

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

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



Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine: "Sciences de la Nature et de la Vie"

Filière: "Sciences Biologiques"

Spécialité: "Sciences des procédés biotechnologiques et agroalimentaires"

Présenté et soutenu publiquement par

ABADA Wassila

HASSAN Fatima

LARBI Khadidja

Evaluation de l'effet antibactérien du miel dilué sur le développement de *Bacillus cereus*

JURY:

-Présidente : M^{elle} MOULAY M

-Promoteur : M^r HOCINE L

-Co-promotrice : M^{elle} BOUBAKEUR B

-Examinatrice : M^{me} KHADEM H

Grade

MCB

MAA

MCB

MAA

Année universitaire: 2016–2017

Remerciements

Nous remercions en premier lieu notre bon Dieu (Allah) qui nous a éclairé le chemin du savoir et qui nous a donné la volonté et la patience d'achever ce modeste travail et notre grand salut à notre premier éducateur (le prophète Mohamed) que Dieu le salut.

Tout d'abord on tient surtout à adresser nos plus vifs remerciements et nos sincères gratitude à :

- *Notre promoteur Mr Hocine L, d'avoir accepté de nous encadrer, et pour ses appréciables conseils et ses orientations.*
- *Notre Co-promotrice Melle Boubakeur B, qui nous a permis de réaliser ce travail sous sa direction et pour son encouragement permanent, sa disponibilité et ses précieux conseils.*
- *les membres de notre jury, Melle Moulay M et Mme Khadem H qui nous ont fait l'honneur d'accepter d'examiner ce travail.*
- *Notre chère sœur Melle Khaira Soualmi qui nous a aidé à la réalisation de ce travail.*
- *Ainsi qu'à tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

Dédicace

Au nom du Dieu le tout puissant je dédie ce modeste travail :

- *A ma source constante de joie et de bonheur, une lumière adorable qui a aminé mon regard ma trop chère mère.*
- *A celui qui m'a montré le bon chemin à prendre et les outils pour que je puisse face à la vie mon cher père.*
Là où je suis arrivée aujourd'hui c'est à vous MES CHERS PARENTS que je le dois, que Dieu vous garde.
- *A mon cher frère « Ahmed » que je le souhaite le succès dans ses études et un brillant avenir.*
- *A ceux qui portent le nom « HASSAN » à tout espace.*
- *A ceux qui portent le nom « BOUREKBA » à tout espace.*
- *A mon trinôme pour leur confiance « Khadidja » et « Wassila ».*
- *A tous les enseignants pour m'avoir donné ce qui est inestimable, le savoir et le savoir faire.*
- *A toute la promotion de master 2 : « Sciences des procédés biotechnologiques et Agro-alimentaires » 2016-2017.*
- *A toutes les personnes qui nous ont encouragées même si elles ne sont pas citées.*

Fatima.H.

Dédicace

J'ai l'honneur de dédier ce modeste travail réaliser grâce à l'aide de dieu tout puissant

A:

- *Celle qui matant bercé, tant donné et tant enseigné, toi qui m'a guidé Dans le droit chemin, toi qui m'a appris que rien est impossible toi machère maman.*
- *Celui qui m'a toujours encouragé et soutenu durant toutes mes années d'études toi très cher papa.*
- *Mes chères sœurs: Amel, Siham.*
- *Mes chers frères: Madjid, Sofiane.*
- *Ma chère tante: Khadîdja.*
- *A ceux qui portent le nom « L'ARBI » à tout espace.*
- *A mes chers amies "Fatima" et "Wassifa".*
- *A toute la promotion de master 2 : « Sciences des procédés biotechnologiques et Agro-alimentaires » 2016-2017.*

Khadidja.L.

Dédicace

Au nom du Dieu le tout puissant je dédie ce modeste travail :

- *A mes chers parents, qui m'ont toujours encouragé et soutenu dans mes études.*
- *A mon cher époux Abdallah que dieu le protège.*
- *A mes chers frères et sœurs : Sidali, Rayane, Ikram et la petite Zola.*
- *Aux familles ABADA, BEDELLA, MEDDAHI.*
- *A mes chers amies: Khadidja, Fatima, Ameria.*
- *A toute la promotion de master 2 : « Sciences des procédés biotechnologiques et Agro-alimentaires » 2016-2017.*

Wassila.A.

Sommaire

Liste des tableaux	
Liste des abréviations	
Liste des figures	
Liste des photos	
Introduction	01

Partie bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel

I.1.Définition du miel	02
I.2.Différents types de miel	02
I.2.1.Miels de nectar	02
➤ Miels mono floraux.....	02
➤ Miels poly floraux	02
I.2.2.Miels de miellat	02
I.3.Valeurs thérapeutiques du miel.....	03
a. Valeurs nutritionnelles.....	03
b. Valeurs médicinales	03
c. Pouvoir antibactérien	03

Chapitre II : Généralités sur *Bacillus cereus*

II.1.Définition.....	04
II.2. Taxonomie.....	04
II.3. Pouvoir pathogène.....	04
II.4.Classification.....	04

Partie Expérimentale

Chapitre I : Matériels et Méthodes

I.1.Objectif du travail.....	05
I.2.Lieu et période de travail	05
I.3.Matériel utilisés	05
I.3.1.Echantillonnage du miel.....	05
I.3.2.Souche bactérienne	06

I.3.3. Matériels de laboratoire utilisés	06
I.4. Méthodes	08
I.4.1. Protocole expérimental.....	08
I.4.2. Tests Microbiologiques.....	09
I.4.2.1. Préparation des aliquotes bactériens	09
I.4.2.2. Confirmation de la pureté de la souche	09
a. Macroscopique.....	09
b. Microscopique	10
I.4.3. Dilution du miel	10
I.4.3.1. Dilution dans de l'eau distillée	10
I.4.3.2. Dilution dans le Bouillon Mueller Hinton	11
I.4.4. Préparation et standardisation de l'inoculum.....	11
I.4.5. Méthode de diffusion sur gélose	11
I.4.5.1. Technique d'incorporation	11
I.4.5.2 . Technique des puits	15
a. Détermination des coefficients d'inhibition et l'activité bactérienne.....	16

Chapitre II : Résultats et discussion

II.1. Résultats et interprétation	17
II.1.1. Identification de la souche	17
a. Aspect macroscopique.....	17
b. Aspect microscopique	17
II.1.2. Détermination de la Concentration minimale inhibitrice sur gélose.....	18
a. Technique d'incorporation	18
b. Technique des puits.....	22
II.2. Discussion générale	25
Conclusion.....	27

Références bibliographiques

Glossaire

Annexes

Résumé

Liste des tableaux

Tableau N° 01 : Origine et date de récolte de miel étudié	05
Tableau N° 02 : Matériels de laboratoire qui sont utilisés.....	07
Tableau N° 03 : Concentrations du miel dans de l'eau distillé.....	10
Tableau N° 04 : Concentrations du miel dans le milieu (BMH).....	11
Tableau N°05 : Concentration du miel dans la technique d'incorporation (Miel dilué dans l'eau distillée	12
Tableau N° 06 : Concentration du miel dans la technique d'incorporation (Miel dilué dans le milieu BMH.....	12
Tableau N°07 : Résultats de l'effet de différentes concentrations de miel dilué dans l'eau distillée sur le développement de <i>Bacillus cereus</i>	18
Tableau N° 08 : Résultats de l'effet de différentes concentrations de miel dilué dans le milieu GMH sur le développement de <i>Bacillus cereus</i>	21
Tableau N° 09 : Les diamètres des halos d'inhibition en (cm)	24

Liste des abréviations

Ab: activité bactérienne

ATCC : American type culture collection

B. cereus : *Bacillus cereus*

BMH: Bouillon Mueller Hinton

BN: Bouillon Nutritif

C° : Degré Celsius

CMI : Concentration minimale inhibitrice

Cm : Centimètre

Ci : Coefficient d'inhibition

D.O : Densité optique

GN : Gélose nutritive

GMH : Gélose Mueller Hinton

pH : Potentiel d'hydrogène

SM : solution mère

Liste des figures

Figure N° 01 : Schéma représentatif du protocole expérimental	08
Figure N° 02 : Schéma représentatif de la méthode de l'incorporation.....	14
Figure N° 03 : Coefficient d'inhibition et d'activité bactérienne.....	24

Liste des photos

Photo N° 01 : Echantillon de miel.....	06
Photo N° 02 : Aspect des colonies de <i>Bacillus cereus</i> sur gélose nutritive	17
Photo N° 03 : Observation microscopique de <i>Bacillus cereus</i> par l'objectif x100.....	17
Photo N° 04 : Effet de miel dilué à 10 % et 20% dans de l'eau distillée	19
Photo N° 05 : Effet de miel dilué à 30 % et 40 % dans de l'eau distillée.....	19
Photo N° 06 : Effet de miel dilué à 50 % dans de l'eau distillée.....	20
Photo N° 07 : Effet de miel dilué à 10 % et 20% dans le BMH	21
Photo N° 08 : Effet de miel dilué à 30 % et 40% dans le BMH.....	22
Photo N° 09 : Effet de miel dilué à 50% dans le BMH.....	22
Photo N° 10 : Effet du miel dilué à 10% sur le développement de <i>Bacillus cereus</i>	23
Photo N° 11 : Effet du miel dilué à 20% sur le développement de <i>Bacillus cereus</i>	23
Photo N° 12 : Effet du miel dilué à 30% sur le développement de <i>Bacillus cereus</i>	23

INTRODUCTION

Introduction

Le prophète (bénédiction et paix sur lui) dit : "le miel est un remède pour chaque maladie et le coran est un remède pour toute les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le coran et le miel" (rapporté par L'imam Boukhari).

Savez-vous combien le miel est important, cette nourriture produite par l'abeille et offerte à l'homme, par la grâce de Dieu?

Le miel est la substance sucrée totalement naturelle est l'un des produits issus de la ruche employé depuis des millénaires par de nombreuses civilisations, pour ses qualités nutritionnelles et ses utilisations thérapeutiques. Au cours de l'Antiquité le miel a eu une valeur religieuse importante, il agit comme un antimicrobien, contre de nombreuses bactéries (**Chanaud, 2011**). Parmi ces bactéries, *Bacillus cereus* est une bactérie ubiquitaire responsable de toxi-infections alimentaires et d'infections opportunistes, locales ou systémiques (**Buisson et al, 1998**).

L'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est dû généralement au phénomène de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux miels et leurs vertus thérapeutiques, vertus nutritives, curatives et spirituelles. Par sa composition très variée (sucres, vitamines, poly phénols...) ses applications sont innombrables, selon leur origine florale, sur tous les systèmes du corps humain : croissance, système immunitaire, système respiratoire, système digestif. Il agit aussi sur la peau comme cicatrisants des plaies normales, surinfectées ou des brûlures. Le miel naturel montre une activité cicatrisante importante. Outre son activité antibactérienne, il jouit d'une propriété nettoyante et désinfectante (**Merah et al, 2010**).

C'est dans ce contexte, que s'inscrit notre travail dont l'objectif principal consiste à étudier l'effet antibactérien du miel dilué sur le développement de *Bacillus cereus*, Cette idée a été annoncée depuis plus de 14 siècles par notre prophète MOHAMED (bénédiction et paix sur lui) qui insiste sur "boire du miel dilué".

PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I
GENERALITES SUR LE MIEL

I.1. Définition du miel

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce « *Apis mellifera* » à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceur, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche (Chanaud, 2011).

I.2. Différents types de miel**I.2.1. Miels de nectar**

On distingue deux types de miels produits à partir du nectar:

➤ Miels mono floraux

Les miels mono floraux sont élaborés à partir du nectar provenant majoritairement d'une espèce végétale dominante (45% de pollen de cette espèce et plus) (Chanaud, 2011).

➤ Miels poly floraux

Comme son appellation l'indique, ce miel provient de butinage par les abeilles à partir de plusieurs nectars provenant de plusieurs espèces végétales différentes (aucune dominance d'une espèce végétale) (Chanaud, 2011; Clément, 2014).

I.2.2. Miel de miellat

Miellat c'est la substance coulante et sucrée sécrétée par les pucerons ou d'autres insectes (cochenilles, psylles ou cigales) se nourrissant de la sève des plantes et dont ils recouvrent fréquemment les feuilles et les tiges (Marchenay, 1988; Richard, 2013).

I.3. Valeurs thérapeutiques du miel**a. Valeurs nutritionnelles**

Grâce à sa teneur riche en sucres simples (fructose, glucose), le miel est doté d'un pouvoir sucrant plus important que celui du sucre raffiné (saccharose) et avec un apport calorique beaucoup moins important (25% calories en moins). De ce fait le miel :

- Satisfait les besoins énergétiques de l'organisme surtout pour les sportifs, les personnes fatiguées, les enfants et les personnes âgées car il est rapidement assimilé ;
- Favorise la calcification osseuse et dentaire;

Facilite l'assimilation des aliments, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal; et possède un pouvoir antioxydant permettant de prévenir l'apparition de certains cancers (**Oudjet, 2012**).

b. Valeurs médicinales

Traditionnellement, le miel est considéré comme un médicament ou un tonique, plutôt qu'une nourriture quotidienne. De nos jours, le miel est de plus en plus reconnu pour ses propriétés curatives et antibactériennes lorsqu'il est ingéré oralement ou appliqué comme traitement des brûlures ou des blessures (**Bradbear, 2009**).

Parmi ces valeurs médicinales on a :

- Renforce le système immunitaire
- Combat l'insomnie, la fatigue et l'anémie grâce à sa richesse en sucre
- Soigne les ulcères, les brûlures, les plaies infectées
- Calme la toux et soulage les maux de gorge
- Permet de prévenir l'apparition de certains cancers
- Augmente l'énergie.

c. Pouvoir antibactérien

Le miel ou ses composants isolés pourraient être d'une grande valeur pour la prévention et le traitement des infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques. (**Nathalie, 2012**).

CHAPITRE II
GENERALITES SUR LA
BACILLUS CEREBUS

II.1.Définition

Les bactéries du groupe *Bacillus cereus* appartiennent à la famille des Bacillaceae et au genre *Bacillus*, rencontrées dans le sol, l'eau, les poussières, les plantes et les matières fécales de l'homme et des animaux (**Buisson et al, 1998**). *Bacillus cereus* est un long bacille (bâtonnet) de forme régulière et souvent en courte chaîne, qui est mobile.

II.2.Taxonomie

Bacillus cereus est une bactérie pathogène Gram positif sporulée, aéro-anaérobie facultative et thermorésistante ; elle peut produire deux types de toxines : la première est dite émétique, c'est-à-dire qu'elle se manifeste par des nausées et des vomissements, la deuxième se manifeste par l'apparition de diarrhées (**Cadel et Messio, 2006**). *Bacillus cereus* est caractérisée par une température optimale de croissance de 30-37°C mais elles sont capables de croître de 4°C à 50°C et un pH optimal entre (4,5 et 7) selon les espèces (**König, 2016**).

II.3.Pouvoir pathogène

B. cereus est responsable d'intoxications se traduisant par des symptômes émétiques et de toxi-infections caractérisées par des symptômes diarrhéiques. Les maladies à symptômes émétiques sont causées par l'ingestion d'une toxine, le céréulide, produite dans l'aliment au cours de la croissance de *B. cereus*. Les maladies à symptômes diarrhéiques seraient causées par l'ingestion de cellules et/ou de spores de *B. cereus*, suivie d'une production d'entérotoxine dans l'intestin (**anses, 2011**).

II.4. Classification le tableau ci-dessous représente la classification de la *Bacillus cereus* (**Eric, 2008**).

Règne	<i>Bacteria</i>
Division	<i>Firmicutes</i>
Classe	<i>Bacilli</i>
Ordre	<i>Bacillales</i>
Famille	<i>Bacillaceae</i>
Genre	<i>Bacillus</i>
Espèce	<i>Bacillus cereus</i>

PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE I

MATERIELS ET METHODES

I.1. Objectif de travail

L'objectif de notre travail est l'estimation de l'effet antimicrobien du miel dilué et la détermination de la concentration minimale inhibitrice de développement de *Bacillus cereus*.

I.2. Lieu et période de travail

Notre travail a été réalisé au niveau du laboratoire de Microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret pendant la période de 08 Février jusqu'au 31 mars 2017.

I.3. Matériels utilisés

I.3.1. Matériel biologique

Le miel utilisé est d'origine locale « Tiaret », il est stocké dans un endroit frais et à fin de le protéger contre la lumière, sa date de récolte ainsi que son origine géographique et florale sont présentés dans le tableau N°01.

Tableau N°01: Origine et date de récolte de miel étudié.

Origine florale	Origine géographique	Date de récolte
Poly florale	Commune de Mellakou (Tiaret)	Juillet 2016



Photo N°01: Echantillon de miel.

I.3.2. Souche bactérienne

La souche bactérienne utilisé est *Bacillus cereus* (ATCC : 11778), elle provient du laboratoire de recherche : valorisation et amélioration des productions animales locales; Institut des sciences vétérinaires de l'université Ibn Khaldoun. Tiaret.

I.3.3. Matériels de laboratoire utilisés

Le matériel de laboratoire utilisé dans notre expérimentation est récapitulé dans le tableau N°02.

Tableau N°02 : Matériels de laboratoire qui sont utilisés.

Appareillages et autre matériels	Verreries	Milieux de culture et réactifs
<ul style="list-style-type: none"> ❖ Balance électrique (Sartorius) ❖ Bec bunsen ❖ Agitateur (Stuart) ❖ Microscope optique (Optika) ❖ Bain marie ❖ Réfrigérateur (Cristor) ❖ Plaque chauffante ❖ Etuve (Memmert) ❖ Autoclave (Memmert) ❖ Four pasteur (Memmert) ❖ Vortex (Techno Kartell) ❖ Spectrophotomètre (Pharmacia Biotech) ❖ Micropipettes ❖ Embouts ❖ Boîtes de pétri ❖ Portes tubes ❖ Pince en bois ❖ Spatule ❖ Seringue ❖ Cuves ❖ Appareil photo numérique ❖ Bac de coloration ❖ Support du bac ❖ Gants ❖ Etiquettes ❖ Scotch ❖ Papier Josef 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Eprouvettes graduées ❖ Béchers ❖ Tubes à essais ❖ Lames ❖ Pipettes pasteur ❖ Flacons 	<ul style="list-style-type: none"> ❖ Gélose nutritive ❖ Bouillon nutritif ❖ Gélose Mueller Hinton ❖ Bouillon Mueller Hinton (Voir Annexe 02). ❖ Solution de violet de gentiane ❖ Solution de lugol ❖ Solution de fuchsine ❖ Alcool ❖ Huile d’immersion ❖ Eau distillée

I.4. Méthodes

I.4.1. Protocole expérimental

L'ensemble des étapes expérimentales réalisées est indiquée dans la figure N°01:

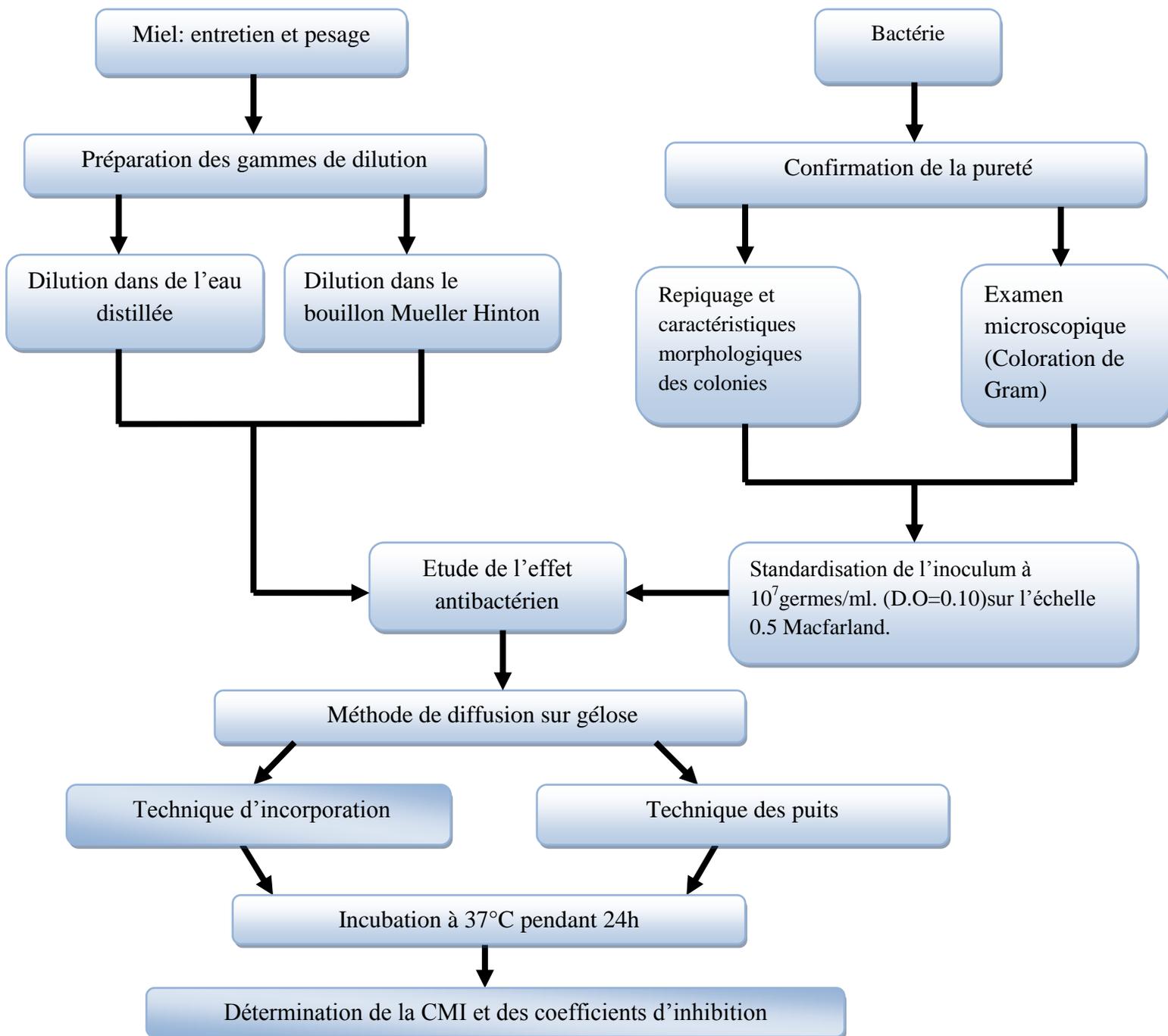


Figure N° 01 : Schéma représentatif du protocole expérimental.

I.4.2. Tests microbiologiques

I.4.2.1. Préparation des aliquotes bactériens

La préparation des aliquotes a été faite selon les étapes suivantes :

- ❖ Prendre des colonies de *Bacillus cereus* à partir d'une culture jeune ;
- ❖ Ensemencer ces colonies sur 03boites de pétri contenant la gélose nutritive ;
- ❖ Incuber à 37°C pendant 24h ;
- ❖ Après l'incubation, Prendre une colonie à partir de chaque boite de pétri ;
- ❖ Introduire chaque colonie dans un tube à essai contenant 5ml de bouillon nutritif ;
- ❖ Agiter par un vortex ;
- ❖ Incuber à 37°C pendant 24h ;
- ❖ Conservation des aliquotes à 4°C pendant 24h.

Avant chaque usage, la suspension bactérienne est réactivée par incubation d'une à deux heures à une température appropriée (37°C).

I.4.2.2. Confirmation de la pureté de la souche

a. Macroscopique

Pour les examens macroscopiques de bactéries communes, aérobies strictes et anaérobies facultatives, les souches bactériennes doivent être cultivées sur un milieu gélosé solide en boite de pétri et dans un milieu liquide en tube, afin de déterminer les caractères cultureux de ces bactéries (**Delarras, 2007**).

En condition d'asepsie :

- ❖ Prélever à l'aide d'une pipette Pasteur une goutte de la suspension bactérienne, et ensemencer par des stries sur le milieu GN ;
- ❖ Incuber la boite dans l'étuve à 37°C pendant 24h ;
- ❖ Les caractéristiques macroscopiques des colonies sont déterminées.

b. Microscopique

L'examen microscopique apparait comme la première étape de l'étude d'une bactérie. Le test réalisé est la coloration de Gram (Voir Annexe 03).

I.4.3. Dilution du miel

La dilution du miel a été effectuée dans deux supports différents (eau distillée et bouillon Mueller Hinton).

I.4.3.1. Dilution dans de l'eau distillée

La dilution dans de l'eau distillée est indiquée dans le tableau N° 03.

Tableau N °03 : concentrations du miel dans de l'eau distillée.

Miel(SM) en (ml)	(%) du miel	Eau distillée en (ml)	(%) du l'eau distillée	Concentration du miel
4,5	90	0,5	10	11.4g/ml
4	80	1	20	5.06g/ml
3,5	70	1,5	30	2.93g/ml
3	60	2	40	1.9g/ml
2,5	50	2,5	50	1.24g/ml

I.4.3.2. Dilution dans le milieu BMH

La dilution dans le milieu est indiquée dans le tableau N° 04.

Tableau N °04 :Concentrations du miel dans le milieu (BMH)

Miel(SM) en (ml)	(%) du miel	Milieu (B.M.H) en (ml)	(%) du milieu (BMH)	Concentration du miel
4,5	90	0,5	10	11.4g/ml
4	80	1	20	5.06g/ml
3,5	70	1,5	30	2.93g/ml
3	60	2	40	1.9g/ml
2,5	50	2,5	50	1.24g/ml

I.4.4. Préparation et standardisation de l'inoculum

La préparation de l'inoculum est réalisée selon les étapes suivantes :

- ❖ Prélever des colonies de *Bacillus cereus* (ATCC : 11778) ;
- ❖ Transvaser dans un tube contenant 5ml de bouillon nutritif : émulsionner les colonies sur le bord du tube ;
- ❖ Agiter par le vortex ;
- ❖ A l'aide d'un spectrophotomètre : standardiser l'inoculum à 10^7 germes/ml sur l'échelle 0.5 Macfarland.

I.4.5. Méthode de diffusion sur gélose

I.4.5.1. Technique d'incorporation

Elle consiste à incorporer l'antibiotique à des séries de milieux de culture liquides ou solides et à déterminer dans des conditions expérimentales rigoureusement définies, la plus petite concentration capable d'inhiber la croissance du germe considéré ou concentration minimale inhibitrice « C.M.I » (Bourdon et Marchal, 1973).

Les concentrations du miel dans la technique d'incorporation est indiquée dans les tableaux N°05 et 06.

Tableau N°05 : Concentration du miel dans la technique d'incorporation (Miel dilué dans de l'eau distillée).

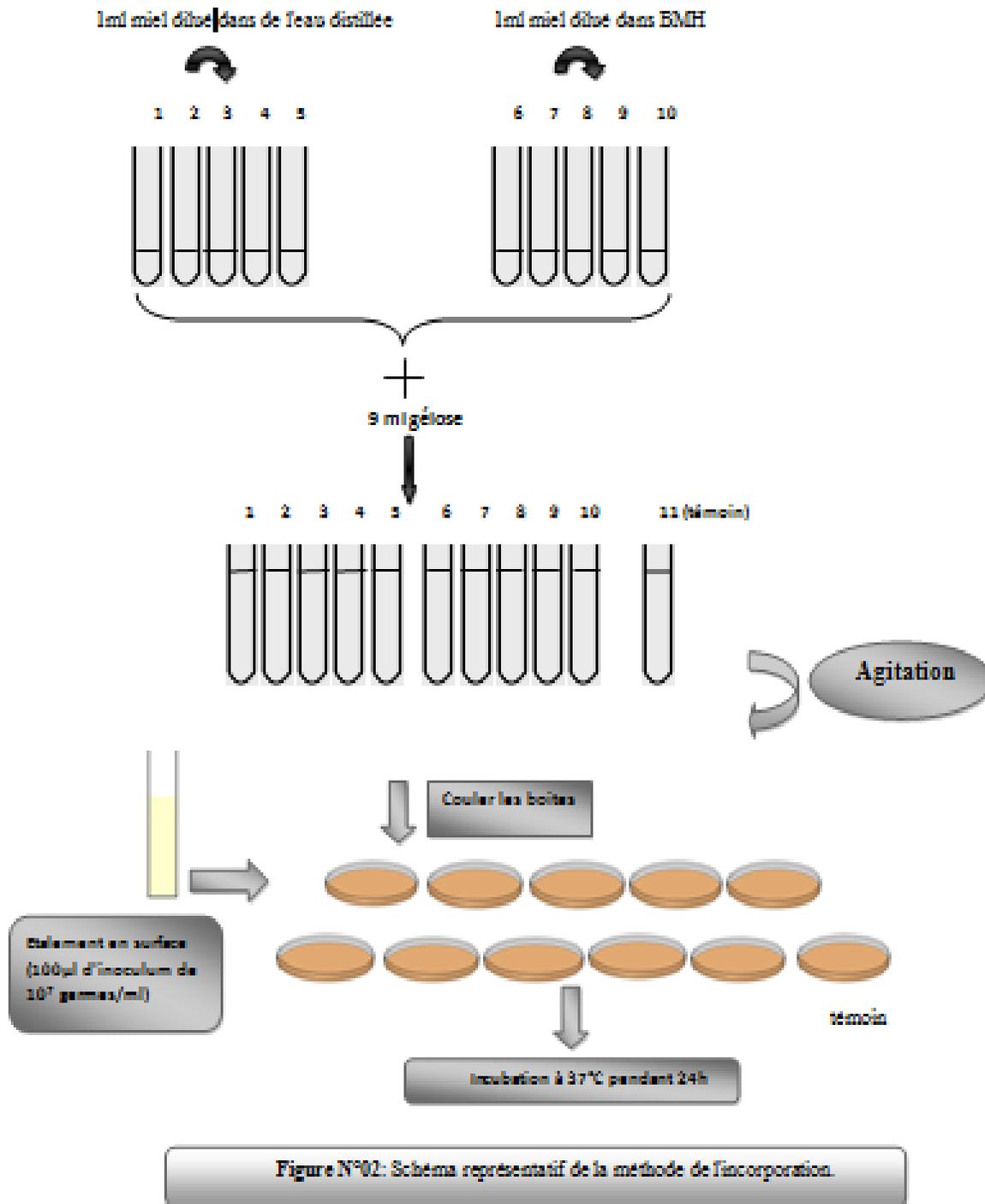
N° Des tubes utilisés	(%) du miel Dans de l'eau distillée	Miel dilué en (ml)	(%) de la Gélose Mueller Hinton	Gélose Mueller Hinton en (ml)	Concentration finale du miel
01	90	1	10	9	1.14g/ml
02	80	1	20	9	0.506g/ml
03	70	1	30	9	0.293g/ml
04	60	1	40	9	0.19g/ml
05	50	1	50	9	0.124g/ml

Tableau N°06 : Concentration du miel dans la technique d'incorporation (Miel dilué dans le milieu BMH).

N° Des tubes utilisés	(%) du miel Dans le milieu (BMH)	Miel dilué en (ml)	(%) du Gélose Mueller Hinton	Gélose Mueller Hinton en (ml)	Concentration finale du miel
06	90	1	10	9	1.14g/ml
07	80	1	20	9	0.506g/ml
08	70	1	30	9	0.293g/ml
09	60	1	40	9	0.19g/ml
10	50	1	50	9	0.124g/ml
11	0	0	100	10 (Témoin)	0g/ml

-Les étapes de la technique d'incorporation :

- ❖ Transvaser dans chaque tube à essai 1ml du miel dilué avec 9ml du Gélose Mueller Hinton et pour le témoin 10 ml de gélose seule ;
- ❖ Agiter les tubes par un vortex ;
- ❖ Couler dans les boites de pétri ;
- ❖ Etaler en surface de chaque boite de pétri 100 μ L d'inoculum standardisé ;
- ❖ Après solidification, les boites sont incubées à 37°C pendant 24h ;
- ❖ La méthode de l'incorporation de miel dilué en milieu solide est présentée dans la figure N° 02.



I.4.5.2. Technique des puits

L'antibiogramme a pour but de déterminer la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis de divers antibiotiques.

La détermination de cette valeur est peu précise, mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet.

Le but de la réalisation d'un antibiogramme est de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. Il sert également :

- À la surveillance épidémiologique de la résistance bactérienne ;
- À l'identification bactérienne par la mise en évidence de résistances naturelles.

(Burnichon, 2003).

-Les étapes de la technique des puits sont :

- ❖ Mettre 20ml de Gélose Mueller Hinton dans des boîtes de pétri. Laisser solidifier ;
- ❖ Etaler, par râtelier, 100 µl d'inoculum (10^7 germes/ ml) à la surface de la Gélose ;
- ❖ Après séchage des boîtes pendant 15 min, on creuse deux petits puits/boîte dans la gélose en utilisant la partie supérieure d'une pipette Pasteur;
- ❖ Les cavités ainsi formées sont remplies par 50 µL/puits de la solution aqueuse du miel dilué;
- ❖ Les boîtes sont mises à incubées dans un incubateur à 37°C pendant 24h ;
- ❖ L'action inhibitrice se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits ;
- ❖ La lecture des résultats s'effectue par mesure des diamètres des zones d'inhibitions.

La technique des puits est utilisée uniquement pour les concentrations de miel dans de l'eau distillée ayant donné un effet inhibiteur dans la technique d'incorporation.

a. Détermination des coefficients d'inhibition et l'activité bactérienne

Les coefficients d'inhibition et l'activité bactérienne sont calculés par les équations suivantes :

$$C_I = \frac{d_{zi}}{d_b} \times 100$$

C_I : Coefficient d'inhibition.

d_{zi} : Diamètre de la zone d'inhibition.

d_b : Diamètre de la boîte de pétri.

$$A_B = 100\% - C_I$$

A_B : Activité bactérienne.

CHAPITRE II
RESULTATS ET DISCUSSION

II.1. Résultats et interprétation

II.1.1. Identification de la souche

a. Aspect macroscopique

L'examen macroscopique a permis de déceler des colonies de couleurs blanches, d'aspect granuleux.



Photo N°02 : Aspect des colonies de *Bacillus cereus* sur GN.

b. Aspect microscopique (coloration de Gram)

L'aspect microscopique montre que les cellules sont des bâtonnets , Gram positif (+) et groupés en paires ou en chaînettes courtes.



Photo N° 03: Observation microscopique de *Bacillus cereus* par G x100.

Selon Neuchâtel (1996), Les souches de *Bacillus cereus* sont des bacilles à Gram positif de 1,4 µm habituellement observés en paires ou en chaînettes courtes, colonies blanches d'aspect granuleux font entre 2 et 7 mm de diamètre.

II.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice sur gélose

a. Technique d'incorporation

➤ Le miel dilué dans de l'eau distillée

Les résultats de l'effet de miel dilué sur le développement de *Bacillus cereus* par la méthode d'incorporation sur milieu solide sont présentés dans le tableau N°07 et les photos N°04, 05,06.

Tableau N°07 : Résultats de l'effet de différentes concentrations de miel dilué dans de l'eau distillée sur le développement de *Bacillus cereus*.

(%) du miel Dans de l'eau distillée	Volume de miel dilué en (ml)	Volume de milieu GMH en (ml)	Résultats
90	1	9	+
80	1	9	++
70	1	9	+++
60	1	9	++++
50	1	9	+++++
0	0 (témoin)	10	+++++

+ : une faible charge

++ : Une charge élevée

+++ : Une charge très élevée

++++ : Une nappe de colonie

+++++ : Une nappe fortement chargée

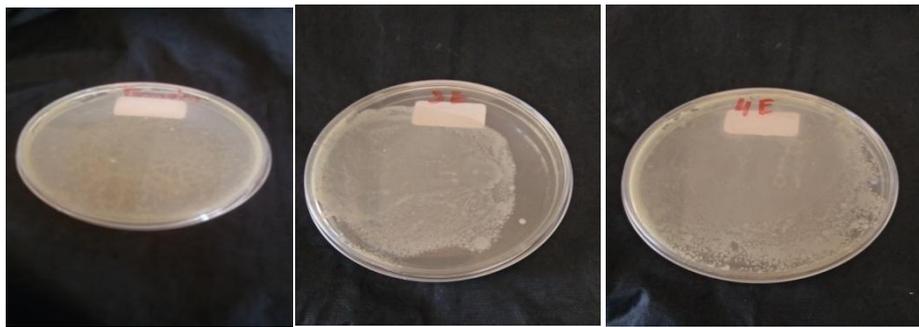


Témoin

10%

20%

Photo N°04 : Effet de miel dilué à 10 % et 20% dans de l'eau distillée.



Témoin

30%

40%

Photo N°05 : Effet de miel dilué à 30% et 40 % dans de l'eau distillée.



Témoin

50%

Photo N°06 : Effet de miel dilué à 50 % dans de l'eau distillée.

D'après les résultats obtenus, On constate que le développement de *Bacillus cereus* à des concentrations de 50% et 60% est comparable avec le témoin; par contre dans les concentrations de 70% et 80% il y'a eu une diminution du développement. Cette diminution est importante au niveau de la concentration de 90%.

➤ **Le miel dilué dans le milieu (BMH)**

Les résultats de l'effet de miel dilué sur le développement de *Bacillus cereus* par la méthode d'incorporation sur milieu solide sont présentés dans le tableau N°08 et les photos N°07, 08,09.

Tableau N°08 : Résultats de l'effet de différentes concentrations de miel dilué dans le milieu GMH sur le développement de *Bacillus cereus*.

(%) du miel Dans le milieu (BMH)	Volume de miel dilué en (ml)	Volume de milieu GMH en (ml)	Résultats
90	1	9	++
80	1	9	+++
70	1	9	+++++
60	1	9	+++++
50	1	9	+++++
0	0 (Témoin)	10	+++++

++ : Une charge élevée

+++ : Une charge très élevée

+++++ : Une nappe fortement chargé



Témoin

10%

20%

Photo N°07 : Effet de miel dilué à 10 % et 20% dans le BMH.



Témoin

30%

40%

Photo N°08 : Effet de miel dilué à 30% et 40% dans le BMH.



Témoin

50%

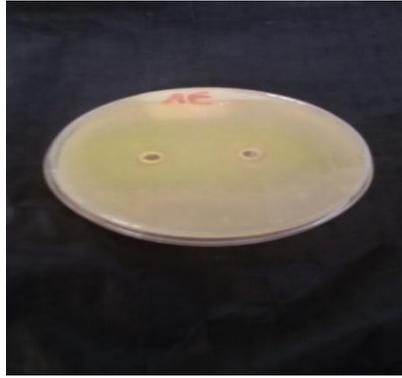
Photo N°09: Effet de miel dilué à 50% dans le BMH.

D'après les résultats obtenus, On constate que le développement de *Bacillus cereus* dans les concentrations de 50%, 60% et 70% est comparable avec le témoin, et dans les concentrations de 80% et 90% il y'a eu une faible diminution de développement.

b. Technique des puits

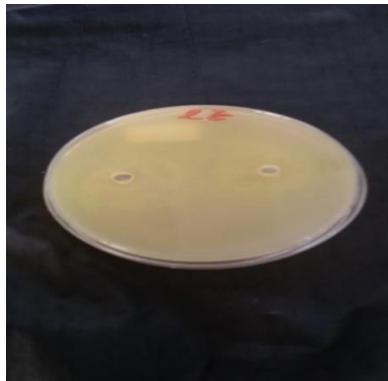
L'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel dilué est basée sur les mesures des diamètres en (cm) des halos d'inhibition de différentes dilutions de miel.

Les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel dilué sont présentés dans les photos N°10,11 et 12 et dans le tableau N°09.



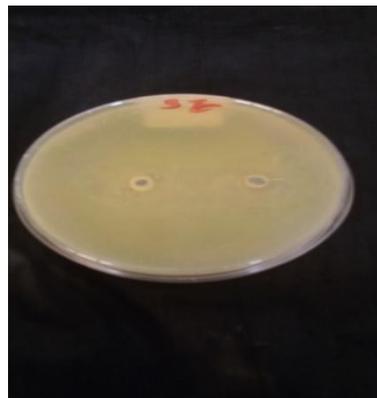
10% (Dilution dans de l'eau distillée)

Photo N°10 : Effet du miel dilué à 10% sur le développement de *Bacillus cereus*.



20% (Dilution dans de l'eau distillée)

Photo N°11 : Effet du miel dilué à 20% sur le développement de *Bacillus cereus*.



30% (Dilution dans de l'eau distillée)

Photo N°12 : Effet du miel dilué à 30% sur le développement de *Bacillus cereus*.

Tableau N°09 : les diamètres des halos d'inhibition en (cm).

Concentration du miel en (g/ml)	(%) de la dilution	Les diamètres en (cm)	C _I en (%)	A _B en(%)
11.4	10	1.5	17.64	82.36
5.06	20	0.7	8.23	91.77
2.93	30	00	00	100

D'après les résultats, on constate que le coefficient d'inhibition diminue lorsque la concentration du miel diminue (autrement dit quand la dilution augmente) et par conséquent l'activité bactérienne augmente. Pour la dilution 30% l'activité bactérienne est égale 100% et le coefficient d'inhibition est égale 00%(une tolérance maximale).

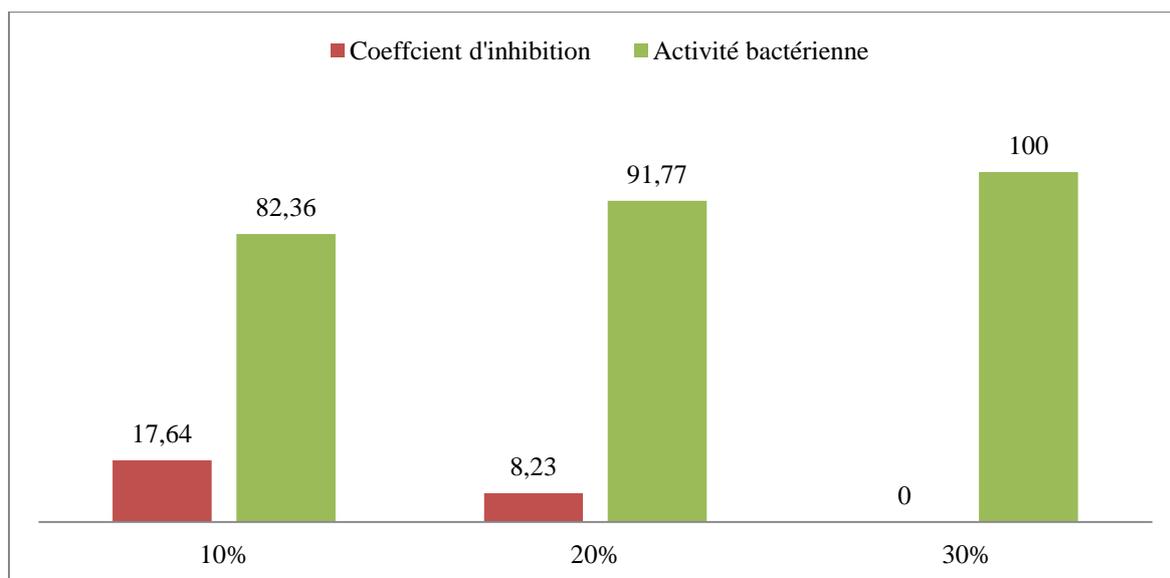


Figure N°03 : Coefficient d'inhibition et l'activité bactérienne .

II.2. Discussion générale

Dans notre étude, le miel utilisé à différentes concentrations (90, 80, 70, 60, 50%) a été testé pour son activité antibactérienne contre *Bacillus cereus*.

En effet l'étude de cette activité antibactérienne a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose (Technique d'incorporation et technique des puits).

Le miel dilué dans de l'eau distillée a montré une activité antibactérienne contre la souche microbienne étudiée, la concentration minimale inhibitrice est obtenue à une concentration de 70%. En revanche, le miel dilué dans le milieu de culture montre une inhibition à une concentration minimale inhibitrice de 80%.

L'incorporation du miel dilué par le milieu provoque une dilution du miel donc une activation du glucose oxydase d'où libération d'eau oxygénée (**Mazouz, 2011**).

D'après **Bogdanov et Blumer, (2001)**, L'eau oxygénée (H_2O_2), aussi appelée peroxyde d'hydrogène, est considérée comme la principale inhibine contenue dans le miel, cette substance résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. Cette oxydation est provoquée par une enzyme sécrétée par l'abeille Selon la réaction suivante:



D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne par méthode de puits, nous avons constaté que l'effet antibactérien du miel dilué est plus important avec les échantillons moins dilués.

Le miel dilué à 10% et 20% s'avère avoir un effet inhibiteur mais à partir de 30% et plus aucun effet inhibiteur n'a été constaté.

D'après **Merah et al, (2010)**, l'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu important en enzyme, la glucose oxydase qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. L'enzyme reste active tous le temps de la transformation du nectar en miel. Dans le miel mûr, l'enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée. Cette idée est surmontée dans les habitudes du prophète (bénédictioin et paix sur lui) de prendre le matin un verre d'eau contenant une cuillerée de miel.

La formation de l'eau oxygénée est en outre influencée par la chaleur et la lumière. Ces dernières altèrent la glucose-oxydase et ralentissent ainsi la production d'eau oxygénée. Étant donné que l'eau est indispensable au processus d'oxydation, l'eau oxygénée se forme uniquement dans le miel non mûr. Dans le miel mûr, le processus est bloqué

(Bogdanov et Blumer, 2001).

Il est à signaler que le miel dilué reste moins efficace que le miel pur. Les résultats obtenus ultérieurement sur l'effet antibactérien du miel pur ont montré une inhibition plus importante où des coefficients d'inhibition élevés ont été enregistrés **(Chebbah, 2015)**.

D'après **Hoyet, (2005)** Le miel possède une activité antibactérienne en raison de :

- sa haute osmolarité (il possède une haute concentration de sucres),
- son pH acide (pH 3-4) qui empêche la survie et le développement des bactéries.
- Ses acides organiques libres ou combinés sous forme de lactones (0,3%), le principal d'entre eux étant l'acide gluconique, issu de la digestion enzymatique du glucose. Ils sont responsables de l'acidité du miel et de son goût caractéristique.

Les propriétés antibactériennes sont aussi attribuées sa richesse en caroténoïdes, flavonoïdes et composés phénoliques.

CONCLUSION

Conclusion

Les bienfaits des substances naturelles sont multiples et différents selon leur nature et leur type. En effet depuis l'antiquité ont été utilisées comme des remèdes contre plusieurs pathologies et maladies dans la santé humaine.

Le miel est une substance naturelle, constitue une source de biomolécules d'intérêt pharmaceutique, plusieurs études ont montré de vertus diverses de cette substance. Ainsi l'objectif de cette étude était l'évaluation de l'effet du miel dilué sur le développement d'une souche opportuniste *Bacillus cereus*. L'évaluation a été faite en utilisant deux supports de dilution (Eau distillée et Bouillon Mueller Hinton). Deux techniques ont été testé, technique d'incorporation et technique de puits, a fin d'étudier l'impact de la technique sur l'effet antimicrobien du miel dilué.

Les résultats obtenus ont montré que le miel dilué présente une activité antibactérienne appréciable, l'eau distillée s'est révélé plus efficace pour avoir une activité importante de miel.

Les coefficients d'inhibition obtenus par technique de puits sont faibles. La meilleure inhibition (17.64%) obtenue a une dilution de 10% de miel soit une concentration de

1.14 g/ml.

Cette étude préliminaire peut révéler l'importance du miel dilué à fin d'avoir une activité antimicrobienne appréciable.

L'étude nécessite d'être approfondie par d'autres études permettant:

- Evaluation de l'effet de la dilution sur l'activité antibactérienne en testant des concentrations plus élevées;
- La dilution du miel par l'eau distillée entraine une réactivation des enzymes responsables de la libération de l'acide gluconique et de peroxyde d'hydrogène, il serait donc intéressant d'étudier leur implication dans l'activité antibactérienne;
- d'élargir l'étude sur d'autres souches microbiennes plus sensible au peroxyde d'hydrogène.

Références
Bibliographiques

Références bibliographiques

- ❖ **Anses, (2011).** *Bacillus cereus, Agence nationale de sécurité sanitaire alimentation, environnement travail, (4).*
- ❖ **Bourdon, J, L, Marchal, N, (1973).** Techniques bactériologiques. DOIN, Paris, P.335.
- ❖ **Bogdanov, S, Blumer, P, (2001).** Les propriétés antibiotiques naturelles du miel- *Centre suisse de recherches apicoles (1-8).*
- ❖ **Bradbear, N, (2010).** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Edition FAO, Rome (238).
- ❖ **Buisson, Y, Hance, P, Nicand, E, Nizou, J,Y, Teyssou, R(1998).** Les infections à *Bacillus cereus-Microbiologie-N°3(99-104).*
- ❖ **Burnichon, N, (2003).** L'antibiogramme :La détermination des sensibilités aux antibiotiques-*DES bactério(1-29)*
- ❖ **Cadel, S, Messio , S, (2006).** Toxi-alimentaires collectives à *Bacillus cereus.* Bulletin épidémiologique, N°50, (57-61).
- ❖ **Chanaud, P, (2011).**Les Miels. EDISUD. France. P.191.
- ❖ **Chebbah, F, (2015).** Caractérisation et effet antibactérien des miels de l'ouest algérien sur des bactéries pathogènes. Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun-Tiaret.
- ❖ **Clément, H, (2014).** l'apiculture. Édition first ; un département d'E, paris;(376)
- ❖ **Dellaras , C, (2007).** Microbiologie pratique pour le laboratoire.TEC et DOC, Paris, (476).
- ❖ **Eric, D, (2008).** *Bacillus Cereus ,Lavoisier .Paris (400)*
- ❖ **Gillet, P , Boel, L, Jacobs ,J (2009).** Bactériologie médicale tropicale-*Postgraduat en medecine tropicale et santé internationale-N°155, (1-46).*
- ❖ **HOYET, C, (2005).** LE MIEL : De la source à la thérapeutique. Thèse de doctorat, Université HENRI POINCARÉ - NANCY 1 (96).
- ❖ **Konig, C, (2016).** Les ravageurs, menace pour noscéréales (1-40)
- ❖ **La chimie.net – www.lachimie.net – (2012) – toute reproduction interdite.**
- ❖ **Marchenay, P, (1988) .** Miels .Miellats .Mielleés 35 (121-146)
- ❖ **Mazouz, M, Messaoud, S, Sahraoui, H (2011).** Evaluation de l'effet antibactérien de miel vis à vis de *Candida albicans* et *Staphylococcus aureus* in vitro. Mémoire de Master, Université Ibn Khaldoun-Tiaret.

- ❖ **Merah M, Bensaci M, Boudershem A, (2010).** Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel-*Annales des sciences et technologie*. N°2, (115-125).
- ❖ **Nathalie, P, (2012).** Le MIEL au secours de la médecine conventionnelle. *Vertus au miel*. (13-17).
- ❖ **Neuchâtel, J, (1996).** BACTÉRIE:*Bacillus cereus*-*Service de la consommation et des affaires vétérinaires*-(01).
- ❖ **Oudjet, k, (2012).** LE MIEL Une Denrée à Promouvoir.*Etudes & Enquêtes*, (1-3).
- ❖ **Rahal, K, (2005).**Standardisation de l'Antibiogramme en Médecine Vétérinaire.3^{ème} édition, OMS, Alger (88).
- ❖ **Richard, D, (2013).** La bible de l'apiculteur. Edition Del chaux et Nestlé, Paris (412).
- ❖ **Roy, R, S, (1979).** Travaux pratiques de microbiologie ,MaloineS.A,Paris (242)

Glossaire

-**Apiculteur** : Personne qui élève les abeilles.

-**Bactéricide** : correspond à une action létale sur les bactéries (**Delarras, 2007**).

- **Bactériostatique** : correspond à un ralentissement de la croissance d'une population bactérienne, pouvant aller jusqu'à l'arrêt de la croissance (**Burnichon, 2003**).

-**Définition de la dilution**: Une dilution consiste à prélever un volume déterminé d'une solution initiale et à y rajouter un volume déterminé d'eau distillée pour obtenir une solution finale de concentration plus faible « solution diluée » (**La chimie, 2012**).

-**la coloration de gram** : C'est une coloration de base de la bactériologie (**Bourdon et Marchal, 1973**).

-**Méthodes d'ensemencement** : ont pour but de porter sur un milieu neuf, liquide ou solide, une culture bactérienne pure ou mélangée (**Roy, 1979**).

-**Nectar** : Liquide sucré produit par les fleurs.

-**Repiquage d'une culture** : est une méthode qui permet de transférer celle-ci d'un milieu appauvri à un milieu neuf afin de conserver la vitalité première de la culture en cause (**Bourdon et Marchal, 1973**).

.

ANNEXES

Annexe 01

**Les normes des composants physico-chimiques (programme) Mixte
FAO/OMS sur les normes alimentaires, 2006.**

Caractéristiques mesurées	Normes
Teneur réel en eau (humidité)	Inf ou égale à 21%
Teneur en sucre totaux	Sup ou égale à 6%
PH	De 3.91 à 4.8
Acidité	Inf ou égale à 50meq/kg
Conductivité électrique	Inf ou égale à 0.8ms/cm

Annexe 02

Composition des milieux de cultures

1/ Le bouillon nutritif (milieu de base; complexe; liquide)

-Extrait de viande	5g
-Bacto-peptone	10g
-Chlorure de sodium	5g
-Eau distillé	1000ml
-PH	7.2-7.4

Stérilisation par autoclavage, 15min à120°C.

2/ La gélose nutritive

-Extrait de viande	5g
-Bacto -peptone	10g
-Chlorure de sodium	5g
-Eau distillé	1000ml
-PH	7.2-7.4
-Agar	20g

Stérilisation par autoclavage, 15min à120°C.

3/ Bouillon Mueller Hinton

-Infusion de viande de bœuf	300g
-Hydrolysat de caséine	17,5g
-Amidon de maïs	1,5g
-Eau distillée	1000ml

Ajuster à pH 7,4 répartir en tubes ou en flacons Autoclave à 120°C pendant 15mn.

4/ Gélose Mueller Hinton

-Infusion de viande de bœuf déshydratée	300g
-Hydrolysat de caséine	17,5g
-Amidon de maïs	1,5g
-Eau distillée	1000ml
-Agar	13g

La gélose MH a servi de milieu de base pour l'étude des antibiotiques.

Annexe 03

Coloration de Gram

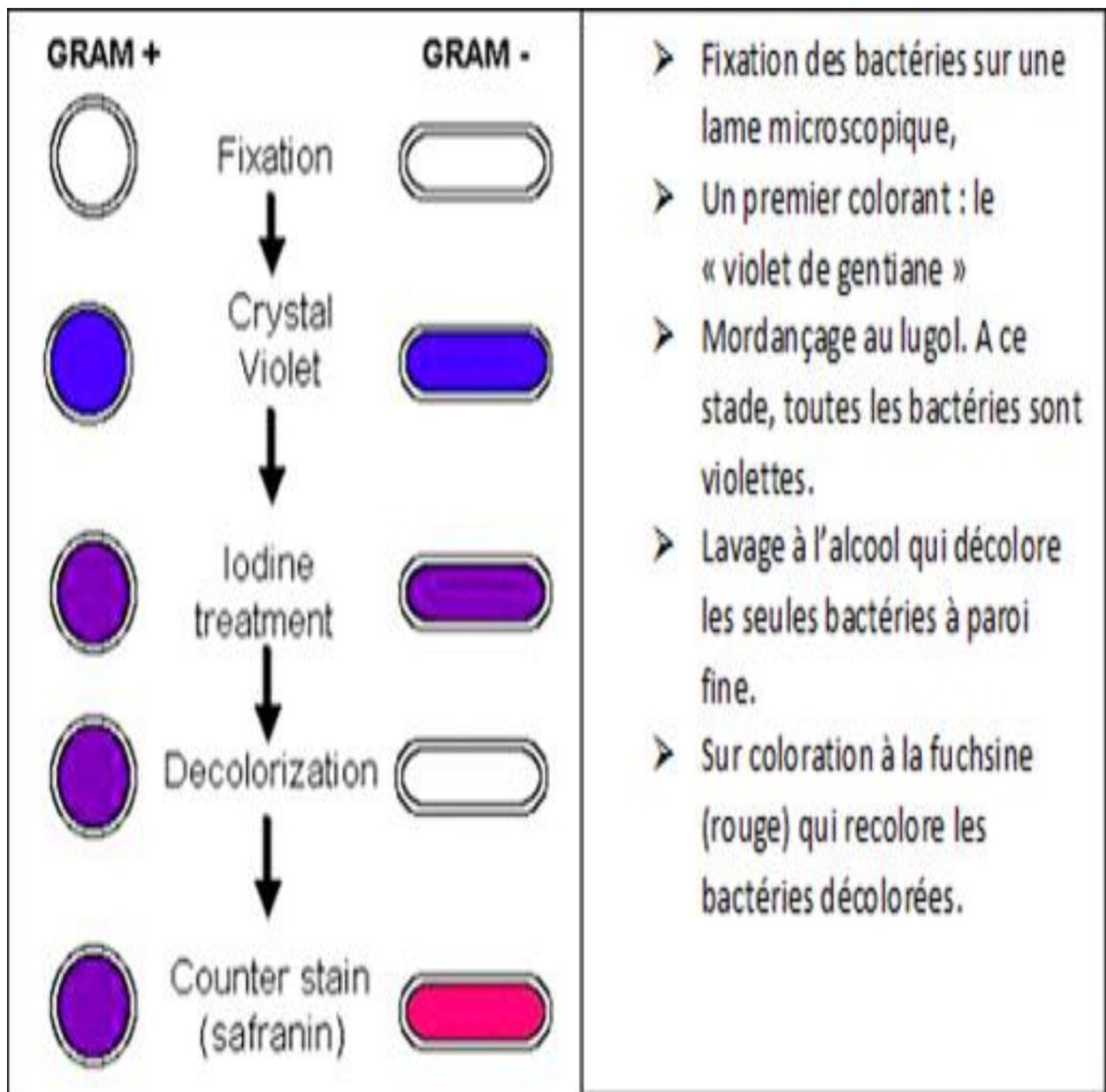
Très ancienne (1883), elle a été découverte d'une manière fortuite par le savant Gram ; puis elle a été appliquée par Roux à l'identification des espèces bactériennes. Elle est ensuite devenue l'une des bases de la classification des bactéries (**Bourdon et Marchal, 1973**).

La coloration de Gram permet de déceler chez les bactéries une différence de composition chimique qui coïncide avec des différences de comportement physiologique absolument fondamentales (**Roy, 1979**).

PRINCIPE

La coloration de Gram est une coloration différentielle : Elle permet de classer les bactéries en deux groupes sur base de la perméabilité de leur paroi à l'Alcool. Cette perméabilité dépend de la composition de la paroi bactérienne « épaisseur de la paroi liée à sa richesse en peptidoglycanes » (**Gillet et al, 2009**).

Le mode opératoire de la coloration de Gram

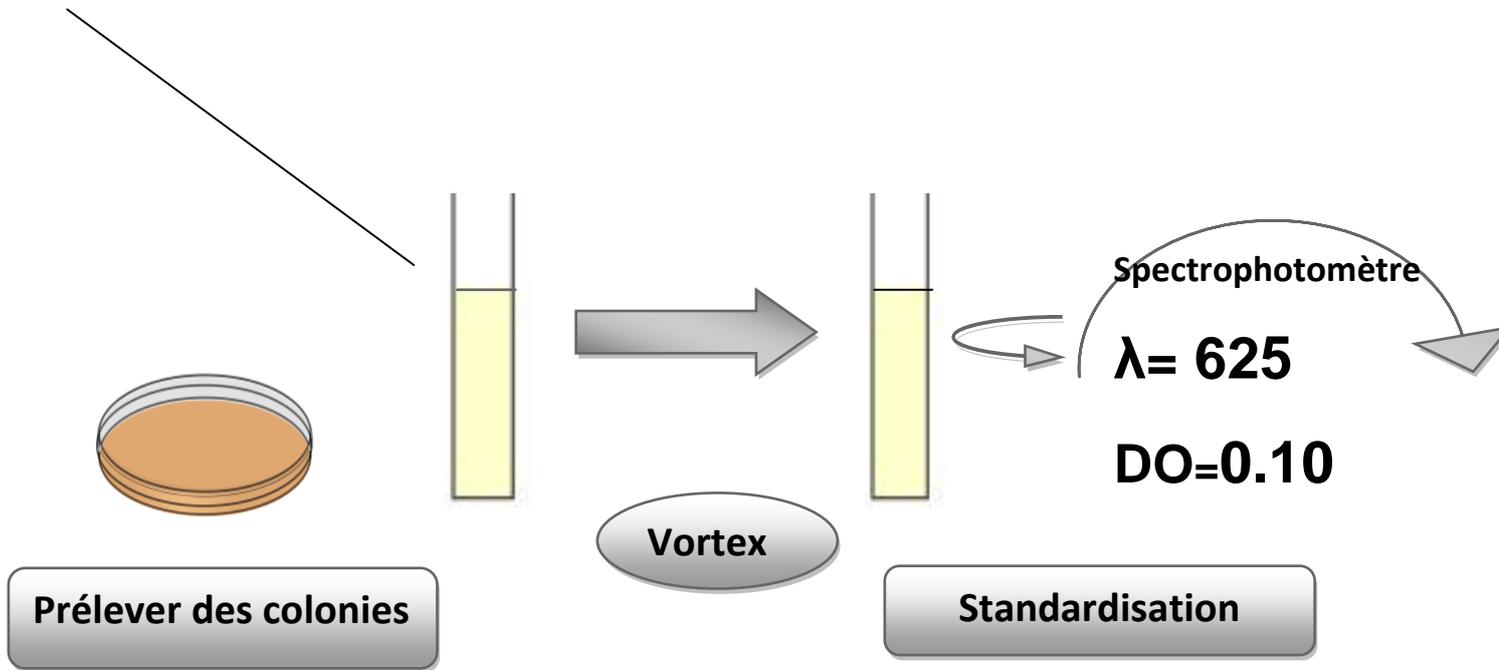


Annexe 04

La pesée de miel

Tube N° 01	Tube N° 02	Tube N° 03	Tube N° 04	Tube N° 05
<p>-Tube vide=22,3g</p> <p>-Tube contenant 4,5ml de miel=28g</p> <p>28-22,3= 5,7g</p>	<p>5,7g → 4,5ml</p> <p>X — 4 ml</p> <p>X=5,06g</p>	<p>5,7g → 4,5ml</p> <p>X — 3,5ml</p> <p>X=4,4g</p>	<p>5,7g → 4,5ml</p> <p>X — 3ml</p> <p>X=3,8g</p>	<p>5,7g → 4,5ml</p> <p>X — 2,5ml</p> <p>X=3,1g</p>

Annexe 05



Standardisation de l'inoculum à 10^7 germes/ml sur l'échelle 0.5Mac farland

Annexe 06

Les calculs des coefficients d'inhibition et de l'activité bactérienne

(%) de la dilution	Les coefficients d'inhibition	L'activité bactérienne
10	$C_I = \frac{1.5}{8.5} \times 100$ $C_I = 17.64\%$	$A_B = 100\% - 17.64\%$ <div style="border: 2px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">$A_B = 82.36\%$</div>
20	$C_I = \frac{0.7}{8.5} \times 100$ $C_I = 8.23\%$	$A_B = 100\% - 8.23\%$ <div style="border: 2px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">$A_B = 91.77\%$</div>
30	$C_I = \frac{0}{8.5} \times 100$ $C_I = 0\%$	$A_B = 100\% - 0\%$ <div style="border: 2px solid black; padding: 5px; display: inline-block;">$A_B = 100\%$</div>

Annexe 07

a. Calculs de la concentration du miel (Dilué dans de l'eau distillée et dans le milieu BMH).

Tube N° 01	Tube N° 02	Tube N° 03	Tube N° 04	Tube N° 05
$5,7\text{g} \longrightarrow 0,5\text{ml}$ $X \longrightarrow 1\text{ml}$ $X=11,4\text{ g/ml}$	$5,06\text{g} \longrightarrow 1\text{ml}$ $X \longrightarrow 1\text{ml}$ $X=5,06\text{g/ml}$	$4,4\text{g} \longrightarrow 1,5\text{ml}$ $X \longrightarrow 1\text{ml}$ $X=2,93\text{g/ml}$	$3,8\text{g} \longrightarrow 2\text{ml}$ $X \longrightarrow 1\text{ml}$ $X=1,9\text{g/ml}$	$3,1\text{g} \longrightarrow 2,5\text{ml}$ $X \longrightarrow 1\text{ml}$ $X=1,24\text{g/ml}$

b. Calculs de la concentration finale du miel

Tube N° 01	Tube N° 02	Tube N° 03	Tube N° 04	Tube N° 05
$\frac{11,4}{10} =$ $1,14\text{g/ml}$	$\frac{5,06}{10} =$ $0,506\text{g/ml}$	$\frac{2,93}{10} =$ $0,293\text{g/ml}$	$\frac{1,9}{10} =$ <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">$0,19\text{g/ml}$</div>	$\frac{1,24}{10} =$ <div style="border: 1px solid black; padding: 2px; display: inline-block;">$0,124\text{g/ml}$</div>

Résumé

Le développement de la résistance chez des bactéries pathogènes responsables d'infection communautaire et d'apparition de bactéries multi-résistantes est un sujet d'inquiétude majeur pour les instances sanitaires. L'essor récent de l'api thérapie offre une opportunité pour trouver des substances bioactives naturelles susceptibles d'exercer des effets bénéfiques sur la santé humaine et animale en évitant les effets secondaires des substances synthétiques parmi les divers produits apicoles, le miel présentant de telles propriétés.

Notre étude visait l'évaluation de l'effet antibactérien du miel dilué sur *Bacillus cereus* par la technique de diffusion sur gélose afin de déterminer les différents paramètres d'inhibition (CMI, C_I , A_B).

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel dilué sur la sensibilité bactérienne.

Mot clé : miel dilué, effet antibactérien, agent pathogène, CMI, *Bacillus cereus*

ملخص

ان تطور المقاومة لدى البكتيريا الممرضة المسؤولة عن الاصابات المشتركة و ظهور بكتيريا متعددة المقاومة هما موضوع مهم للدراسة من اجل الدعم الصحي .التطور الحديث للعلاج باستعمال العسل اعطى فرصة لا يجاد العناصر ذات النشاط الحيوي الطبيعي القادر على التأثير الايجابي على صحة الانسان و الحيوان مع تجنب التأثيرات الجانبية الفعالة .من بين مختلف المواد المتعلقة بتربية النحل (العسل) ذو الخصائص المميزة.

الطريقة المستخدمة في هذه الدراسة مبنية على تقنية الانتشار في الوسط المغذي للعسل المخفف ضد البكتيريا *Bacillus cereus*. وذلك من اجل تحديد عوامل التثبيط (A_B, C_I, CMI)

النتائج المتحصل عليها اظهرت ان للعسل المخفف في وسطين مختلفين الوسط الغذائي و ماء المقطر فعالية معتبره ضد البكتيريا غير ان بالماء المقطر اعطى تأثيرا اكبر من خلال هذه الدراسة يمكننا ان نقول بان تخفيف العسل بالماء المقطر يشكل منهجية للمشكل البكتيري.

الكلمات المفتاحية : العسل المخفف ,تأثير مضاد للجراثيم , مسببات الامراض , *Bacillus cereus* ,