur sur la croissance de *Staphylococcus* à coagulase négative, alors que le miel Manuka était plus inhibiteur sur *S. aureus* résistant à la pénicilline.

Dans un autre travail en Algérie, Merah *et al.* (2010) ont rapporté que *E. coli* et *P.aeruginosa* sont les moins résistantes à l'effet de trois types de miel testés. Alors que *S. aureus* s'est avérée moyennement sensible, *S. marcescens* est partiellement résistante aux deux miels entièrement résistante à un autre type de miel. Cependant, la levure, *Candida albicans* a montré une faible sensibilité pour tous les miels testés.

Le mode d'action du miel comme agent antibactérien n'est pas bien élucidé. Cependant, il est actuellement reconnu que le caractère inhibiteur du miel est lié à ses propriétés physico-chimiques, ainsi qu'à la présence de plusieurs autres composants antimicrobiens appelés inhibines. Le miel possède une activité d'eau comprise entre 0.56 et 0.62, donc une osmolarité élevée liée à sa forte concentration en sucres. La forte interaction entre les molécules de sucre et l'eau laisse donc peu d'eau libre disponible pour le développement microbien. Ceci provoque une forte déshydratation des germes mettant en jeu leur survie.

En plus, le miel présente la plupart du temps un pH qui varie entre 3 et 4 et les bactéries sont incapables de croître dans un milieu aussi acide. Cependant, certains miels à pH élevé compris entre 5 et 6 (miel de miellat, par ex.) sont aussi capables d'exercer une activité antimicrobienne. En outre, les miels dilués ont de même montré un effet antimicrobien, ce qui laisse penser l'existence d'autres substances antimicrobiennes notamment des inhibines qui sont impliquées dans cette activité (**Molan, 1997**). Actuellement, le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) constitue la principale inhibine retrouvée dans la plupart des miels. Il résulte de la réaction enzymatique entre le glucose et la glucose-oxydase, en présence d'eau et d'oxygène (**Kerkvliet, 1996**). Cette enzyme n'est pas active dans le miel pur, par contre, elle le devient dans le miel dilué, générant ainsi plus de H₂O₂. De plus, la formation d'acide gluconique accroît l'acidité du miel limitant ainsi la croissance de microorganismes. D'autres inhibines dites non peroxydes tels que des lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques et autres substances non identifiées possèdent également cette propriété antimicrobienne (**Brudzynski, 2006**). Le miel peut inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, champignons, protozoaires et virus sans que ces derniers ne puissent développer de résistance. C'est notamment le cas des plaies infectées par les bactéries à Gram positif et Gram négatif tels que *S. aureus*, *P.aeruginosa* ou *E. Coli* ainsi que d'autres germes (**Delphine, 2010 in Belhaj et al., 2016**).

4. L'effet de l'association miel + antibiotique

Les infections avec des espèces de *Staphylococcus*, de *Pseudomonas* d'*E. coli* sont notoirement difficiles à traiter car les trois micro-organismes résistent à plusieurs antibiotiques, ce qui nécessite le passage à de nouvelles générations d'antibiotiques. Il a été démontré que les associations d'antibiotiques avec des substances non antibiotiques peuvent améliorer l'efficacité d'un certain nombre d'antibiotiques actuellement utilisés en formant des combinaisons syncrétiques. Il a été démontré également que de nombreux composés naturels pouvaient inhiber la résistance aux antibiotiques chez les bactéries (**Jenkins et Cooper, 2012**).

A travers les résultats des tests de l'association des échantillons de miels avec des antibiotiques différents sur milieu solide et sur milieu liquide, nous avons constaté que cette association accentue l'action antibactérienne de l'antibiotique seul et / ou du miel seul. Il est donc permis de conclure que cette association démontre un phénomène de synergie

Il est intéressant de noter que les antibiotiques qui ont montré une synergie avec les miels d'Origan et d'Eucalyptus dans cette étude appartiennent à différentes classes d'antibiotiques,

qui inhibent des cibles distinctes telles que la paroi bactérienne, et la synthèse protéiques. Cela conforte l'idée selon laquelle le miel est une substance complexe riche en composants actifs qui affectent plusieurs sites cibles de la cellule bactérienne.

L'activité antimicrobienne du miel a été attribuée à plusieurs propriétés, notamment son effet osmotique, son pH naturellement bas inadapté à la croissance bactérienne, et la production de peroxyde d'hydrogène, ainsi que la présence d'acides phénoliques, de lysozyme et de flavonoïdes (**Patton et al., 2006**).

Selon **Abd-El Aal et al. (2007)** il existe un effet synergique lors de la combinaison du miel avec l'Amoxicilline et la Céfaloxyne vis-à-vis de *S. aureus*.

L'effet synergique est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet supérieur à la somme de leurs effets individuels.

D'après **Wagner et Ulrich-Merzenich (2009)**, l'effet synergique est produit quand les constituants du mélange agissent sur des cibles différentes.

Le miel s'est révélé être un remède bon marché et non toxique ayant un effet antimicrobien important sur les bactéries, en particulier le SARM, considéré comme le coccus à Gram positif le plus répandu dans les plaies. De plus, le miel n'affecte pas les tissus humains, contrairement à certains autres agents antimicrobiens topiques (**Cooper et al., 2002**).



Conclusion

Conclusion

Le miel est le produit de la ruche caractérisé par différentes propriétés thérapeutiques qui lui a permis de gagner une grande importance dans la médecine naturelle.

Dans notre présent travail, nous avons répondu à l'objectif concernant la mise en évidence de l'effet antibactérien du miel sur l'activité de quelques antibiotiques sur des souches bactériennes *in vitro*.

Le miel utilisé provient des régions d'Ain Defla, Tipaza et Guelma.

Les souches bactériennes testées proviennent du laboratoire de bactériologie de l'Hôpital de Ibn Zohr de Guelma : *Escherichia coli* ATCC25922, *Staphylococcus Aureus* ATCC43300, *Staphylococcus aureus* ATCC25923, *Entérocoques faecalis* ATCC29212 et *Pseudomonas aeruginosa*, ATCC27853.

Différentes analyses physico-chimiques ont été effectuées pour déterminer la caractérisation de certains facteurs et composés dans le miel, responsables de leur effet antibactérien.

La teneur en eau des différents types de miel étudiés varie de 15,2 à 20,4% avec un pH compris entre 3,93 à 4,47. La conductivité électrique est de 0,08 à 0,36 ms/cm avec une acidité libre de 19 à 44 méq /kg. Les échantillons de miel contiennent aussi 78.1 à 83.4 % de matière sèche (teneur en sucre), et de 0,2% et 0,4 % teneur en cendres (teneur en élément minéraux).

Ces résultats, révèlent que, tous les échantillons analysés sont des miels de nectar et sont de bonne qualité chimique et physique, répondant aux normes préconisées par le *Codex Alimentarius* et se caractérisent par des propriétés importantes sans doute impliquées dans des pouvoirs antibactériens.

Également, nous avons étudié la résistance aux antibiotiques des souches bactériennes à plusieurs antibiotiques. Les résultats ont montré une résistance des souches étudiées à plusieurs types d'antibiotiques.

Les résultats de l'activité antibactérienne de sept miels analysés à différentes concentrations ont donné des zones d'inhibitions qui varient de 11 à 18 mm pour la souche *Staphylococcus aureus*, 17 à 42 mm avec la souche *Pseudomonas aeruginosa*, et 12 à 47 avec la souche *E. coli*. Ces résultats ont montré un potentiel effet thérapeutique important du miel.

Les résultats des effets de la combinaison des échantillons de miel de l'origan et eucalyptus avec les antibiotiques : pénicilline, vancomycine et érythromycine contre lesquels les souches bactériennes ont montré une résistance *S. aureus*, *P. aeruginosa* plus que *E. coli*. Témoignent du grand potentiel que présentent les miels naturels par un phénomène de synergie.

Conclusion

Ces résultats pourraient trouver une application possible dans le traitement des déférentes infections, notamment nosocomiales causées par des germes pathogènes.

La valeur thérapeutique du miel comme agent antibactérien naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue une preuve pour son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique.

Comme perspectives et dans le but de compléter ce travail, il serait intéressant :

- De tester l'activité antibactérienne sur une vaste gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles comme le miel dans le traitement des maladies.
- De faire des études sur des mélanges du miel afin d'augmenter leurs pouvoirs thérapeutiques.
- De caractériser par des études biochimiques les constituants du miel qui confèrent à ce dernier des vertus curatifs.



**Références
bibliographiques**

{A}

- **Abd-El Aal A.M., El-Hadidy M. R., El-Mashad N. B., and El-Sebaie A. H. (2007).** Antimicrobial Effect of Bee Honey in Comparison to Antibiotics on Organisms Isolated from Infected Burns. *Annals of Burns and Fire Disasters* 20, No2: 83- 88.
- **Acquarone C., Buera P., et Elizalde B. (2007).** Pattern of PH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chem.* 101: 695-703.
- **Alekshun M.N., Levy S.B. (2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell*, 128, 1037-1050.
- **Alix J., Grau J., Puigvert A.M., De Diego J. (1985).** Contribution de la chromatografia en capa fina al analisis del origen floral de las mieles. *Vida Apic.*15. p.31-33.
- **Al-Waili NS., Haq A. (2004).** Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. *J Med Food.* **Vol 7.**p.491–494.
- **Al-Waili NS. (2004).** Natural honey lowers plasma glucose, C - reactive protein, homocysteine, and blood lipids in healthy, diabetic, and hyperlipidemic subjects: comparison with dextrose and sucrose. *J Med Food.* **Vol 7.**p.100–107.
- **Amiot M.J., Aubert S., Gonnet M., Tacchini M. (1989).** Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par familles. *Apidologie*, Springer Verlag.20 (2). pp.115-125.hal-00890768.
- **Amri A. (2016).** Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique. Thèse Doctorat. Université Badji Mokhtar d'Annaba. pp. 221.
- **Anchling F. (2005).** Sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. *Revue j'abeille de France.* No (915). pp.07.
- **Archer H.G., Barnett S., Irving S., Middleton K.R., and Seal D.V. (1990).** A Controlled Model of Moist Wound Healing: Comparison between Semi-Permeable Film, Antiseptics and Sugar Paste. *Journal of Experimental Pathology (Oxford, England).* **Vol 71**, No (2),p.155-70.
- **Assie B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat. Université Toulouse III – Paul Sabatier – faculté de médecine, limoges. pp. 117.

{B}

- **Bakchiche B., Habati M., Benmebarek A et Gherib A. (2018).** Caractéristiques physico-chimiques, concentrations en composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locales (Algérie). *Rev. Mar. SCI. Agron.* Vol 6 (1) :118-123
- **Balas F. (2005).** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d`application en médecine générale : revue de la littérature. Thèse de doctorat. Faculté de médecine de Nice. Université de Nice Sophia-Antipolis. pp. 86 (France).
- **Bansal V, Medhi B., Pandhi P. (2005).** Honey -A remedy rediscovered and its therapeutic utility. *Kathmandu Univ Med J.* Vol 3.p.305–309.
- **Belhaj O., El Abbadi I., Ouchbani T. (2016).** Contribution à l`étude de l`activité antibactérienne du miel naturel d`origine marocaine. *Rev. Mar. SCI. Agron. Vét.* Vol 4 (3) : 12-22.
- **Belhaj O., Oumato, J., et Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev. Mar. SCI. Agron.* Vol 3: 71-75.
- **Benaziza B.D., Schweitzer P. (2010).** Caractérisation des principaux miels des régions du Nord de l'Algérie ; *Cahier Agricultures*, Vol 19, No (6) .p.432-8.
- **Benjira L. (2016).** Étude de la prescription d`antibiotique chez l`enfant, université sidi Mohammed ben Abdellah faculté de médecine et de pharmacie FES, royaume du Maroc. pp.166.
- **Benzohra A., Ben Saada H. (2017).** Analyses physico-chimiques et polliniques de quelques miels Produits dans différentes régions. Mémoire pour l`obtention du diplôme de Master. Université Djilali Bounaama khemis Miliana.
- **Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Maffei F.R. (2005).** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric / fluorimetric assays and chemometrics. *Anal Chim Acta.* Vol 533.p.185-191.
- **Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M., Golob T. (2007).** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and color of Slovenian honey. *Food Chem.* Vol 105.p.822-828.
- **Biri M. (2011).** Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture, 7e édition revus et augmentée par Jaques Gout directeur du musée vivant de l'apiculture, N(98), Roumanie.
- **Blanc M. (2010).** Propriétés et usage médicale des produits de la ruche. Thèse Doctorat. Université de Limoges. Faculté de Médecine et de Pharmacie p : 142

Références bibliographiques

- **Bogdanov S., Blumer P. (2001).** Propriétés antibiotiques naturelles du miel. Centre suisse de recherches apicoles, station fédérale de recherche laitière, Liebfeld CH-3003 Berne. pp.08.
- **Bogdanov S., Lullman C., et Martin P. (1999).** Qualité du miel et norme internationale relative au miel. Rapport de la Commission Internationale du miel. *Bee world* 80:61-69.
- **Bogdanov S., Ruoff K., and Oddo P.L. (2004).** Physicochemical Methods for the Characterisation of Unifloral Honeys .*Apidologie* .p. 35-17.
- **Bogdanove S. (2009).** Harmonised Methods Of The International Honey Commission: Review Of The Work Of The International Honey Comission. pp. 63.
- **Bonté F., Desmoulière A. (2013).** Le miel : origine et composition. *Actualité pharmaceutique*. Vol 52, No (531), p .18-21. France.
- **Bradbear N. (2005).** Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, pp.64.
- **Bresnick S.D. (2004).** Biologie, de Boeck, Bruxelles, pp.316.
- **Brudzynski K., and Lannigan R. (2012).** Mechanism of Honey Bacteriostatic Action against MRSA and VRE Involves Hydroxyl Radicals Generated from Honey's Hydrogen Peroxide. *Frontiers in Microbiology*, Vol 3. pp.36.
- **Brudzynski K. (2006).** Effect of Hydrogen Peroxide on Antibacterial Activities of Canadian Honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, Vol 52, No (12). p.1228- 37.
- **Bruneau, E. (2009).** Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H. et al. *Le Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, p. 354-387. (Paris)

{C}

- **Caruba T., et Jaccoulet E. (2015).** Antibiotiques. In *Pharmacologie et thérapeutiques*, p.47- 56. Elsevier.
- **CA-SFM. (2018).** Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.
- **Chaibi A., Ababouch H.L., Busta F. (1996).** Inhibition of bacterial spores and vegetative cells by glycerides. *J. Food Protect.* 59: 716-722.
- **Chouia A. (2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire en de magistère en Biologie. Université Mohamed Khider, Biskra. pp.102.
- **Clement H. (2011).** Le traité Rustica de l'apiculture. Rustica Ed. pp.528.

Références bibliographiques

- **Codex Alimentarius. (2001).** Norme Codex révisée pour le miel. Codex Stan 12-1981, Rev.1 (1987), Rev.2 (2001). **Vol 12**, pp.10.
- **Cooper R.A., Molan P.C., Harding K.G. (2002).** The sensitivity to honey of gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *J. Applied Microbiology*. 93:857–63.
- **Couquet Y., Desmoulière A., et Rigal M.L. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités Pharmaceutiques*, **Vol 52**, No (531). p.22- 25.
- **Courvalin P. (2008).** La résistance des bactéries aux antibiotiques : combinaison de mécanismes biochimiques et génétiques. *Bull. Acad. Vét. France - Tome 161 – No (1)*. p. 7-12.

{D}

- **Dailly H. (2008).** Cristallisation du miel, le savoir et le faire technique. Abeille.cie N°124, pp18.
- **Davis L.G., Kuehl W., and Battyusa J.F. (1994).** Basic method in molecular biology, Appleton ET Lange, pp.777.
- **Delphine I. (2010).** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Thèse du doctorat.
- **Djossou J.A., Tchobo F.P., Yédomonhan H., Alitonou A.G., ET Soumanou M.M. (2013).** Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. *Tropicultura*. Vol (31) : 163-169.
- **Donadieu Y. (1978).** Le miel : thérapeutique naturelle. 2ème Edition. Maloine Ed. Paris. pp.36.
- **Doukani K., Gacem N., Benlarbi H. (2014).** Physicochemical and phytochemical characterization. *International Journal of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research*, volume 4, N 6, p1-16
- **Downey G., Hussey K., Kelly J.D., Walshe T.F., and Martin P.G. (2005).** Preliminary contribution to the characterisation of artisanal honey produced on the island of Ireland by palynological and physico-chemical data. *Food chemistry*, 91: 347-354

{E}

- **Efem SEE. (1998).** Clinical observations on the wound healing properties of honey. *Br J Surg*. **Vol 75**.p.679–681.

Références bibliographiques

- **Estevinho L., Pereira A.P., Moreira L.G.D.L, and Pereira, E. (2008).** Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compound extracts of Northeast Portugal honey. *Food Chem Toxicol.* **Vol 46**.p.3774-3779.
- **Eteraf-Oskouei T., and Najafi M. (2013).** Traditional and Modern Uses of Natural Honey in Human Diseases : A Review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, **Vol 16**, No (6).p.731-42.

{F}

- **Finola M.S., Lassagno M.C., and Marioli J.M. (2007).** Microbiological and chemical characterisation of honeys from central Argentina. *Food Chem.* 100:1649- 1653.
- **Frankel S., Robinson G.E., Berenbaum M.R. (1998).** Antioxidant capacity and correlated characteristics of 14-unifloral honeys. *J Apicul Res.* **Vol 37**.p.27-31.
- **French V. M., Cooper R. A., and Molan P.C. (2005).** The Antibacterial Activity of Honey against Coagulase-Negative *Staphylococci*. *The Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, **Vol 56**, No (1). p.228- 31.

{G}

- **Gonnet M., et Vache G. (1985).** Le gout du miel. Paris, FRA : UNAF. pp.146.
- **Gonnet M. (1982).** Le miel : composition, propriétés, conservation. Ed. Echauffour. Argentan. Ornes. pp. 9-12.
- **Guardabassi L, Courvalin P. (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance In: Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin*. ASM Press : Washington. P.1-18.
- **Guindo M.A.Y. (2008).** Etude prospective de la prescription et de la consommation des antibiotiques dans le centre de sante de référence de la commune III du district de Bamako, Thèse Doctorat. Université de Bamako. Faculté de Médecine de Pharmacie et d'Odontostomatologie. pp. 59.
- **Guinoiseau E. (2010).** Molécules antibactériennes issues d'huiles essentielles : séparation, identification et mode d'action. Thèse Doctorat. Sciences du Vivant. Université de Corse. Français. pp. 143.

{H}

- **Hélène Ch., and Hubert B. (2014).** Usages des antibiotiques en élevage et filières viandes, Centre d'Information des Viandes Tour Mattei. Paris. pp.36.

Références bibliographiques

- **Hélène D. (2008).** Le refractomètre, un outil essentiel, abeilles & cie, n°122. p.30-32.
- **Hoyet C. (2005).** Le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de doctorat. Université Henri Poincaré – Nancy 1, Faculté de pharmacie. pp.96.
- **Huchet E., Coustel J., et Guinot L. (1996).** Les constituants chimiques du Miel, Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment, Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.1.

{J}

- **Jenkins R., and Cooper R. (2012).** Improving Antibiotic Activity against Wound Pathogens with Manuka Honey In Vitro. Édité par Jamunarani Vadivelu. *PLoS ONE* 7, n°9 e45600.

{K}

- **Karayil S., Deshpande S. D., and Koppikar G. V. (1998).** Effect of Honey on Multidrug Resistant Organisms and Its Synergistic Action with Three Common Antibiotics. *Journal of Postgraduate Medicine* 44. (N4) : 93- 96.
- **Kerkvliet J.D. (1996).** Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. *J. Apicul. Res.* 35: 110-117.
- **Khalil M. I., Moniruzzaman M., Boukraâ L., Benhanifia M., Islam M. A., Islam M. N., Gan S. H. (2012).** Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Molécules*, 17(9), 11199–11215.
- **Koehler S. (2015).** Le miel dans la cicatrisation des plaies : Un nouveau médicament ? Thèse Doctorat. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie. pp.114.
- **Küçük M., Kolayl S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* Vol 100.p.526-534.
- **Kumar A., Schweitzer H.P. (2005).** Bacterial resistance to antibiotics: active efflux and reduced uptake. *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 57, p.1486-1513.
- **Kwakman P.H.S., and Zaat S.A.J. (2012).** Antibacterial Components of Honey. *IUBMB Life*, Vol 64, No (1). p.48- 55.
- **Kwakman P.H.S., Anje A.T.V., Boer L., Speijer D., Vandenbroucke-Grauls C.M.J.E., and Zaat S.A.J. (2010).** How Honey Kills Bacteria. *The FASEB Journal*, Vol 24, No (7). p.2576- 82.

{L}

- **LI X.Z., Nikaido H. (2004).** Efflux-mediated drug resistance in bacteria. *Drugs*, 64, 159-204.
- **Louveaux J. (1959).** La technologie du miel (1). *Les Annales de l'Abeille*, INRA Editions, **Vol 2**, No (4).p.343-354.
- **Louveaux J. (1985).** Les abeilles et leur élevage. Edition opida. P : 165-181.

{M}

- **Makhloufi Ch. (2011).** Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels algériens. Thèse Doctorat En Sciences Agronomiques. Ecole Nationale Supérieure Agronomique d'El Harrach. pp.184.
- **Markelov VV., Trushin MV. (2006).** Bee venom therapy and low dose naltrexone for treatment of multiple sclerosis. *Nepal J Neurosci.* **Vol 3**.p.71–77.
- **Medhi B., Puri A., Upadhyay S., Kaman L. (2008).** Topical application of honey in the treatment of wound healing: a meta-analysis. *JK Sci.* **Vol 10**.p.166-169.
- **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.
- **Mérens A., Servonnet A. (2010).** Mécanismes et épidémiologie de la résistance aux fluoroquinolones en 2010. *Revue Francophone des Laboratoires* 2010, No (422), p.33- 41.
- **Meziri A. (2004).** Etude palynologique et analyse physico-chimique de quelques miels de la région de Mila. Mémoire pour l'obtention d'un diplôme d'ingénieur d'état, université Badji Mokhtar d'Annaba, pp.52.
- **Molan P. C. (1997).** Honey as an antimicrobial agent. *Bee Products. Properties, Applications, and Apitherapy*, Symposium Tel Aviv, 27-37.
- **Molan PC. (2001).** Why honey is effective as a medicine. 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World.* **Vol 82**, No (1) p.22–40.
- **Muylaert A., Mainil J.G. (2012).** Résistances bactériennes aux antibiotiques : les mécanismes et leur « contagiosité ». Service de Bactériologie, Département des Maladies infectieuses et parasitaires, Faculté de Médecine vétérinaire, Université de Liège. *Méd. Vét* ; 156, 109- 123.

{N}

- **Naman M., Faid M., and El Adlouni Ch. (2005).** Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey International Journal of Agriculture & Biology. Vol. 7. No.5.773–776.
- **Nandaa V., Sarkara B.C., Sharma H.K., and Bawa A.S.J. (2003).** Determination of Some major and minor elements in the east of Morocco honeys through inductively coupled plasma optical emission spectrometry. Food Comp. Anal. 16:613-619.
- **Nikaido H. (1994).** Prevention of drug access to bacterial targets: permeability barriers and active efflux. Science 264:382-388.
- **Nikaido H. (2009).** Multidrug resistance in bacteria. Annu. Rev. Biochem, Vol 78. p.119-146.
- **Normak H.B., Normak S. (2002).** Evolution and spread of antibiotic resistance. J. Intern. Med. 252: 91-106.

{O}

- **Olaitan P.B., Olufemi E.A., and Ola I.O. (2007).** Honey : A Reservoir for Microorganisms and an Inhibitory Agent for Microbes. *African Health Sciences* Vol 7, No (3). p.159- 65.
- **Olivier L. (2015).** ORL et chirurgien cervico-facial à l'hôpital européen Georges-Pompidou (Paris). Rédigé 2012, mis à jour 2015 Par d'Allococteurs.fr. Disponible sur : https://www.allococteurs.fr/alimentation/aliments/le-miel-contient-il-des-antibiotiques-naturels_8085.html . Consulté le 10/02/2019.

{P}

- **Patton T., Barrett J., Brennan J., Moran N. (2006).** Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey. J. Microbiological Methods. 64:84–95.
- **Pérez-Arquillue C., Conchello P., Ariño A., Juan T., and Herrera A. (1995).** Physico-chemical attributes and pollen Spectrum of some unifloral Spanish honeys. Food Chem. Vol (54) :167–172.
- **Poole K. (2001).** Multidrug resistance in gram-negative bacteria. Curr. Opin. Microbiol.4.p.500-508.

{R}

- **Rahal J.J. (2006).** Novel Antibiotic Combinations against Infections with Almost Completely Resistant *Pseudomonas Aeruginosa* and *Acinetobacter* Species. *Clinical Infectious Diseases* **43**, N (2): 95- 99.
- **Rahal K. (2013).** Les Antibiotiques. Office des publications Universitaires. Editions : 1.04.5453.
- **Rakha M.K., Nabil Z.I., Hussein A.A. (2008).** Cardioactive and vasoactive effects of natural wild honey against cardiac malperformance induced by hyper adrenergic activity. *J Med Food*. **Vol 11**.p.91-98.
- **Rodriguez G.O., ferrer B.S., ferrer A., Rodriguez B. (2004).** Characterization of honey produced in Venezuela. *Food chemistry* .84: 499–502.
- **Rosner P.M (2014).** Usages des antibiotiques en élevage et filières viandent, Directeur du CIV, Centre d'Information des Viandes Tour Matte, paris. pp. 34
- **Rossant A. (2011).** le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse Doctorat. université de Limorgues, faculté de pharmacie. France. pp. 133.
- **Roy P.H. (1997).** Adresse Dissémination de la résistance aux antibiotiques : le génie génétique à l'œuvre chez les bactéries médecine/sciences, **Vol 13**. p.927-933.

{S}

- **Saadaoui M. (2008).** La fréquence des bactéries multi résistante à l'hôpital Hassan ii de Settat, université Mohammed V, faculté de médecine et de pharmacie – Rabat. pp.121.
- **Schweitzer P. (2001).** La couleur du miel. *Revue l'abeille de France*. Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.
- **Schweitzer P. (2004).** Le monde des miellats. *Revue l'abeille de France* n°908. Laboratoire d'analyse et d'Ecologie Apicole. pp.02.
- **Sylvie C. (2009).** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel* **Vol 42**. p. 6-21.

{T}

- **Terrab A.F. R., Dolores H., Heredia F.J. (2004).** Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Food Chemistry* **88**:537-542.

Références bibliographiques

- **Terrab A., Heredia F.J. (2004).** Characterisation of avocado (*Persea Americana* Mill) honeys by their physicochemical characteristics.
- **Tosun M. (2013).** Detection of adulteration in honey samples added various sugar with ¹³C/¹²C isotope ratio analysis method. *Food Chemistry*, Volume 138, Issues 2- 3, 1 June, Pages 1629-1632.
- **Tourneret E.** Le peuple des abeilles. [en ligne]. Disponible sur : <http://www.thehoneygatherers.com/> (consultée le 16/01/2015).

{V}

- **Vinson JA., Hao Y., Su X., Zubik L. (1998).** Phenol antioxidant quantity and quality in foods: vegetables. *J Agric Food Chem.* Vol 46.p.3630-3634.

{W}

- **Wagner H., Ulrich-Merzenich G. (2009).** Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine* 16, 97-110.
- **Wan J., Wilcock A., Coventry M.J. (1998).** The effect of essential oils of basil on the growth of *Aeromonas hydrophila* and *Pseudomonas fluorescens*. *J. Appl. Microbiol.* 84: 152-158.
- **Wassa B. (2008).** Analyse de la dispensation des antibiotiques dans trois officines de Bamako. Thèse Doctorat. Université de Bamako .faculté de médecine, de pharmacie et d'odonto- stomatologie. pp. 72.
- **Williams S. (1984).** Official Methods of analysis, 14. Ed. Arlington aoac Inc.

{Y}

- **Yahia Mahammed S., Yahia Mahammed W. (2015).** Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla, Djendel, Bathia, Bourached et Miliana. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master .Université Djilali Bounaama khemis Miliana.
- **Yala D., Merad A.S., Mohammedi D., Korich O-M.N. (2001).** Résistance bactérienne aux Antibiotiques. *Médecine de Maghreb.* No (91).pp. 14.

{Z}

- **Zeba B. (2005).** Overview of β -lactamase incidence on bacterial drug resistance. Université de Ouagadougou/ Burkina Faso, African journal of biotechnology.4 (13): 15591562. ISSN 1684–5315.
- **Zerrouk H.S., Fallico B.G., Arena E.A., Gabriele F.B., Larbi A.B. (2011).** Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. Jordan Journal of Biological Sciences, Vol. 4, N°. 4. 243-248.



Annexes

Annexe 01 : Table de CHATAWAY (1935).

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18.4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1.44795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15.2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

Annexe 02 : TABLE DE CONVERSION IR-BRIX-HUMIDITE (miel) (Hélène, 2008).

Indice de réfraction	Degré brix brix (%)
1,48295	77,0
1,48552	78,0
1,48811	79,0
1,49071	80,0
1,49333	81,0
1,49597	82,0
1,49862	83,0
1,50129	84,0

Annexe 03 : les milieux de culture

1. Préparation de la gélose nutritive

- Mettre en suspension 23,0 g de milieu déshydraté (BK185) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

2. Préparation de la Gélose de Mueller-Hinton

- Mettre en suspension 38,0 g de milieu déshydraté (BK048) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Porter lentement le milieu à ébullition sous agitation constante et l'y maintenir durant le temps nécessaire à sa dissolution.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 115°C pendant 15 minutes.

3. Préparation de la Bouillon de Mueller-Hinton

- Mettre en solution 21,0 g de milieu déshydraté (BK108) dans 1 litre d'eau distillée ou déminéralisée.
- Agiter lentement, jusqu'à dissolution complète.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à 121°C pendant 15 minutes.

4. Préparation de la Gélose King A

- Dissoudre 51,5 g dans 1 litre d'eau pure.
- Chauffer sous agitation fréquente et laisser bouillir 1 minute pour dissoudre complètement la suspension.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Autoclave 15 minutes à 121°C. Laisser refroidir avec une pente égale au culot.

5. Préparation de la Gélose Blood agar base

- Suspendre 40,0 g dans 1000 ml d'eau distillée.
- Porter à ébullition pour dissoudre complètement le milieu.
- Répartir en tubes ou en flacons.
- Stériliser à l'autoclave à une pression de (121 ° C) pendant 15 minutes.

Annexe 04 : Paramètres physico-chimiques des huit échantillons de miel étudiés

Type de miel / Type d'analyse	M1	M2	M3	M4	M5	M6	M7	Codex Alimentarius
% Humidité	16,2	15,2	16.6	20.4	16.3	17.2	15.2	17,5 < H < 21,0
La teneur en degré de Brix	82.5	83.2	82.2	78.1	82.3	81.7	83.4	< 85
Conductivité (ms/cm)	0.35	0.32	0.25	0.36	0.08	0.29	0.30	< 0.8
pH	4.25	4.02	4.06	3.93	3.96	4.47	4.27	3,50 < pH < 4,50
Acidité (méq/kg)	39	29	40	44	32	22	19	< 50
Teneur en cendre	0.4	0.4	0.2	0.2	0.2	0.4	0.4	< 0.6

Résumé

Le miel est une substance sucrée que les abeilles fabriquent à partir du nectar des fleurs ou du miellat, il a une composition chimique variable et possède des propriétés diverses. L'objectif principal de ce travail est l'étude de l'activité antibactérienne du miel seul et en combinaison avec des antibiotiques sur trois souches, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats des analyses relatives aux paramètres de qualité des miels témoignent que ces échantillons sont de bonne qualité par rapport aux normes internationales. L'étude de l'activité antibactérienne de la combinaison du miel avec des antibiotiques vis-à-vis des quels les souches bactériennes testées ont montré une résistance, a montré un effet d'inhibition dans la croissance bactérienne ce qui démontre une synergie entre le miel et l'antibiotique.

Mots clés : miel, antibiotique, activité antibactérienne, combinaison.

Abstract

Honey is a sweet substance that the bees makes from the nectar of the flowers or the honeydew, it has a variable chemical composition and several properties. The main objective of this study is the determination of the antibacterial activity of honey alone, and his combination with different family of antibiotics on three strains: *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa*. The results of the analyses relating to the parameters of quality on honeys reveal that all samples are a good quality by international standards. The study of the antibacterial activity of the combination of honey with antibiotics which with bacterial strains tested were resistant, showed an inhibition effect on the bacterial growth, this demonstrate a synergy between the honey and antibiotic.

Keys words: honey, antibiotic, antibacterial activity, combination.

ملخص

العسل مادة حلوة يصنعها النحل من رحيق الزهور أو من المفرزات العسلية لبعض الحشرات. يتميز العسل بتراكيب مختلفة وخصائص متميزة. الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد النشاط المضاد للبكتيريا للعسل وحده أو بالخلط مع المضادات الحيوية وهذا على ثلاث سلالات بكتيرية: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* و *Escherichia coli*. أظهرت نتائج معايير الجودة لتحليل العسل أن هذه العينات هي من نوعية جيدة وفقا للمعايير الدولية. كما أظهرت دراسة النشاط المضاد للبكتيريا لمزيج العسل مع المضادات الحيوية ضد السلالات البكتيرية التي أظهرت مقاومة مع المضادات الحيوية، وجود تأثير تثبيط على نمو البكتيريا مما يدل على وجود تآزر بين العسل والمضادات الحيوية.

الكلمات المفتاحية: عسل، مضاد حيوي، نشاط مضاد للجراثيم، تآزر.