

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية  
République Algérienne Démocratique et Populaire

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 de biologie



## MEMOIRE DE FIN D'ETUDES

*En vue de l'obtention du diplôme de Master académique*

*Domaine : Science de la Nature et de la Vie*

*Filière : Sciences biologiques*

*Spécialité : Toxicologie et sécurité alimentaire*

*Présenté par :*

ABDI Lemya

AMMAR Samira

BENTRAD Ouassila

*Thème*

# ETUDE DE L'EFFET ANTIMICROBIEN DE CERTAINES VARIETES DU MIEL

*Soutenu publiquement le 02/07/2019*

**Jury:**

**Grade**

<b>Président:</b>	Mr SELLES Mohamed	MCB
<b>Encadreur:</b>	Mr BIA Taha	Enseignant vacataire
<b>Co-encadreur:</b>	Mr MAKHLOUFI Omar Amine	Enseignant vacataire
<b>Examineur 1:</b>	M <sup>me</sup> KOUIDRI Moukhtaria	MCA

*Année universitaire 2018/2019*

## *Dédicaces*

*Avant tous je remercie mon Dieu qui m'a donnée la volonté de continuer mes études et faire ce modeste travail.*

*Je le dédie à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée D'amour, que Dieu la garde et la protège.*

*A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin. Comme je dédie aussi ce Travail a tous mes chers frères et mes sœurs.*

*A mes amies : Rebih Houria, Mrabet Bakhta, et a toute ma famille. Et à toutes les personnes qui me connait.*

*A tous la promotion de toxicologie et sécurité alimentaire 2018-2019 et aussi la promotion de microbiologie qui donnée l'aide.*

SAMIRA

# *Dédicaces*

*A ceux qui m'ont appris l'amour d'Allah, l'amour de la vie et l'humanité. Je vous  
dois tout après Allah : Mes chers parents Mohammed et Djamilâ.*

*À mon cher frère Râhouane et son épouse Hanane*

*A ma sœur Hanane et son époux Khalil*

*A mes nièces et mes neveux Insaf, Lina, Walaa, Mohammed et Zeyad*

*A ma sœur Fatiha et S.Djamila et mes frères Idris et Oussama*

*A tous mes amis*

*A les promoteurs BIA Taha et MAKHLOFI Amin*

*A tous les lecteurs.*

*Lemya (Dalal)*

# *Dédicaces*

*Avant tous je remercie mon Dieu qui m'a donnée la volonté de continuer mes études et faire ce modeste travail.*

*Je le dédie à Ma chère maman qui m'a encouragée, et qui m'a entourée d'amour, que Dieu la garde et la protège*

*A mon cher père qui grâce à lui j'ai trouvé mon chemin. Comme je dédie aussi ce Travail a tous mes chers frères et mes sœurs.*

*A mes amies : Yakout, Raounak, Nadjat .Fatima et a toute ma famille. Et à toutes les personnes qui me connait.*

*A tous la promotion de toxicologie et sécurité alimentaire 2018-2019 et aussi la promotion de microbiologie qui donnée l'aide.*

***Ouassila***

# *Remerciements*

*Nous tenons en premier à remercier DIEU le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté, L'amour du savoir et surtout la patience pour pouvoir produire ce modeste travail.*

*Nous tenons à remercier notre promoteur Mr BIA Taha et aussi Co promoteur Mr MAKHLUFI Amine pour leur son aide, leurs orientations judicieux, leurs qualités d'ordre et d'efficacité et pour l'élaboration de ce travail.*

*Nous voudrions remercier le président de jury MELIANI Samia et les examinateurs de notre travail Mr SELLES Mohamed*

*Au personnel de laboratoire de microbiologie appliqué à Mme Kheira et Mme Zahra, et a Tous les gens qui nous ont donnée l'aide de prés et de loin*



# بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ  
﴿١٨﴾ ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا يَخْرُجُ مِنْ  
بُطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ  
يَتَفَكَّرُونَ ﴿١٩﴾

صَدَقَ اللهُ الْعَظِيمُ

# Table de matière

LISTE DES ABREVIATIONS

LISTE DES FIGURES

LISTE DES TABLEAUX

INTRODUCTION .....01

## *Partie bibliographique*

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

I.1. Historique.....	03
I.2. Définition .....	03
I.3. Origine de miel.....	03
I.4 .Différents type de miel .....	04
I.5. Composition de miel .....	04
I.5 .1. Sucres .....	04
I.5.2. Eau.....	05
I.5.3. Protides.....	05
I.5.4. Enzymes .....	05
I.5.5.Acides.....	05
I.5.6.Composés phénoliques.....	06
I.5.7.Vitamines .....	06
I.5.8.Pigments.....	06
I.5.9.Sels minéraux et oligoelements.....	06
I.5.10.Composés aromatiques.....	06
I.6. Miel Algérienne .....	07

### *Chapitre II. Activités antimicrobiennes et mécanismes d'action*

II.1. Activité antibactérienne .....	08
II.2.Activité antifongique .....	08
II.3. Activité antioxydante.....	08
II.4. Mécanisme d'action de l'activité antimicrobienne.....	09
II.4.1. Osmolarité .....	09
II.4.2. pH .....	09
II.4.3. Peroxyde d'hydrogène.....	10
II.4.3. Inhibines non peroxyde .....	10

### *Chapitre III. Généralités sur les souches microbiennes*

III.1. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	11
III.2. <i>Escherichia coli</i> .....	11
III.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	11
III.4. <i>Candida albicans</i> .....	12

## *Partie expérimentale*

### *Chapitre IV. Matériel et méthodes*

IV.1. Lieu et durée de l'étude.....	13
IV.2. Origine des miels.....	13
IV.3. Souches microbiennes .....	14

IV.4. Matériel de laboratoire .....	14
IV.5. Confirmation des souches .....	14
IV.5.1. Repiquage des souches.....	14
IV.5.2. Etude macroscopique .....	15
a. <i>Staphylococcus aureus</i> .....	15
b. <i>Escherichia coli</i> .....	16
c. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	16
d. <i>Candida albicans</i> .....	17
IV.5.3. Etude microscopique .....	17
a. Coloration de Gram .....	17
a.1 <i>Staphylococcus aureus</i> .....	18
a.2. <i>Escherichia coli</i> .....	18
a.3. <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	18
b Coloration Simple de <i>Candida albicans</i> .....	18
c. Test balastèse (ou de filamentation).....	18
IV.5.4. Tests biochimiques de <i>staphylococcus aureus</i> .....	19
IV.5.4.1. Test catalase .....	19
IV.5.4.2. Test de coagulase (libre et liée).....	20
IV.5.4.3. Test de DNase .....	21
IV.6. Evaluation de l'activité antimicrobienne de quatre variétés de miel.....	22
IV.6.1. Méthode d'incorporation sur milieu solide .....	22
IV.6.2. Préparation de l'inoculum bactérien .....	22
IV.6.3. Préparation de l'inoculum fongique.....	22
IV.6.4. Ensemencement.....	22
IV.6.5. Incubation .....	23
IV.6.6. Lecture : .....	23
IV.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI .....	23

## Chapitre V. : Résultats et discussion

V.1. Confirmation des souches .....	24
V.1.1. Tests biochimiques de <i>staphylococcus aureus</i> .....	25
1. Test catalase .....	25
2. Test Cougulase .....	25
3. Test de DNase .....	26
V.1.2. Test balastèse (ou de filamentation .....	27
V.2. Détermination de CMI des miels.....	27
V.2.1. Détermination de CMI pour <i>staphylococcus aureus</i> .....	28
V.2.2. Détermination de CMI pour <i>Escherichia coli</i> .....	28
V.2.3. Détermination de CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
V.2.4. Détermination de CMI pour <i>Candida albicans</i> .....	28
V.3. Discussion .....	30
CONCLUSION. ....	37
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUE	
ANNEXES	
RESUME	

## LISTE DES ABREVIATIONS

---

<b>µm</b>	: Micromètre
<b>ATCC</b>	: American Type Culture Collection
<b>BHIB</b>	: Brain Heart Infusion Bouillon
<b>CMI</b>	: Concentration Minimale Inhibitrice
<b>DO</b>	: Densité Optique
<b>E</b>	: Echantillon
<b><i>E. coli</i></b>	: <i>Escherichia coli</i>
<b>H<sub>2</sub>O<sub>2</sub></b>	: Peroxyde d'hydrogène (Eau oxygénée)
<b>JC</b>	: Jésus- Christ
<b>M</b>	: Miel
<b>ml</b>	: Millilitre
<b>mm</b>	: Millimètre
<b>pH</b>	: Potentiel d'hydrogène
<b><i>S. aureus</i></b>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
<b>SARM</b>	: <i>Staphylococcus aureus</i> résistante à la méthicilline
<b>T</b>	: Température
<b>UFC</b>	: Unité Formant Colonie
<b>V/V</b>	: Volume par Volume

## **LISTE DES FIGURES**

---

<b>Figure 01</b> : Photographie des échantillons de miels étudiés.....	13
<b>Figure 02</b> : Origine géographique du miel .....	13
<b>Figure 03</b> : Milieux de cultures stériles pour le repiquage des souches .....	15
<b>Figure 04</b> : Boîtes de pétri prêtes à l'utilisation pour le repiquage des souches.....	15
<b>Figure05</b> : Test de catalase.....	17
<b>Figure06</b> :Principe de test coagulase libre.....	18
<b>Figure 07</b> : Staphaurex pour test de coagulase liée: Principe de test coagulase libre.....	19
<b>Figure 08</b> : Aspect macroscopique des souches microbiennes testées.....	24
<b>Figure 09</b> : Observation microscopique des souches microbiennes testées après coloration de Gram (A, B, C) et coloration simple (D) (Grossissement x 100) .....	24
<b>Figure 10</b> : Résultat de test catalase pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
<b>Figure 11</b> : Résultat de test de coagulase libre et liée pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	25
<b>Figure 12</b> : Résultat de test de DNase pour <i>Staphylococcus aureus</i> .....	26
<b>Figure 13</b> : Observation microscopique de <i>Candida albicans</i> après test balastèse.....	27

## **LISTE DES TABLEAUX**

---

<b>Tableau 01</b> : Origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de quatre échantillons de miel.....	13
<b>Tableau 02</b> : Matériel consommables .....	14
<b>Tableau 03</b> : Les milieux de cultures et ces propriétés pour le repiquage des souches testée	14
<b>Tableau 04</b> : CMI de quatre souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .....	27
<b>Tableau 05</b> : CMI de deux variétés d' <i>Escherichia coli</i> .....	28
<b>Tableau 06</b> : CMI de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	28
<b>Tableau 07</b> : CMI de <i>Candida albicans</i> .....	28

---

# *Introduction générale*

---

## Introduction générale

---

Aujourd'hui, Les microbes sont devenus résistants à un nombre croissant des traitements chimiques et qui entraînent des infections difficiles à traiter dans le monde (**Roberts et al., 2015**). Face à ce constat, les scientifiques s'intéressent de plus en plus aux produits naturels susceptibles d'agir comme des antibiotiques mais sans créer de résistance (**Alix Lefief-Delcouri, 2014**), et le miel est l'un des plus anciens médicaments traditionnels utilisés (**Manisha Deb et al., 2011**).

Le miel est un produit utilisé depuis l'antiquité comme remède dans de nombreuses cultures et communautés, et est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle (**Farzana et al., 2016; Bogdanov et al., 2008**).

L'importance du miel pour les vivants est largement soulignée dans plusieurs textes classiques grecs comme L'Iliade et L'Odyssée d'Homère, les écrits philosophiques d'Aristote (**Claude Viel et Jean-Christophe Doré, 2003**), plusieurs vertus sont attribuées au miel grâce à leur propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes, [(**Al-Mamary et al., 2002**) (**Lobreau-Callen et al., 2000**)].

La prévention et le traitement de diverses infections dues à une grande variété d'organismes et la promotion de la cicatrisation des plaies chirurgicales sont quelques-uns des domaines dans lesquels le miel fait sa marque. (**Bansal et al., 2005**).

L'activité antimicrobienne du miel est un sujet intéressant et important. En effet, il s'agit du seul produit alimentaire qui, sans traitement technologique, ni addition de conservateur peut être stoker (**Piotr Szveda. 2016**). Le miel contient de nombreux composants qui lui conférant des propriétés multiples (**Fanny Balas, 2015**). Il contient plus de 180 substances, notamment des sucres, principalement du fructose et du glucose (**Nguyen et al., 2019**), et une large gamme de constituants mineurs. (**Khalil et Sulaiman, 2010**).

Les importants composés responsables de l'activité antibactérienne sont les composés phénoliques, les inhibines dites « non peroxydes » telles que des lysozymes et autres substances (**Merah et al., 2010**).

La composition réelle du miel varie en fonction de nombreux facteurs tels que la source de pollen, le climat et les conditions environnementales (**viduda et al., 2008**).

Le miel présente un large spectre de propriété thérapeutique, y compris un antioxydant, antibactérien et antifongique (**Attia et al., 2008**). De plus, ces effets ont été scientifiquement prouvés dans plusieurs études. Ces effets sont principalement dus à la forte osmolarité. Et également des molécules inhibant la croissance bactérienne, telles que le peroxyde d'hydrogène (**Laallam et al., 2015**).

## **Introduction générale**

---

L'objectif général de cette étude est l'évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre échantillons de miel sur trois espèce bactérienne (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, et *Pseudomonas aeruginosa*) et une espèce fongique (*Candida albicans*). par la détermination de la concentration minimale inhibitrice.



*Partie  
bibliographique*

---

***Chapitre I.***  
***Généralités sur le miel***

---

### I.1. Historique du miel

L'utilisation médicale du miel a été reconnue, au moins depuis 2000 ans avant JC, (**Aggad et al., 2014**). Elle a une très longue histoire de consommation humaine- comme le plus ancien édulcorant et aliment diététique. Aussi loin en arrière comme 5500 ans avant JC, le miel a été mentionné dans les écrits d'Égypte, Inde et Chine. L'importance du miel pour l'utilisation humaine est décrite dans plusieurs textes classiques de la Grèce antique, comme l'Iliade d'Homère et l'Odyssée et dans les textes philosophiques de Platon, Aristote, et d'autres. L'utilisation du miel en thérapie est décrite, Au XXème siècle, les russes utilisaient le miel durant la 1ère guerre mondiale (**Bansal et al., 2005**).

### I.2. Définition

Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent et transforment (**Jose et al., 2010**). C'est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories (**Velghe, 2016**).

### I.3. Origine de miel

D'après **Lorichiche (1979)**, le miel peut être soit d'origine florale (nectar des fleurs), soit d'origine animale (sécrétion d'insecte).

- **Nectar**

Le nectar est une substance douce parfumée, forme le principal constituant du miel, provenant d'excroissance granulaire des fleurs (**Caillas, 1974**).

Il peut contenir jusqu'à 80% d'eau, et 18 % à 19% de sucres, on trouve également des traces des acides aminés, des minéraux, des pigments et des vitamines (**Bogdanov, 1995**).

- **Miellat**

Le miellat provient d'une substance rejetée par les insectes piqueurs et suceurs tels les pucerons qui suce la sève des plantes (**Marchenay, 1984**).

### I.4. Différents types de miel

Il existe de nombreuses variétés de miel qui peuvent être classées de façon diverses. Outre l'origine sécrétoire qui permet de distinguer le miel du nectar, du miel de miellat, l'origine botanique qui repose sur l'analyse pollinique permet de distinguer :

- **Miels monofloraux**

Elaborés à partir du nectar et/ou du miellat, provenant d'une seule espèce végétale (**Rossant, 2011**), avec des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques tel que ; le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (**Bogdanov et al., 2004**).

- **Miels polyfloraux**

Appelé aussi miel de toute fleurs, le miel est préparé à partir du nectar et/ou de miellat de plusieurs fleurs différentes (**Makhloufi, 2010**), provenant de plusieurs espèces végétales, dont la valorisation de leurs spécificités et la reconnaissance de leurs caractères dominants, est indiquée selon l'air de production (miel de printemps ou d'été), ou la région de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.) (**Rossant, 2011; Donnadiou, 1982**).

### I.5. Composition de miel

La composition du miel dépend de très nombreux facteurs : espèces végétales butinées, nature du sol, race d'abeilles, état physiologique de la colonie (**Jean-Prost, 2005**), et les conditions environnementales et la compétence de l'apiculture (**Jean prost et Médori, 2005 ; Azeredo et al., 2003**).

Le miel est principalement composé de sucre (monosaccharides), plus précisément d'un mélange de glucose (31%) et de fructose (38 %). Il contient également de l'eau (17%) et environ 6% de disaccharides et divers substance (3,5%) parmi ces diverses substances on trouve des minéraux, des protéines, des acides aminé, des enzymes et des vitamines (**Jeremy, 2012**).

#### I.5.1. Sucres

Les sucres sont présents dans le miel avec une grande quantité environ 78 à 80% la majorité sont des sucres simples (**Delphine, 2010**), chaque miel est susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres, ce sont des mono, di, tri ou polysaccharides représentent 80% de poids totale de miel (**Gleiter et al., 2006**).

D'autres sucres sont présentes dans le miel tels que le maltose 7,2% le saccharose 1,5% et quelques oligosaccharides 4,2% (**Shin et Ustinol, 2005**).

### I.5.2. Eau

La teneur en eau est l'une des caractéristiques les plus importantes, elle peut déterminer la qualité et la conservation du miel (**Terrab et al., 2002**). En générale la teneur en eau se situe dans la plus part des cas entre 15-20g/100g de miel, sauf quelques cas exceptionnelles. Un excès d'eau augmente le risque de fermentation, seuls les miels avec une teneur en eau inférieure à 17% sont stables lors de la conservation et ne se fermentent pas (**Bogdanov et al., 2006 ; Bogdanov et al., 2004**).

### I.5.3. Protides

Les protides du miel sont soit des protéines ou acides aminés libres, les teneurs en protéines des miels sont présentes qu'en très petite quantité (0,2 à 0,6%) qui proviennent du nectar et/ou du miellat, du pollen et des sécrétions de l'abeille ouvrière (**Lequet, 2010**).

Parmi ces protéines albumines, globulines (**Domerego et al., 2009**). Il y a également des traces d'acides aminés comme la proline, la trypsine, l'histidine, l'alanine, la glycine, la méthionine, etc. La proline est le plus abondant des acides aminés du miel (**Meda et al., 2005**). Le miel contient également une protéine d'intérêt médical, la defensin1 (**Kwakman et al., 2010**).

### I.5.4. Enzymes

Le miel contient plusieurs enzymes qui peuvent provenir soit de la salive de l'abeille ou du pollen du nectar (**Hammoudi et Boudershem, 2009**). Les enzymes qui sont apportées par la salive, invertase, amylase, et le glucose oxydase (**Domerego et al., 2009 ; Donadieu, 2006**), les enzymes qui sont apportées par le nectar : catalase et phosphatase. L'invertase et l'amylase sont importantes pour l'appréciation du miel (**Serrano et al., 2007**).

### I.5.5. Acides

D'après **Lequet (2010)**, le miel contient des acides organiques, leur provenance est diverse : certains sont issus du nectar directement et d'autres sont résultant à partir de la réaction enzymatique et de fermentation, les acides identifiés dans le miel sont: l'acide gluconique, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide

pro glutamique, l'acide malique et l'acide gluconique qu'est l'acide majoritaire et provient de la dégradation de glucose (**Rossant, 2011**).

### **I.5.6. Composés phénoliques**

Les composés phénoliques sont des métabolites secondaires dont les principales sources sont les sécrétions végétales. Parmi les composés identifiés dans le miel : les acides phénoliques et les flavonoïdes qui sont responsables de l'activité antioxydant du miel (**Nair, 2014**).

### **I.5.7. Lipides**

Le miel est pauvre en lipides, on y retrouve principalement les acides palmitiques et oléiques, ainsi que de très faibles quantités d'acides laurique (**Cernak et al., 2001 ; Irlande, 2015 ; Schweitzer, 2015**). Les autres lipides présents sont les triglycérides et les acides gras libres (**Gharbi, 2011**).

### **I.5.8. Vitamines**

Sa concentration en vitamine est également pauvre, il s'agit essentiellement du groupe B, cependant, il est possible d'y trouver de la vitamine C (**Couquet et al., 2013**). Les vitamines sont majoritairement apportées via les grains de pollen (**Domerego et al., 2009**).

### **I.5.9. Pigments**

D'après **El-Hady et Hegazi (2001)**, les pigments qui se trouvent dans le miel sont les Caroténoïdes et Flavonoïdes avec un faible pourcentage (0,006%).

### **I.5.10. Sels minéraux et oligoéléments**

Le miel apporte de nombreux minéraux (potassium et calcium) leurs concentrations sont variables selon les origines florales, géographiques, et saisonnières. On y trouve également des oligo-éléments comme : le cuivre, le zinc et du manganèse (**Ioiriche, 1979**). Plus le miel est foncé plus il est riche en minéraux (**Huchet et al., 1996**).

### **I.5.11. Composés aromatiques**

Le miel contient de nombreuses substances, à l'état de traces, c'est le cas des constituants qui sont à l'origine de l'arôme du miel (**Bousetta et al., 1992**). L'arôme est un facteur de qualité important dans les produits alimentaires (**Cuevas et al., 2007**). L'arôme de

miel est donné soit par l'acide phénylacétique, qu'il est présent dans tous les miels, ceux qui donnent le goût caractéristique de ces derniers ; soit par une auxine présente dans la sève de certains arbres, et elle est transférée au miel à travers le miellat (**Guerzou et Nadjj, 2002**).

### **I.6. Miel algérien**

L'Algérie importe de grandes quantités de miel de différents pays tels que : l'Arabie saoudite, la Chine ou encore l'Inde, le miel algérien répond aux normes internationales, car il est naturel n'ayant subi aucun traitement technologique qui pourrait nuire à sa qualité.

La production locale est très faible malgré la grande potentialité mellifère dont dispose ce pays (**Oudjet, 2012**).

---

***Chapitre II.***  
***Activités antimicrobiennes***  
***Et mécanismes d'action.***

---

### II.1. Activité antibactérienne

Activité antibactérienne : ce n'est qu'en 1892 que l'activité antibactérienne du miel est pour la première fois reconnue, et ce, par le scientifique allemand Van Ketel. (**Zbucnea, 2014**). Il a été rapporté que le miel avait un effet inhibiteur sur environ 60 espèces de bactéries, notamment les aérobies et les anaérobies, (**Tahereh et al., 2013**). Plus récemment, une étude malaisienne, sur des souches bactériennes multi résistantes, a mis en évidence l'efficacité *in vitro* du miel de manuka et du miel de tualang sur une souche de *Stenotrophomonas maltophilia*, (**Irlande, 2015 ; Tan et al., 2009**). Le miel de manuka est également capable d'inhiber la croissance de *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) (**Jenkins et al., 2011**). Le miel est également capable d'inhiber la croissance d'*Helicobacter pylori* (**Ali et al., 1991**), (**Al Somal et al., 1994**), (**Osato et al., 1999**). Il inhibe aussi celle des *colibacilles* et des *salmonelles* (**Cheorun et al., 2005**) ; (**Haffejee et Moosa, 1985**). Le miel est également efficace pour tuer des bactéries résistantes telles que *Pseudomonas aeruginosa* (**Nor Hayati, 2012**).

### II.2. Activité antifongique

Activité antifongique : le miel a été rapporté comme ayant des effets inhibiteurs sur les champignons. Le miel pur inhibe la croissance des champignons et le miel dilué apparaît capable d'inhiber la production de toxines, une action antifongique a également été observée pour une levure et espèces d'*Aspergillus*, *Penicillium* et *candida albicans* qui cause la Candidose (**Musulman, 2012**). Une solution de miel comparée à une solution isotonique de saccharose inhibe complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus parasiticus* et *Candida albicans* (**Clémence, 2005**). Une autre publication scientifique rapporte que le miel a une efficacité comparable aux antifongiques classiques sur des candidoses vaginales provoquées par *Candida albicans* (**Clémence, 2005 ; Obaseiki et al., 1984**).

### II.3. Activité antioxydante

Activité antioxydant : lorsqu'il y a un déficit d'antioxydants dans l'organisme au profit d'un excès de radicaux libres, il se produit des dommages oxydatifs sur l'ensemble des organismes (**Beretta et al., 2005**). Le miel présente une forte activité antioxydant, cette capacité antioxydant du miel contribue à la prévention de plusieurs troubles aigus et chroniques tels que les maladies inflammatoires, allergiques, diabétiques, cardiovasculaires, et autres (**Sarfraz et al., 2018**). L'activité antioxydant du miel varie considérablement selon

la source florale et l'origine botanique du miel (**Jasna et al., 2007**). Des recherches démontrées que les composants dans le miel responsables de son effet antioxydant sont les flavonoïdes, acides phénoliques, acides ferrénique, la catalase, la peroxydase et les caroténoïdes (**Rabiul et al., 2017 ; Jose et al., 2010**).

L'augmentation du composé phénolique dans le miel fournit une propriété antioxydant (**Sultan et al., 2016**). D'autre étude ont montré que les miel plus foncés sont très riche en antioxydants que les autres miels clairs (**Bihan, 2016 ; Ajibola et al., 2012**). Les phénols, déjà présentés pour leurs propriétés bactéricides, protègent ces lipoprotéines des éventuels dommages oxydatifs causés par un surplus de radicaux libres (**Gheldof et al., 2003**).

### II.4. Mécanismes d'action de l'activité antimicrobienne

L'activité antimicrobienne dans la plupart de miel est due à la peroxyde d'hydrogène et d'autres composées phytochimique (**French et al., 2005**), et d'autre scientifiques ont montré que les propriétés bactéricides et bactériostatiques du miel reposent sur quatre facteurs : l'effet osmotique, le peroxyde d'hydrogène, les facteurs non peroxydes et l'acidité (**Olaitan et al., 2007 ; Assie et Descottes, 2004**).

#### II.4.1. Osmolarité

Le miel naturel contient une pression osmotique élevée, ce qui augmente la résistance à la détérioration par les microorganismes (**Mohamed et al., 2002**). L'osmolarité élevée de miel est influencé par la forte concentration en sucres et la faible teneur en eau. La forte interaction entre les molécules de sucre et d'eau laisse donc peu des molécules d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes (**Molan, 2001 ; Molan, 1992**). Grâce à l'action des sucres simples sur l'eau contenue dans les bactéries, et provoque la lyse de la membrane bactérienne, une inhibition de la croissance et la mort du micro-organisme (**Assie et Descottes, 2004**).

#### II.4.2. pH

L'acidité du miel (avec un pH compris entre 3,2 et 4,5) inhibe la croissance des micro-organismes, car le pH optimal pour la majorité de ces organismes se situe entre 7,2 et 7,4 (**Balas, 2015 ; Vandamme et al., 2013**). Cette acidité est due essentiellement à la présence des acides organiques, (**Ouchemoukh et al., 2007**). La variation de l'acidité dans le

miel peut être attribuée à l'origine florale ou à des variations en raison de la saison de la récolte (**Piazza et al., 1991**).

### II.4.3. Peroxyde d'hydrogène

L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène (**Brudzynski, 2006**). Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel (**Bogdanov et Pascale 2001 ; Adcock 1962**), Il résulte de l'oxydation du glucose par l'enzyme glucose oxydase, le glucose oxydase provient des glandes hypopharyngées des abeilles (**Jose miguel et al., 2009**), le principale acide dérivé de glucose sous forme d'acide gluconique, sa formation s'accompagne de dégagement d'eau oxygénée (**Gomes et al., 2010 ; Bagdanov et al 2004 ; Louveaux, 1968**).

### II.4.3. Inhibines non peroxyde

Le concept « inhibines » a été introduit par **Dold** en **1937** pour décrire les agents antimicrobiens (**Theunissen et al., 2001**), les principaux composants ayant une activité non peroxyde sont la pinocembrine, les lysozymes, et d'autres nombreux composants chimiques comme les terpènes (**Balas, 2015**), et également les phénols et flavonoïdes (**Cushinie et al., 2005**). Le rôle des inhibines non peroxyde est très importants, car elles sont insensibles à la chaleur, à la lumière et à la durée de stockage (**Bogdanov et Blumer, 2001**).

---

***Chapitre III.***  
***Généralités sur les souches  
microbiennes.***

---

### **III.1. *Staphylococcus aureus***

*S. aureus* est responsable de nombreux types d'infections chez l'homme, il est le plus souvent impliqué dans les infections nosocomiales et communautaires (**Mesaros et al., 2007**), dans les infections cutanées (plaies), et les intoxications alimentaires (**Michael, 2011**). Les *S.aureus* sont des cocci à Gram positive d'environ 1 µm de diamètre, se disposant en amas ou grappes, ils sont immobiles, avec un optimum thermique à 37 °C et à un pH compris entre 7,4 et 7,6. Ils se distinguent de la majorité des autres *staphylocoques* par la production d'une coagulase et d'un pigment doré (**Pascale, 2013**). Ce sont des bactéries aéro-anaérobies, cultivant facilement en 24 heures sur milieu ordinaire ou en milieu sélectif (Chapman).

### **III.2. *Escherichia coli***

C'est un bacille à Gram négatif, mesurant seulement environ 1 µm de long par 0,35 µm de large, il s'agit d'un aérobie facultatif, mais qu'il ne peut pas se développer à des températures ou pH extrêmes, il fait partie des *Enterobacteriaceae* et est étroitement apparenté à des agents pathogènes tels que *Salmonella* (**Zachary, 2015**). hôtes de l'intestin de l'homme et des animaux et très abondants dans les matières fécales. Ils sont responsables d'intoxications, d'infections spontanées des voies urinaires, de gastro-entérites et d'infections nosocomiales (**Schultsz et Geerlings, 2012 ; Gyles et Fairbrother, 2010 ; Weese, 2008 ; landrois, 1997**). La virulence d'*E.coli* est associée à la présence de toxines appelées shigatoxines (**Patrica, 2013**), et fermenteur des sucres, produisant du gaz en glucose, réduisant les nitrates en nitrites, catalase positif et oxydase négatif (**Francis, 2005**).

### **III.3. *Pseudomonas aeruginosa***

Ce sont des bacilles Gram négatif, responsables d'infections nosocomiales de plus en plus graves et fréquentes (**Westman et al., 2010 ; Strateva et Yordanov, 2009 ; Vandelden et Iglewski, 1998**). Bactéries Aérobie stricts ne fermentant pas les glucides leurs virulence est marqué par la Sécrétion de substances diverses: Protéases Hémolysines Phospholipase cytotoxine, exotoxine, entérotoxine (**Duacai, 2009**).

#### III.4. *Candida albicans*

*Candida albicans* est une levure microscopique unicellulaire (**Hawksworth et al., 1991**), commensale de la cavité buccale et du tractus digestif (**Bertrand, 2007**). Ce sont des levures qui provoquent des infections fongiques (candidoses) (**Irish et al., 2006 ; Delorme et Robert, 1997**). *Candida albicans* est un endosaprophyte du tube digestif et des muqueuses génitales, mais il peut passer de l'état saprophyte à un état parasitaire pathogène sous l'influence de divers facteurs favorisant, les facteurs de virulence de *C.albicans* sont multiples, comprennent les adhésines et la sécrétion de phospholipases (**Cotter et Kavanagh, 2000**).



# *Partie*

# *Expérimentale*

---

***Chapitre IV.***  
***Matériel et méthodes.***

---

### IV.1. Lieu et durée de l'étude

Les expériences ont été déroulées au niveau de laboratoire de microbiologie à l'université Ibn Khaldoun de Tiaret durant une période de deux mois (17 Février 2019 au 25 Avril 2019).

### IV.2. Origine des miels

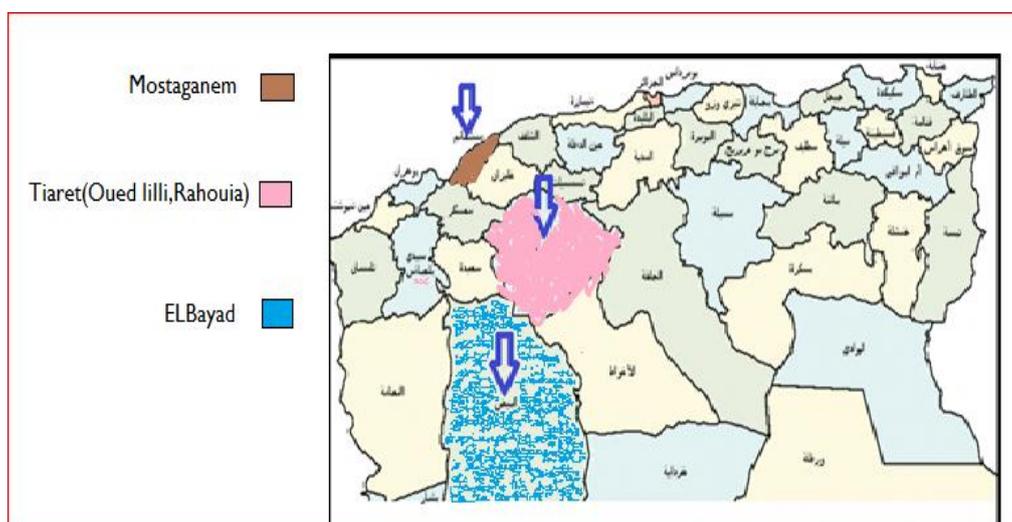
Les échantillons de miel proviennent de différentes origines géographiques, cela est illustré dans le **tableau 01**, **figure 01** et **02**.

**Tableau 01** : Origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de quatre échantillons de miel.

Nom Scientifique	Origine géographique	Origine florale Nom commun scientifique	Date de récolte	La couleur
M1 .Euphorbe	El-Bayad	lebina	Fin de juillet 2018	Ambrée foncé
M2. Eucalyptus	Mostaganem (Safsaf)	Arbre de calyptus	Fin de juillet 2018	Marron foncé
M3. Multi floral	Tiaret (Oued Lilli)	Sbgag	Fin de juillet 2018	Marron foncé
M4 .carotte sauvage	Tiaret (Rahouia)	Safaria	Fin de juillet 2018	Marron et doux



**Figure 01** : Photographie des échantillons de miel étudié



**Figure 02** : Origine géographique du miel

### IV.3. Souches microbiennes

#### Souches bactériennes

Ce sont des souches à majorité pathogènes pour l'homme, souvent multi-résistantes aux antibiotiques, responsables de plusieurs types d'infections.

- *Staphylococcus aureus* (une souche référence ATCC 25923, une souche isolée à partir d'un aliment, une souche isolée d'une mammite bovine et une souche isolée d'un prélèvement vaginal humaine).
- *Pseudomonas aeruginosa* (isolat clinique vétérinaire).
- *Escherichia coli* (isolat clinique aviaire et une souche de référence).

#### Souche fongique

- *Candida albicans* (isolat clinique humain).

### IV.4. Matériels de laboratoire

**Tableau 02:** Matériels consommables

Appareils	Autres matériels Consommables	Milieux de culture	Réactifs, produit et colorants
Balance analytique (Sartorius) Incubateur (Mettler) Spectrophotomètre (pharmacia Biotech) Bain marie (Mettler) Bec bunsen Micropipette Agitateur Stuart Vortex (Kartelle) Autoclave (WOLF) Etuve 37°C Microscope (Optika) Réfrigérateur	Boîtes de pétrie en plastique 90ml Ecouvillons Seringues de 5 ml et 10 ml Tubes à essai en verre Flacons en verre de 200 ml pour le stockage des milieux de culture Pipette de pasteur Lames et la male Anse d'ensemencement	Gélose nutritive Gélose sabouraud Gélose Hektoen Gélose Macconkey Gélose Chapman Gélose cétrimide Gélose à ADN	Eau physiologique Eau distillée stérile Sérum humain Plasma de lapin /humain Alcools Fushine Bleu de Mytilène Lugol HCL dilué Huile d'émersion

### IV.5. Confirmation des souches

#### IV.5.1. Repiquage des souches

**Tableau 03.** Milieux de culture et ces Propriétés pour le Repiquage des souches

Souches microbiennes	Les milieux de culture	Propriétés
<i>Staphylococcus aureus</i>	Milieu Chapman	le milieu Chapman, caractérisé par sa forte teneur en NaCl et qui inhibe les bactéries Gram-.
<i>Escherichia coli</i>	Milieu Hektéon ou Mac Conkey	Le milieu Hektoen qui inhibe la croissance de la flore Gram+. Mac Conkey est un Milieu sélectif pour l'isolement des bacilles Gram-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Milieu Gélose au cétrimide	Ce milieu favorise le développement des <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>Candida albicans</i>	Milieu Sabouroud	La gélose de Sabouraud constitue un milieu classique pour la culture, l'isolement et l'identification des levures et des moisissures



**Figure 03** : Milieux de cultures stériles pour le repiquage des souches(photo personnelle)



**Figure 04** : Boîtes de pétri près à l'utilisation pour le repiquage des souches (photo personnelle)

*A- Staphylococcus aureus*

**IV.5.2. Etude macroscopique**

*a. Staphylococcus aureus* fermente le mannitol (virage de l'indicateur de couleur) Les colonies sont entourées d'une auréole jaune.

*b. Escherichia coli*

Les colonies d'*E.coli* apparaissent en rouges entourées d'un halo opaque.

*c. Pseudomonas aeruginosa*

L'observation macroscopique de culture de *Pseudomonas aeruginosa* sur une gélose au Cétrimide, a permis l'observation de colonies bactériennes de grande taille, avec un aspect bombé au centre, présentant un reflet métallique au contour irrégulier (colonies larges), et doté d'une pigmentation verte. Les colonies apparaissent verdâtres.

*d. Candida albicans*

D'après l'observation on peut voir des colonies qui sont de grandes tailles, rondes, de couleur blanche ou crème (albicans signifie « blanchâtre »).

**IV.5.3. Etude microscopique**

**a. Coloration de Gram**

- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme
- Verser le violet de gentiane sur la lame ; laisser en contact 1 minute
- laver à l'eau courante et finir de la chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 1 min puis laver avec de l'eau courante
- faire couler de l'alcool sur la préparation pendant 10secondes ; rincer immédiatement à l'eau courante
- Recouvrir la préparation de Fushine, laisser agir environ 1min. Lavez abondamment
- Assécher la lame à l'aide de papier buvard
- et finalement passé à l'observation microscopique ( $\times 100$ ) après avoir déposé une goutte d'huile d'immersion; les bactéries à Gram positif (coloration violet), les bactéries Gram négatif (coloration rose)

Dans notre cas, on observe des coques à gram + en grappe de raisin

**a.1. *Staphylococcus aureus***

Après une coloration de gram : L'examen microscopique a permis l'observation de cocci violette, à Gram positive.

**a.2. *Escherechia coli***

L'examen microscopique après coloration de Gram des colonies bactériennes de *E.coli* a permis l'observation des bacilles roses, à Gram négatif, regroupés en deux ou bien en courtes chainettes.

**a.3. *Pseudomonas aeruginosa***

L'examen microscopique après coloration de Gram des colonies bactériennes de *Pseudomonas aeruginosa* a permis l'observation des bacilles roses, à Gram négatif, regroupés en deux ou bien en courtes chainettes.

**b. Coloration simple de *Candida albicans***

Après une coloration au bleu de méthylène et après une observation microscopique *Candida albicans* apparaît sous forme de petites cellules ovoïdes.

**c. Test balastèse (ou de filamentation) de *Candida albicans***

Ce test permet l'identification de l'espèce *Candida albicans* en moins de 4 heures. Décrit par Taschdjian en 1960 et inspiré des travaux de Reynolds et Braune qui avaient montré en 1956 que les constituants du sang favorisaient la formation de filaments par certaines levures.

**Principe de test**

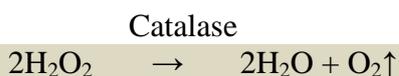
- Mettre 0.5ml de sérum humain dans un tube à essai ;
- Prélever une ou deux colonies de la culture suspecte à l'aide d'une anse stérile et faire une suspension dans le sérum humain ;
- Incuber 2-3 heures à 35 – 37°C ;
- placer une goutte de suspension sur une lame, recouvrir avec une lamelle et observer au microscope optique au grossissement 40X, si le teste est positif (présence des pseudo- hyphes sans constriction), il s'agit de *C. albicans*.

**IV.5.4. Les tests biochimique de *staphylococcus aureus***

**IV.5.4.1. Test de catalase**

Ce test permet de mettre en évidence si la bactérie possède l'enzyme de la catalase. Cette enzyme est capable de dégrader le peroxyde d'hydrogène (eau oxygénée) qui est toxique pour les cellules, avec un dégagement de dioxygène.

Lorsque l'on met en présence des colonies dans l'eau oxygénée, on peut voir l'apparition de bulles. Il y a donc un dégagement de dioxygène, la bactérie possède l'enzyme de la catalase, elle est donc catalase<sup>+</sup>





**Figure 05 :** Test de catalase (photo personnelle)

#### IV.5.4.2. Test de coagulase (libre et liée)

*Staphylococcus aureus* produit deux formes de coagulase : liée et libre

##### **Coagulase libre**

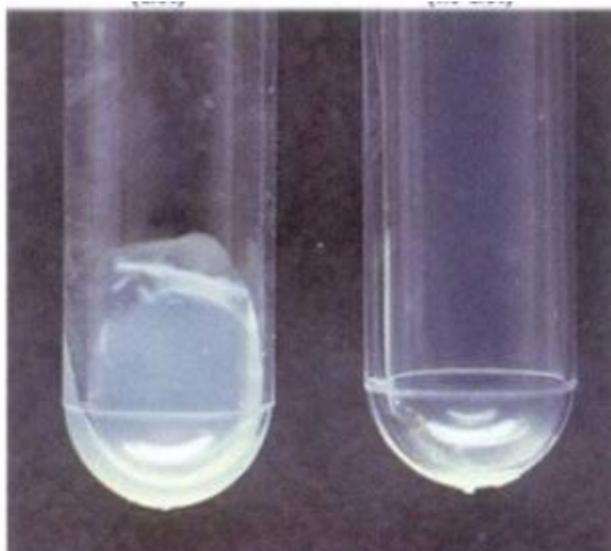
La coagulase libre, ou staphylocoagulase est une enzyme extracellulaire thermostable exprimée pendant la phase exponentielle de la croissance bactérienne d'origine chromosomique elle est capable de coaguler le plasma humain ou de lapin, elle induit la formation d'anticorps capable d'empêcher son action biologique, elle forme un complexe nommé staphylothrombine qui convertit le fibrinogène en fibrine, cette réaction entraîne la coagulation locale du plasma (**Garnier et al., 2006**).

##### **Principe**

- Prélever une colonie bien isolée et caractéristique et l'ensemencer dans un tube de bouillon cœur-cervelle (BHIB) ;
- Incuber à 37°C, pendant 24h ;
- Ajouté 0,5 ml de chaque culture à 0,5 ml du plasma de lapin dans des tubes stérile et incuber à 37°C ;
- En inclinant le tube, examiner la coagulation du plasma après 4h à 6h d'incubation et si le test est négative il faut le réexaminer après 24h ;
- La formation d'un caillot indique la production de coagulase. L'essai en tube est la méthode la plus fréquemment utilisée en raison de sa précision.

Positive (caillot)

Négative (absence de caillot)



**Figure 06:** Principe de test coagulase libre (photo personnelle)

### **Coagulase liée (clumping factor)**

Le clumping factor est un constituant de la paroi bactérienne, c'est une protéine très riche en lysine, elle est présente chez presque toutes les souches d'origine humaine est moins fréquente chez les souches d'origine animale, Elle intervient également dans la pathogénicité des Staphylocoques (**Lyon et Skurrey, 1987**).

### **Techniques**

Déposer sur une lame parfaitement propre ou sur une carte à usage unique :

- 1 goutte de réactif test constitué de particules sensibilisées: latex (ou hématies) ;
- 1 goutte de réactif humain constitué des mêmes particules non sensibilisées ;
- Prélever à l'anse I à 2 colonies à identifier, les mettre soigneusement en suspension ; dans chacune des 2 gouttes ;
- Agiter par un mouvement lent de rotation ;
- Vérifier l'absence d'agglutination avec le réactif témoin ;
- Observer l'apparition d'une agglutination massive des particules en moins de 30 secondes.



**Figure 07:** Staphaurex pour test de coagulase liée.

(Photo personnelle)

#### IV.5.4.3. Test de DNase

Certaines bactéries sont capables d'hydrolyser l'ADN (Acide Désoxyribonucléique) grâce à une enzyme : l'ADNase, ce test permet d'identifier les *staphylocoques* potentiellement pathogènes.

##### Principe de test

Dans une boîte de Pétri couler le milieu ADNase (est un milieu standard pour la détermination de la désoxyribonucléase) à l'aide d'une anse de platine on ensemence le milieu par un strie unique avec 2 à 3 colonies de *Staphylococcus aureus*. Il est possible d'ensemencer jusqu'à quatre types de microorganismes sur une même boîte de Pétri ;

Incuber la boîte de Pétri pendant 18 à 24 h entre 35 et 37°C. , Une fois le milieu incubé avec les souches à tester, la boîte de Pétri est recouverte d'acide chlorhydrique (HCl) diluée. (0,9) Attendre 1 min afin de permettre à l'acide de pénétrer dans toute la surface du milieu ;

Les microorganismes qui dégradent l'ADN produisent une zone claire autour de la zone de croissance.

#### IV.6. Evaluation de l'activité antibactérienne de quatre variétés de miel

Les méthodes d'évaluations de l'activité antimicrobienne *in vitro* des miels sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur. Nous avons déterminé l'effet

antibactérien et antifongique des miels par la détermination de la concentration minimale inhibitrice par la méthode d'incorporation sur milieu solide.

### IV.6.1. Méthode d'incorporation sur milieu solide

Cette méthode consiste à incorporer des volumes croissants du miel à chaque milieu de culture dans des conditions d'asepsie, la quantité du miel testé est mis dans un bain-marie réglé à 40°C pour éviter la destruction des enzymes, et le milieu de culture doit être liquéfié et refroidi, le mélange (miel +milieu de culture) est mis dans un tube à essai avec des Seringues stérile.

À l'aide d'un vortex on homogénéise le contenu, ensuite on doit couler les mélanges dans des boite de pétri stériles.

### IV.6.2. Préparation de l'inoculum bactérienne

Pour préparer l'inoculum, on racle 4 à 5 colonies bien isolées et parfaitement identiques à partir d'une culture de 18h sur le milieu d'isolement, puis on décharge les colonies dans de l'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex et sa turbidité est ajustée à 0,5 Mc Farland.

### IV.6.3. Préparation de l'inoculum fongique

La même procédure pour préparer l'inoculum de *Candida albicans* mais la différence se réside dans la Turbidité de la suspension, pour *Candida albicans* la turbidité de la suspension est ajusté à (1,5- 2 MF).

### IV.6.4. Ensemencement

Dans une zone stérile et au près de bec bunsen à l'aide d'un écouvillon on le trompe dans la suspension bactérienne ou fongique puis on le frotte sur la totalité de la surface gélosée qui contient le mélange (miel + milieu de culture).

Il faut débiter l'étalement par la boite témoin ensuite de la plus petite concentration vers la plus grande concentration.

Dans le cas ou l'on ensemence plusieurs boites de pétries il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.

### IV.6.5. Incubation

Les boîtes de pétris sont fermés après chaque opération puis renversées et mise en incubation dans un étuve à 37°C pendant 24 pour les souches bactérienne et pendant 48 heures pour *candida albicans*

### IV.6.6. Lecture :

A la fin d'incubation, on note s'il la croissance bactérienne et fongique ou absence des colonies

### IV.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

L'activité antimicrobienne est évaluée en déterminant la concentration minimale inhibitrice, la CMI est par définition est la plus petite concentration qui inhibe le développement visible à l'œil nu des microorganismes, Les résultats des CMI obtenus pour les souches testés (bactériennes et fongiques) sont résumés dans des tableaux et illustrées dans des figures.

---

*Chapitre V.*

*Résultats et discussion.*

---

V.1. Confirmation de souches microbiennes

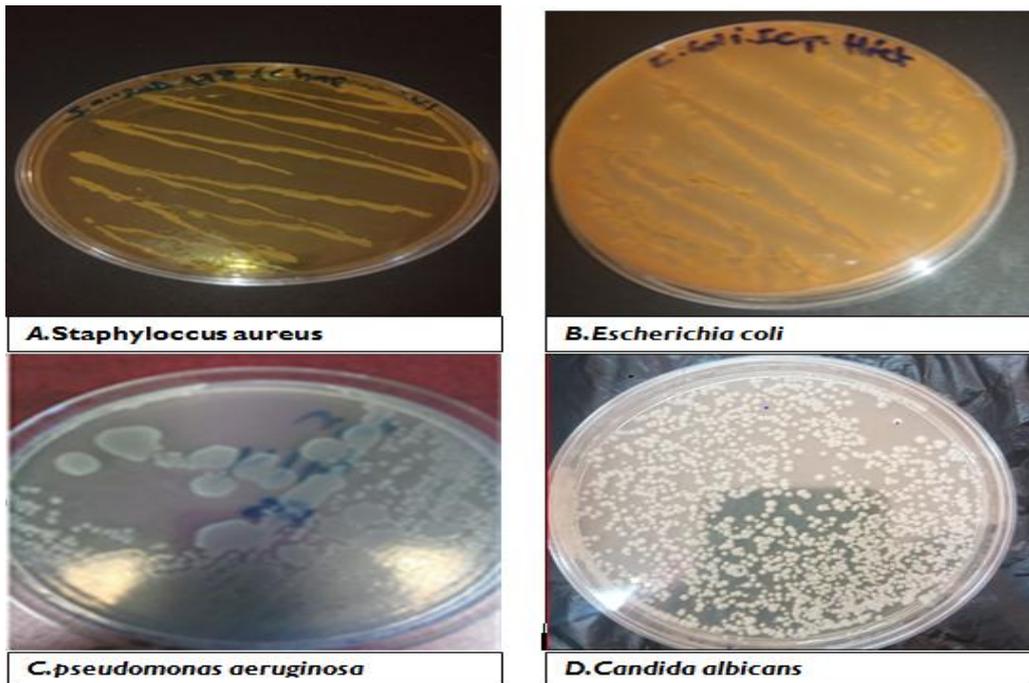


Figure 08 : Aspect macroscopique des souches microbiennes testées. (photo personnelle)

Les résultats de l'observation microscopique des souches microbiennes testées dans cette étude sont illustrés dans la **figure 09**

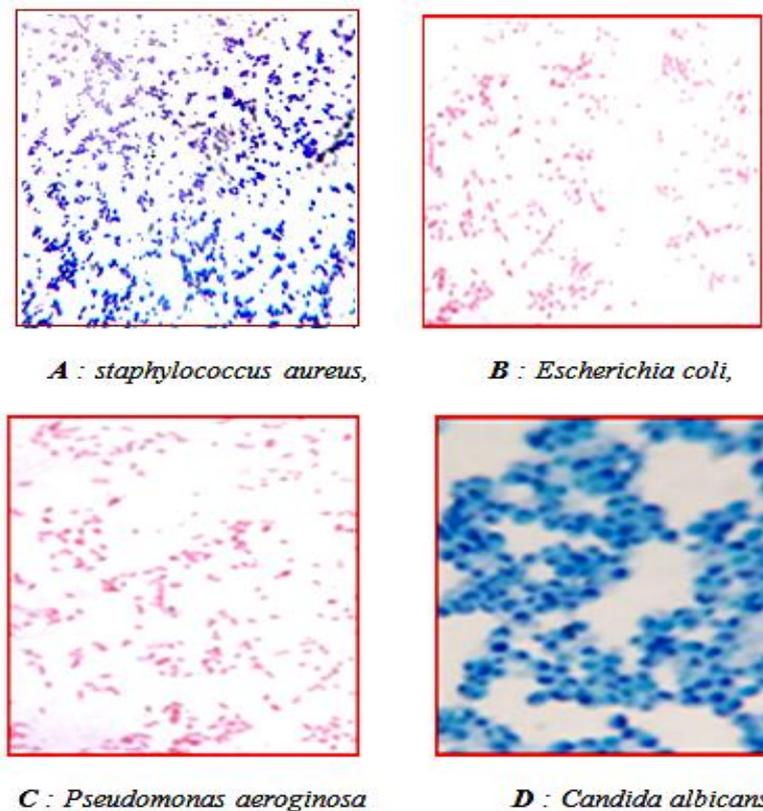


Figure 09: Observation microscopique des souches microbiennes testées après coloration de Gram (A, B, C) et coloration simple (D) (Grossissement x100). (Photo personnelle)

D'après les observations microscopiques, les souches étudiées s'avèrent pures, on a bien distingués la forme et le type de paroi de chaque souche : *Pseudomonas aeruginosa* est présente sous forme de bacilles Gram négatif, *E.coli* apparait bacilles Gram négatif, *Staphylococcus aureus* apparait sous forme des coques regroupés en amas Gram positif alors que *Candida albicans* caractérisé par sa forme ovoïde avec un pseudo mycélium.

### **V.1.1. Les Tests biochimiques de *Staphylococcus aureus***

#### **1. Test de catalase**

Les quatre souches de *staphylococcus aureus* possèdent une catalase positive.



**Figure10:** Résultat de test catalase pour *staphylococcus aureus*.(photo personnelle)

#### **2. Test de coagulasse**

Les quatre souches de *staphylococcus aureus* possèdent une coagulasse positive.



**Figure 11:** Résultat de test de coagulasse libre et liée pour *staphylococcus aureus*.  
(photo personnelle)

Ce test permet la mise en évidence de constituants, spécifiques de *S. aureus*, présents à la surface de la bactérie: récepteur de fibrinogène et/ou protéine A.

### Interprétation

Coagulase libre : on observe un caillot qui indique la production de coagulase, et pour la coagulase liée se manifeste par une agglutination. Une agglutination nette des particules, alors que la suspension témoin reste homogène.

### 3. Test de DNase



Figure12 : Résultat de test de DNase pour *staphylococcus aureus*. (photo personnelle)

### Lecture et interprétation

Après incubation, inonder les boites avec une solution d'acide chlorhydrique, observer dans les 5min qui suit les aspects suivants :

- Zone claire (halo) autour de la strie : souche DNase<sup>+</sup>
- Absence de zone claire de la strie : souche DNase<sup>-</sup>

L'apparition d'halo est dû à l'hydrolyse de l'ADN

Les trois tests (catalase, coagulasse et DNase) confirment la pathoginité de *staphylococcus aureus*

### Test balastèse pour *Candida albicans*



**Figure13** : Observation microscopique de *Candida albicans* après test de balastèse. (photo personnelle)

*Candida albicans* et *Candida dubliniensis* sont les seules espèces qui produisent des tubes germinatifs en 3heures à 37°C dans du sérum humain.

#### V.1.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice CMI :

Nous avons déterminé les CMI des souches bactériennes et fongiques par la méthode d'incorporation sur milieu solide, qui implique l'incorporation de la substance testé qui est le miel (v /v) à différent concentrations. Les résultats des tests de sensibilité antibactérienne et antifongiques de miel sont mentionnés dans les tableaux suivants plus les photos de résultat de l'étude dans l'annexe.

##### V.1.2.1. La CMI pour *Staphylococcus aureus*

**Tableau 04** : CMI de quatre souches de *Staphylococcus aureus*

Type de miel	<i>S.aureus</i> aliment	<i>S.aureus</i> Prélèvement vaginal humain	<i>S .aureus</i> mammite	<i>S.aureus</i> ATCC25923
M 1	05%	15%	05%	05%
M 2	05%	15%	06%	05%
M 3	06%	15%	05%	05%
M 4	05%	15%	05%	10%

Le tableau 04 montre que la CMI des trois souches de *staphylococcus aureus* (*staphylococcus aureus* isolat d'un aliment, *staphylococcus aureus* isolat de mammite, *staphylococcus aureus* isolat d'un prélèvement vaginale humain et *staphylococcus aureus*

## Chapitre V. Résultats et discussion.

ATCC) sont les souches les plus sensibles à l'action de miel avec une CMI qui est variée entre 05% et 06%.

La dernière souche qui est *staphylococcus aureus* isolat d'un humain présente un CMI un peu élevée que les autres qui est de 15%.

### V.1.2.2. Détermination de CMI pour *Escherichia coli*

**Tableau 05 :** CMI de deux souches d'*Escherichia coli*

Type de miel	E .coli isolat clinique(IC)	E. coli 2017 référence
M 1	20%	15%
M 2	20%	15%
M 3	20%	20%
M 4	25%	25%

on note que la CMI des deux souches d'*Escherichia coli* (*E.coli* isolat clinique et *E.coli* souche de référence) est similaire (20% ) dans les deux types de miel multi floral et carotte, mais dans les autres types de miel Euphorbe et miel Eucalyptus ya une différence de CMI pour *E.coli* souche de référence dont la CMI égale à15% et pour *E.coli* isolat clinique la CMI égale 20%.

### V.1.2.3. Détermination de CMI pour *Pseudomonas aeruginosa*

**Tableau 06 :** CMI de *Pseudomonas aeruginosa*

Type de miel	CMI pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
M 1	10%
M 2	20%
M 3	20%
M 4	20%

D'après ces résultats la CMI de *Pseudomonas aeruginosa* dans les trois variétés de miel (M. Eucalyptus, M .multi florale et M .carotte) sont le même 20% et la CMI dans le miel Euphorbe égale à 10%.

### V.1.2.4. Détermination de CMI pour *Candida albicans*

**Tableau 07 :** CMI de *Candida albicans*

Type de miel	CMI pour <i>Candida albicans</i>
M 1	25%
M 2	35%
M 3	35%
M 4	40%

## Chapitre V. Résultats et discussion.

---

La CMI de *Candida albicans* d'après le **tableau 07** varié entre 20% à 40 %, dans le miel d'Euphorbe la CMI égale 25% et le miel multiflorale et Eucalyptus la valeur de CMI et le même 35% et dans le miel de carotte sauvage la CMI égale 40%.

- D'après nos résultats on remarque que l'activité antimicrobienne de quatre échantillons de miel varie entre 05% à 40%.
- Les souches bactérienne sont plus sensibles à l'action de miel que la souche fongique, leurs CMI varient de 06% jusqu'à 25%. Alors que la souche fongique est moyennement sensibles avec CMI de 35% .
- *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible avec des CMI qui varient de 05% à 15%.
- Donc, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) obtenues différent, d'un échantillon de miel à un autre et variables d'une souche microbienne à un autre.

De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel afin d'élucider ses propriétés nourrissantes, thérapeutiques, cicatrisantes, désinfectantes et antimicrobiennes (**Lequet, 2010**).

Les quatre variétés de miels ont montré une action antimicrobienne significative vis-à-vis les espèces microbiennes testées, qui sont toutes sensibles à l'action inhibitrice des échantillons de miels étudiés, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui est indiqué par (**Adeleke et al., 2006**), qui montre que l'effet antimicrobien de miel varie selon la concentration du miel et la nature de la bactérie, Le miel vient au secours de la médecine, face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels. Avec l'évolution de la médecine alternative la recherche de nouvelles molécules actives constitue un but majeur pour les scientifiques qui cherchent à valider les effets thérapeutiques de certaines variétés de miels monofloraux et multifloraux (**Farzana et al., 2016**). Cependant on attribue au miel un très grand nombre de propriétés thérapeutiques (Propriétés antiseptiques, antianémiques et antitussives par exemple) (**Guarch, 2008 ; Chanaud, 2010**).

Les souches bactériennes testées (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*) montrent une grande sensibilité envers les miels utilisés (CMI de 5 à 25%). Et *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus sensible, et nos résultats s'accordent avec l'étude de (**Molan 1992 ; Chirife et al 1983**), qui dit que *Staphylococcus aureus* a été la bactérie la plus sensible au miel étudié malgré qu'elle est considéré comme la bactérie la plus osmotolérante capable de provoquer des infections multiples.

Le résultat de la CMI de quatre souches de *staphylococcus aureus* (une souche de référence ATCC 25923), une souche isolée à partir d'un aliment, une souche isolée d'une mammite bovine et une souche humaine montrent que les trois premières souches ont des CMI proches (CMI entre 5 à 6%) et nos résultats sont similaires avec (**Allen et al., 2000**), qui étudié l'application de miel sur des plaies infectées de 82 souches de SARM et trouve la CMI allant de 3% à 8%, par contre la dernière souche humaine présente une CMI de 15% donc *staphylococcus aureus* humaines est résistante à l'action de miel par rapport ou autre souches (**Djahra, 2014**). Certains microorganismes principalement les bactéries ont développé des mécanismes de résistance à un ou plusieurs antibiotiques rendant la maîtrise des infections de plus en plus complexe et constituant un problème sérieux de santé, les mécanismes de résistance comprennent la production des molécules comme des enzymes inhibant l'action de l'antibiotique (**Levy et al., 2004 ; vandal et al., 2015**).

La variation de l'activité antimicrobienne parmi les souches bactériennes est attribuée à la spécificité de chaque bactérie, qui réagit différemment aux paramètres du miel. La souche de *Staphylococcus aureus* PV est moins sensible à l'activité de miel par rapport aux autres et cela peut être dû à leur virulence, (**Gordon et al., 2008**). *Staphylococcus aureus* peut avoir plusieurs facteurs de virulence, Parmi ces facteurs la coagulase et la production des entérotoxines (**Tang et al., 2000**).

Les quatre variétés des miels (miel d'euphorbe, miel d'eucalyptus, miel multi florale et miel de carotte) présentent un effet similaire avec *staphylococcus aureus* PV (CMI =15%) et même avec les autres isolats de *staphylococcus aureus* qui varie entre 5% à 6 %, d'une façon générale, nous avons trouvé que les quatre miels présentent une inhibition.

(**Kawkman et al., 2012 ; Estevinho et al., 2008**), ont rapporté que certains types de miel contiennent d'autres composants bioactifs à activité antibactérienne y compris le méthylglyoxal, le défensine-1, et le lysozyme, Les miels foncés ont une activité inhibitrice plus élevée (**Patrick et al., 2012**), on pense que les propriétés antibactériennes des miels est liées à la défensine sécrétée par les abeilles. On constate que ces valeurs se situaient dans une fourchette assez étroite par rapport à ceux rapporté par **Dustmann (1979)**, qui indiquent que la CMI de *S.aureus* se situait entre 0,3% ET 50%.

Pour les deux souches d'*Escherichia coli* Les CMI se situaient entre 20% à 25 % pour la souche *E.coli* isolat clinique possède une CMI entre 15% à 25 %.

Nos résultats sont proches à celles de (**Boukraa et Amara 2007**), qui ont testés l'effet de trois types de miel sur *E .coli* et qui ont trouvé des CMI de 23% ,28%, et 25%.

Nos résultats sont en accord avec les investigations de (**Shamala et al., 2002**), dans lesquels le miel a montré une activité antibactérienne significative contre *E.coli*, que ce soit *in vitro* ou *in vivo*. De plus, la sensibilité marquée des bactéries étudiées à certains types de miel (par exemple, à l'origine de lebina.). Est probablement liée aux propriétés médicinales de la fleur dominante à partir de laquelle le miel a été produit.

Ces miels efficaces peuvent être utilisés comme alternative pour lutter contre certaines souches de résistance. Des travaux déjà effectués par (**Nair, 2014**), sur des miels algériens montrent que l'activité inhibitrice du miel naturel sur *E.coli* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs.

La plus grande inhibition de croissance bactérienne est obtenue avec l'échantillon M1(Euphorbe) sur les deux Souches de *E.coli* avec CMI 20% et 15% respectivement, et la plus faible est obtenue avec l'échantillon M4 sur les deux souches de *E.coli* avec de CMI 25% pour les deux souches , donc Le miel M1 et M2 récoltés dans les régions d'El-Bayad et

Mostaganem présentent des activités antimicrobiennes plus élevées comparativement à celles de la région de Tiaret (**Oued Lilli, Rahouia**).

D'après (**Merah et al., 2010**), l'action des miels pur sur les bactéries dépend de la composition du miel. Cette dernière, elle-même dépend de plusieurs facteurs, et selon **al-Tamîmî**, le miel varie dans sa qualité médicinale en fonction de l'époque de sa production et des espèces de fleurs butinées (**Joëlle et Jean, 2003**), autre étude faite par (**Donadieu, 1978**), qui montre que tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel mono floral, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui.

La comparaison de la CMI entre les bactéries à gram positive (quatre variétés de la souche de *Staphylococcus aureus*) et les bactéries à gram négative (*E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) démontre que l'inhibition est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble des miels analysés avec une activité plus importante sur *S.aureus* (Gram+) que sur *E.coli* (Gram-) et *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -) ceci dépend d'une part de la composition du miel et d'autre part à la différence de la structure entre les bactéries à Gram positives et Gram négatives: La paroi cellulaire des bactéries à gram positives est constituée d'une seule couche alors que la paroi cellulaire des gram négatives a une structure multicouches liée par une membrane cellulaire externe (**Balentine et al., 1999**). Donc *Staphylococcus aureus* est la bactérie la plus sensible à tous les miels analysés en comparaison avec *Escherichia coli*. Ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram Positives et les bactéries Gram négatives Ces résultats concordent avec les travaux de (**Salwa et Maher, 2014**), qui ont testé l'effet antibactérien des miels de Yémen sur les bactéries à Gram+ et Gram-.

Nos résultats sont similaires aux résultats de (**Hammoudi et al., 2009**), qui ont travaillé sur des miels algériens et ils ont trouvé que *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible alors qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont moyennement sensibles.

Autre étude rapportée par (**Ouatah et Ouchabaa, 2015**), sur 10 échantillons de miel testés vis-à-vis 5 souches bactériennes a montré que l'activité antibactérienne était plus efficace sur des bactéries à gram positif que des bactéries à gram négatif, nos résultats sont accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont montré que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à l'effet du miel comparativement aux bactéries à Gram négatif (**Agbagwaet al., 2010 ; Alvarez et al., 2010 ; Srisayam et al., 2010 ; Miorin et al., 2003 ; Bogdanov 1987 ; Jeddar et al., 1985 ; Yatsunami et al 1984 ; Wooton et al., 1978; Rahmanian et al., 1970**).

Le miel présente une activité antimicrobienne plus élevée contre des bactéries Gram+ (*Staphylococcus aureus*) comparativement aux bactéries Gram- (*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) Le pH acide du miel renforce son activité antibactérienne car les bactéries ne peuvent se multiplier dans un milieu acide (Al-Waili et al., 2011 ; Tomczak, 2010 ; Assie, 2004 ; Bogdanov et al., 2001).

On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram+ et non sur les bactéries à Gram-, et d'autre part de la composition du miel lui-même (Prost, 1979).

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

- l'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
  - la nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation ;
  - le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production de miel ;
  - le mode d'extraction de miel ;
  - la durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité (Caillas, 1974).
- de nombreux chercheurs ont été attiré notre attention par leur étude qui caractériser les pouvoirs bactéricides et bactériostatiques du miel (Alvarez et al., 2013 ; Mandal, 2011 ; Kačániová et al., 2011 ; Mandal et al., 2010 ; Abd-Elaal et al., 2007 ; Chinakwe, 2006 ; Subrahmanyam et al., 2001 ; Taormina et al., 2001 ; Molan et al., 2000 ; Wahdan, 1998 ; Somail et al., 1994 ; Ndaisaba et al., 1993).

Concernent *Pseudomonas aeruginosa* , cette bactérie est moyennement sensibles à l'action de miel avec une CMI entre 10% et 20 % et notre résultat et en accords avec celle de (Boukraa et al., 2006 ) , qui a testé l'effet antibactérien de sept variétés de miels sur la même souche de *Pseudomonas aeruginosa*, il ont trouvé des CMI entre 10% et 31% soit une moyenne de 23,5% ( moyenne des CMI des 7 variétés de miel ).

Le miel qui avait donné la meilleure CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* est le miel D'Euphorbe avec CMI de 10% par contre les autres miels d'Eucalyptus, multi florale et carotte sauvage ont représenté un effet égale à 20% Tous les types de miel ont un pouvoir antimicrobien, bien que certains soient plus actifs que d'autres (Badawy et al., 2004 ).

La bactérie *Pseudomonas aeruginosa* est bien connue pour être très résistante à de nombreux agents antimicrobiens et aux antibiotiques en général ce qui est probablement dû à sa capacité à former un biofilm .en effet le biofilm protégé les bactéries et leur permet de survivre dans des conditions environnementales hostiles et donc résister aux désinfectants et aux antibiotiques ainsi ces bactéries requièrent des concentrations élevées d'agents antimicrobiens (**Trembley et al., 2014**). Les biofilms sont devenus un facteur clé de la résistance aux antibiotiques. Les biofilms protègent les bactéries des antibiotiques, ce qui entraîne une infection implacable. Le miel agit en tant que négociateur bactéricide, pénètre dans les biofilms, rétablit l'infection agressive et élimine la colonisation des biofilms (**Sarfraz et al., 2018**).

Selon **Molan (1992)**, l'effet antibactérien du miel peut être attribué à plusieurs facteurs présents dans le miel. D'abord à son effet osmotique, Beaucoup ont attribués l'action thérapeutique du miel juste à l'effet osmotique du à sa teneur en sucres (**Condon, 1993 ; Somerfield, 1991 ; Tovey, 1991 ; Keast-Butler, 1980 ; Seymour et al., 1951**). La corrélation positive de l'activité antimicrobienne avec les sucres réducteurs est associée à l'effet osmotique généré par la concentration élevée de sucres dans le miel.et en raison de l'action de sucres simples sur l'eau contenue dans les bactéries, il provoque la lyse de la membrane bactérienne (**Couquet et al., 2013**), le miel agit d'une manière osmotique et absorbe l'eau vitale des microorganismes pathogène ce qui provoque la plasmolyse cellulaire puis la mort de la cellule microbienne (**Bougdanov et al., 2001**), et selon (**Mescle et al., 1966**), expliquent que une basse  $A_w$  (activité of water) perturbe les fonctions métaboliques des germes pathogènes et inhibe totalement leur développement). L'effet antibactérien du miel peut également dû à son pH acide (**Mandal et al., 2011**).

Le pH du miel varie de 3,9 à 6,0 (**Laurent, 2014**). Ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes (**Assie, 2004**). non favorable à la multiplication des germes pathogènes, 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**), et sa teneur en peroxyde d'hydrogène ( $H_2O_2$ ) (**Assie, 2004 ; Halliwell et al., 1994**), L'eau oxygénée aussi appelée peroxyde d'hydrogène est considérée comme la principale inhibiteur du miel. Elle est produite par réaction enzymatique ; c'est le glucose oxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel Ainsi que les composants physico-chimiques tel que les acide phénols et les flavonoïdes, Les polyphénols font partie des groupes de composés naturels importants, de haut intérêt thérapeutique (**Djossou et al.,**

2013). Les phénols, déjà présentés pour leurs propriétés bactéricides, protègent ces lipoprotéines des éventuels dommages oxydatifs causés par un surplus de radicaux libres (Gheldof et al., 2003), qui sont généralement en faible quantité, sont des inhibiteurs non peroxyde (Iusby et al., 2002), et la présence de substances phytochimiques (Yao et al., 2003 ; Molan et Russel, 1988), les antioxydants sont les constituants principaux phytochimiques du miel (Bogdanov et al., 2006).

*Candida albicans* est sensible à l'action inhibitrice des miels analysés avec des différences d'un type à un autre, ce qui indique son large spectre d'action antifongique. Avec des CMI de 25% (Echant 1), 35% (Echant 2 et 3), et 40% (Echant 4), Les résultats de (Thomas et al., 2005), sont proches de nos résultats, ils ont trouvés que la CMI de *Candida albicans* est entre 10,25% et 40%. Et d'autre étude convenable à notre étude mais a des concentrations différentes, (Cavanagh et al., 1970), ont montré que la concentration 100%(v/v) de miel a été exercé un effet fongicide sur *Candida albicans*, alors qu'une concentration de 50%(v/v) était nécessaire pour intensifier l'action à peu près identique dans les espèces de *Candida*. Et selon (Al-Waili et al., 2005), qui montrent une inhibition de souche de *Candida albicans* dans les milieux solides à concentration de 30 à 100%. Autre étude prouve aussi la sensibilité de cette levure (Theunissen et al., 2001). Des travaux convenables à nos résultats sont les travaux de (Banaeian et al., 2013), qui ont montré que l'effet inhibiteur du miel sur *Candida* était considérable de 20 à 60% .

Nos miels présentent un effet antifongique très intéressant avec une CMI =25% ( le miel d'euphorbe), 35% (miel eucalyptus et multi florale), et 40% (miel de carotte) Les résultats (d'Al-Waili, 2005), sont proches de nos résultats avec des milieux de culture et concentrations différentes, car ils ont trouvé une inhibition complète de la croissance de *Candida albicans* par la méthode de contact directe sur le milieu Sabouraud avec 66% de miel, et dans le milieu Sabouraud glucosé contenant du miel à des concentrations de 33 et 50%.

L'étude de (Dilnawaz et al., 1995), sur dix échantillons de miel de Pakistan testées sur *Candida albicans* présente des résultats comparable à nos résultats dont l'inhibition de *Candida* est complète à 50% de miel testé, Peu de travaux ont été effectués sur des espèces fongiques pour offrir une large base de comparaison. Cependant (Boukraa et al., 2006), ayant étudiés l'effet antifongique de trois types de miels sur les mêmes espèces de *C.albicans* et ils ont trouvé un moyenn de 43,6% et selon Cavanaugh (1970), l'inhibition de la croissance de *C.albicans* est obtenu entre les concentrations de 29,4% et de 100% et pour (Theunissen et al., 2001), l'effet du miel diffère selon l'espèce fongique

D'après (**Radwan et al., 1984**), l'effet du miel sur la croissance des champignons est moins marqué que sur celle des bactéries et d'autre étude menée a montré que la croissance bactérienne est inhibée à des concentrations de 20% mais les champignons survivent Les raisons possibles peuvent résider dans la structure et l'organisation de ces cellules microbiennes (**Wasihun et al., 2016**).

Ce qui est rapporté par **Ashi (2000)**, que *Candida albicans* présente une sensibilité moins importante à celle des bactéries par ce que la levure est une cellule eucaryotique et les bactéries sont des cellules procaryotiques, ainsi l'étude de (**Ceyhan et al., 2001**) , rapporte que les champignons sont en générale moins sensibles que les bactéries à l'action du miel ; et d'autre part de la composition du miel lui-même qui dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que : la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie (**Voidarou et al., 2011 ; Jeanprost, 1979**).

Les résultats obtenus ont démontré une activité inhibitrice du miel d'euphorbe vis-à-vis de toute les espèces microbiennes, avec une CMI élevée sur *C.albicans* et basse sur la bactérie *S.aureus* Le miel d'Euphorbe a une bon qualité à cause de son effet intéressent sur les souches bactériennes et la souche fongique étudiés. une étude menée par (**Bettar et al., 2015**), révélé que le miel d'Euphorbe est largement utilisé en médecine traditionnelle dans plusieurs pays méditerranéens ,c'est un miel très utilisé dans le traitement de l'asthme ,des irritation de la gorge ,des maladies cardiovasculaire l'hypertension ,et favorise la fertilité chez les femmes, les miels d'euphorbe sont aussi connus pour leur effet tonifiant ,anti-inflammatoire ,analgésique et antimicrobien ainsi que leur capacité à promouvoir la cicatrisation des plaies (**Bettar et al., 2015 ; Cherbuliez et al., 2003**).

---

# *Conclusion*

---

## Conclusion

---

L'Algérie constitue l'un des pays qui possède une grande diversité végétale et de bonnes conditions climatiques, favorables à la production de miel. La valeur médicinale de ce dernier est de plus en plus démontrée scientifiquement ce qui constitue une base pour son utilisation en médecine.

Les résultats obtenus de l'évaluation de l'activité antimicrobienne des échantillons de miel testés révèlent que les quatre souches microbiennes testées sont plus ou moins sensibles à l'action inhibitrice du miel. *S. aureus* est la souche la plus sensible par rapport à *E.coli* et *Pseudomonas aeruginosa* et *Candida albicans* présente la faible sensibilité. De plus le miel M1 et M2 ont donné l'effet inhibiteur le plus grand par rapport aux miels M3 et M4.

Le miel algérien est de très bonnes qualités, la valeur médicinale du miel comme antibiotique naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue une base pour son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie parapharmaceutique et cosmétique. Cette pratique traditionnelle a récemment été «redécouverte» par la profession médicale, en particulier lorsque les agents thérapeutiques modernes conventionnels actuels (antibiotiques, antifongiques) échouent. L'utilisation de traitement à base de miel constitue actuellement une branche de la médecine alternative, appelée api thérapie.

Vu l'importance thérapeutique prouvée du miel en médecine et dans le secteur de l'industrie parapharmaceutique et cosmétique il serait intéressant de compléter ce travail par :

- la recherche et la caractérisation des effets thérapeutiques de nos produits naturels
- Compléter l'étude *in vitro* par des applications pratique (*in vivo*).

---

# *Références bibliographiques*

---

1. **Abd-Elaal A.M., El-Hadidy M.R., El-Mashad N.B., El-Sabaie A.H. (2007).**Antimicrobial effect of bee honey in comparism to antibiotics on organisms isolated from infected burns. *Annals of Burns and FireDisaster*, 20(2): 91-94.
2. **Abdulwahid Ajibola, Joseph P Chamunorwa et Kennedy H Erlwanger (2012),** Valeurs nutraceutiques du miel naturel et sa contribution à la santé et à la richesse humaines l'Université du Witwatersrand, Johannesburg, Afrique du Sud. L icencié BioMed Central Ltd.
3. **Adcock, D. (1962).** «The effect of catalase on the inhibine and peroxide values ofvarious honeys». *J.Apicult.Res*, vol.1, p.38-40
4. **Adeleke OE, Olaitan JO, Okepeke EI. (2006)** .Comparative antibacterial activity of honey and gentamicin against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals Burn Fire Disasters*; 19:n4.
5. **Burns and Fire Disasters Vol XIX n -4**
6. **Agbagwa O. E. and Frank-Peterside N. (2010)** Effect of raw commercial honey from Nigeria on selected pathogenic bacteria. *Africa J. Micronials Res*, 4: 1801- 1803.
7. **Aggad H. Guemour D (2014)** Activité antibactérienne au miel *Med Aromat Plants* 3: 152. Doi: 10.4172 / 2167-0412.1000152
8. **Al Somal N., Coley, Med.( 1994)** Jan; 87(1):9-12
9. **Al-Habsi, N.A. Niranjan, K. (2012).** « Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey». *Food chemistry*, vol. 135, p. 1448-1454.
10. **ALI AT., Chowdhury Mn., Al Humayyd Ms(1991).** Inhibitory effect of natural honey on *Helicobacter pylori*. *Trop Gastroenterol*. Jul-Sep; 12(3):139-43.
11. **Alix Iefief –Delcouri, (2004)** le miel malin, {2} p 23
12. **Allen Kl, Hutchinson G, Molan PC. (2000).**The potential for using honey to treatwounds infected with MRSA and VRE. *First World Healing Congress, Melbourne, Australia*; 10-13.
13. **Al-Mamary M., Al-Meeri A., Al-Habori M.(2002).**Atioxidant activites and total phenolics of honey.*Nutrition Research*. 22, 1041-1047.
14. **Al-Somail N., Coley K.E., Molan P.C., Hancock B.M. (1994).** Susceptibility of *Helicobacter pylori* to the antibacterial activity of Manuka honey. *J.Royal Society Med.*, 87: 9-12.
15. **Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., Battino M. (2013).** Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Curr. Med. Chem.*, 20(5): 621-638.
16. **Alvarez-Suarez J.M., Tulipani S., Díaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S., Battino M. (2010).** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.*, 48(8-9): 2490-2499.
17. **Al-Waili N.S. (2004).** An alternative treatment for Pityriasis versicolor, *Tinea cruris*, *Tinea corporis* and *Tinea faciei* with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture: an open pilot study. *Complement Ther. Med.*, 12(1):45-47
18. **Al-Waili NS. (2005)** .Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* *Arch. Med. Res.* 36(1):10-13.

19. **Andargarchew, M. Belay, T. Derbie, F. (2004).** «In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common pathogens». *Ethiop. J. Health Dev*, vol.18, n°2, p. 107-111.
20. **Assie B., (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. 79 p. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Médecine. Toulouse : Toulouse III.
21. **Assie B., Descottes B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse, p 115.
22. **Attia, W.Y. Gabry, M.S. El-Shaikh K.A. Othman, G.A (2008)** The Anti-Tumor Effect of Bee Honey in Ehrlich Ascite Tumor Model of Mice is Coincided with Stimulation of the Immune Cells". Vol. 15, Page: 169-183
23. **Badawy O., Shasii S., Tharwat E., Kamal M. (2004).** Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. *Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz.* 23: 1011-1022.
24. **Balas, F. (2015).** «Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale revue de la littérature». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine. Université Nice
25. **Balentine d.a. albano mc, et al. (1999).** Role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health. *nutr rev*,57(2):41-5.
26. **Banaeian-Borujeni, Sh. Mobini, G.R. Pourgheysari, B. Validi, M. (2013).** «Comparison of the effect of honey and miconazole against *Candida albicans* in vitro». *Advanced biomedical Research*, vol. 2, p.1- 57
27. **Bansal V, Medhi B, Pandhi P (2005)** Le miel - un remède redécouvert et son utilité thérapeutique. » *Kathmandu Univ Med J (KUMJ)*. V; 3 (3) P 305-9.
28. **Beretta G ,Granata P ,Ferrero M, Orioli M ,Facino RM(2005)**
29. **Bettar I,Gonzalez Miret M Lourdes HD Marconi A Heredia FJ and Terrab A** critical review *Clinical and Experimental immunology* ,28 :1-18: standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrometric /fluorimetric assays and chemometrics .*Anal Chim Acta* V 533 P 185-191
30. **BIRI M (1986)** L'élevage moderne des abeilles, édition : Devecchi .S.a . Paris. PP 91-101
31. **Bogdanov S , Bieri K ,Figar M,IFF D, KANZIG A ,Figueiredo V,Stockli H , et Zurcher K (1995).** miel :définition et directive l'analyse et l'apprécié centre suisse de recherches apicole station fédérale de recherche laitières ; Liebefeld CH3003 Bern .PP 1-26 -Lorichiche (1979)
32. **Bogdanov S (1987).** Suppression du service d'analyses du miel de la section des abeilles. *Journal Suisse d'apiculture*, 84 (9): 325-326.
33. **Bogdanov S ,Rouff K and Persano Oddol( 2004).** physico chemical methods for the characterization of unifloral honey :A review.*Apidologie* 35:S4-S17
34. **Bogdanov S .et Bulmer P (2001)** Propriété antibiotique naturelles du miel.centre suisse de recherches apicoles .Station fédérale des recherches laitière . Liebefeld .CH-3003 Berne PP :1-8
35. **Bogdanov S and Peter G A ,Stefan S, Theodore C .( 2006 ).**USA ,Apitherapy Consulting ,BUCAREST ,ROUMANIE ,Produits apicoles et santé ,ALP forum ,N°41f ISSN 1661-0814 page 5

36. **Bogdanov S et Blumer.P (2001)**,propriétés antibiotique naturel de miel, centre suisse de recherche apicole.
37. **Bogdanov S. Tomislav J. Sieber R.Gallmann P. (2008)**. «Honey for Nutrition and Health». American Journal of the College of Nutrition, vol. 27, p. 677-689
38. **Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G. (2004)**. Produits apicoles, Pollen, Agroscope Liebefeld-Posieux, Station fédérale de recherches en production animale et laitière (ALP), Centre derecherchesapicoles, Liebefeld-Berne, 6p.
39. **Bogdanov, S. (1997)**.« Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey». Lebensm.-Wiss. u.-Technol, vol. 30, p. 748–753.
40. **Bogdanov,S. Pascale,B. (2001)**. « Propriétés antibiotiques naturelles du miel». Centre Suisse de recherche Apicole, p. 1-8.
41. **Bogdanov,S. Tomislav, J. Sieber, R. Gallmann,P. (2008)**. «Honey for Nutrition and Health». American Journal of the College of Nutrition, vol. 27, p. 677-689
42. **Bougdanov.S, Ruoff K and Persano OddoL (2004)** physicochemical methods for the Characterization of unifloral honey: A review. Apidologie, 35: S4-S17
43. **Boukaraa L amara Amara K and Aggad H (2006)** :synergistic effect of starch on the antibacterial activity of honey against Staphylococcus aureus International Conference on the medical Uses of honey USM Kota Bharu Malaysia 26-28 August 2006
44. **Boukaraa Laid .Karim Amara (2007)** Synergistic Effect of Starch on the AntibacterialActivity of Honey. Medicinal Food ,Vol 11 N1 Doi.org /10.1089/jmf 2007.502
45. **Bouseta A., Collin S.,& Dufour ,J.-P.(1992)**. Characteristic aroma profiles of unifloral honeys obtanned with a dynamic headspace GC-MS system.of apicultural Resarch, 31(2), 96- 109
46. **Brudzynski K. (2006)**. Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys, Can. J. Microbiol. 52: 1228-1237.
47. **Caillas A. (1974)** .Le rucher de rapport, Les produits de la ruche, Traité pratique d'apiculture moderne, Edition .syndicat national d'apiculture, Paris, p.497.
48. **Cavanagh D Beazley J , OStapowicz F (1970)**. Radical operation for carcinoma of the vulva :a new approach to wound healing J Obest Gynaecol Brit Commonw 77.1037 - 1040
49. **Cavanagh, T. Durand, C. Taliercio, Y.P. (1970)**. «Contribution à l'étude du microbisme et de l'hygiène des miels du commerce». Recueil de Médecine Vétérinaire, vol. 146, p. 1471- 92.
50. **Cernakm., Majtanova N., Cernak A (2001)**. Honey prophylaxis reduces the risk of endophthalmitis during perioperative period of eye surgery. Phytother Res. Apr;26 (4):613-6
51. **Chanaud . P (2010)**. Les miels. Variétés, bienfaits, recettes. Edisud, Aix-en-Provence, 192 p.
52. **Cheorun J., JAE Kyung K., Jin Kang H. (2005)**. Irradiation Effects on the Decontamination of Microorganisms in Honey. International Symposium « New Frontier of Irradiated food and Non-Food Products », 22-23 September.
53. **Cheruliez T et Domerego R (2003)** . L'apithérapie ,medicine des abeilles Edition Amyris

54. **Chinakwe E.C. (2006).** Antibacterial effect of honey formulation on bacteria isolated from wounds. *Nigerian J. Microbiol.*, 20(3): 1263-1267.
55. **Claude Viel Jean-Christophe Doré (2003).** Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche *Revue d'Histoire de la Pharmacie* v 337 pp. 7-20
56. **Clémence H (2005).** LE miel de la source a la thérapeutique faculté de pharmacie mémoire de doctorat Université Henri Poincare - Nancy 1
57. **Condon RE (1993).** Curious interaction of bugs and bees *.Surgery* 113(2) PP 234-235
58. **Cotteret G ,Kavanagh K adherence mecanismes of Candida albicans Br J Biomed Sci (2000) ;57(3) :241-9**
59. **Couquet, Y., Desmolière, A. and Rigal, M.L. (2013).** « Le miel, quel intérêt en cicatrisation ? » Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, p. 22-25.
60. **Cuevas Glory ,pino Jorge A., Santiago Louis Sauri, Duch E (2007).** .Areview of volatile analyticale methods for determining the botanical origin of hony *Food chemistry* 103(2007) 1032-1043
61. **Cushnie T,Lamb A,(2005).** Animicrobial activity of flavoniodes *Int J Anntimicrob Agents* 26:343-356
62. **D. W. Warnock (1984) .** “ Typing of Candida albicans “ *journal of Hospital Infection Department of Microbiology*
63. **Delorme J., Robert A (1997).** *Mycologie médicale.* Ed. Centre collégial de développement de matériel didactique. Mont-Royal Québec, p. 184.
64. **Delphine, I. (2010).** « Le miel et ses propriétés thérapeutiques». Thèse du doctorat.
65. **Desmouliere A., Bonet F., Couquet Y., Rigal M.L (2013).** Le miel, quel intérêt en cicatrisation ? *Actualités Pharmaceutiques*, 52 (531), pp.17-35
66. **Dilnawaz,Sh. Shams-Uz-Zaman,S. BaQir-NaQvi,M. Rafi-Sheikh. Ghulam, A (1995).** «Studies on the antimicrobial activity of honey». *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol.8, n°1, p.51-62.
67. **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.
68. **Domerego R Imbert G Blanchard C (2009).** les remèdes de la ruches Editions Alppens ,Monaco , p 95
69. **Donadiou Y(1978).** ; *Le miel, thérapeutique naturelle*, Paris, 2ème édition MALOINE, p.17-8, 20-5
70. **Donadiou. Y, (1982).** « Pollen : thérapeutique naturelles ». 5ème Ed Maloine S.A Paris. 31p
71. **Duacia (2009)** Dr C.. *Cattoen – Valenciennes epidemiologie des infections a pseudomonas*
72. **Dustman, J.H. (1979).** «Antibacterial effect of honey». *Apiacta*, vol.14, n°1, p.7-11.
73. **Efem Se ,Udoh Kt .Iwara Ci (1992) .**The antibacterial spectrum of honey and its clinical significance *.Infect v 20 ,PP 9-227*
74. **EL-Hady FA, Hegazi A.G (2001)** Chemical composition of honey in Apimondia

75. **Estevinho L Pereira A Moreira (2008)**. Antioxydant and antimicrobial 411 effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey. *Food Chem Toxicol* 412 ;3774 -37779
76. **Fanny Balas**. Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature, Thèse d'exercice de médecine - Université Nice Sophia Antipolis - Faculté de Médecine
77. **Farzana A.Y. Malik H.M. Abdul M. Ruqaiyyah S. Naveed A.K (2016)**. « Antiacanthamoebic properties of natural and marketed honey in Pakistan »
78. **Flandrois J.P (1997)**. Bactériologie médicale, p.301
79. **Francis Girard (2005)**. Université de Montréal <Étude de la pathogénèse des infections à Escherichia coli de type attachant et effaçant chez le porc> Département de pathologie et microbiologie -Faculté de médecine vétérinaire.
80. **Gharbi M .thèse de doctorat**, les produits de la ruche :Origines –Fonctions naturelles – Composition ,Propriétés thérapeutiques Apithérapie et prespectives d' emploisEn médecine vétérinaire ,Vetagro sup Campus Vétérinaire de Lyon.
81. **Gheldof .N, Wang .XH, Engesth .NJ, (2003)**. Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. *J Agric Food Chem* 51:pp 1500–1505.
82. **Gleiter R.A., Horn H. and Isengard H.-D (2006)**. Influence of type and state of crystallization on the water activity of honey. *Food chemistry*, 96: 441-445
83. **Gomes Susana ,Luis G. Dias,Leandro L ;Moreira,Paula Rodrigues ,Leticia Estevinho (2010 )**. physicochemical,microbiological and antimicrobial propriétes of comercial honeys from Portugal .*fode and Chemical Toxicologie V* 48 issue 2 P544-548
84. **Gordon L., Cloeckeaert A., Doublet B., Schwarcz S., Bouju-Albert A Ganiere J.P., Le Bris H., Le Fleche-Mateos A., Giraud E. (2008)**. Complete sequence of the floRcarrying multiresistance plasmid pAB5S9 from fresh water Aeromonas bestiarum. *J. Antimicrob. Chemother.* V 62, PP 65-71.
85. **Greek bee-honyes with antimicrobial activity**. *Food Chemistry* 129 :284-290.
86. **Guarch C (2008)**. Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, 72 p.
87. **Gurezou M N. Nadji N (2002)**. «Etude comparative entre quelques miels locaux et autre importés». Mémoire d'obtention d'ingénieur d'état en agronomie. Université de Djelfa. En français
88. **Gyles C.L., Fairbrother J.M (2010)**. Pathogenesis of bacterial infections in animals: Escherichia coli. Wiley-Blackwell, 4:267-307
89. **Hadda L, Larbi B, Samia B, Taha M, Soumia H. (2016)** Modélisation des effets antibactériens synergiques des caractéristiques du miel d'origines botaniques différentes du désert du Sahara en Algérie
90. **Haffejee Ie., Moosa (1985)**. Honey in the treatment of infantile gastroenteritis. *Br Med J (Clin Res Ed)*. Jun 22;290(6485):1866-7.
91. **Hamoudi, E. Boudershem, A (2009)**. l'effet antibactérienne du miel. Diplôme d'Etudes supérieures, Kasdi Merbah Ouargla
92. **Hawsworth DI(1991)**. the fungal dimention of biodiversity; magnitude, significance and conservation *MYCOL Res* 95:647 -655

93. **Huchet E, Julie C, Laurent. G (1996)** . les constituants chimiques du miel, Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.
94. **Ioiriche N (1979)** . Les abeilles, pharmaciennes ailées, 3ème édition, Moscou, Éditions Mir, 239p.
95. **Irish J., Carter D.A., Shokohi T., Blair S. E (2006)**. Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Medical Mycology*, 44 (3): 289-291
96. **Irlande D.** Le miel et ses propriétés thérapeutiques, Utilisation dans les plaies cutanées [en ligne]. Disponible sur : < [www.hippocratus.com](http://www.hippocratus.com) > (consulté le 18.02.15).
97. **Jasna Bertoneclj , Urška Doberšek , Mojca Jamnik , Terezija Golob (2007)** « Evaluation du contenu phénolique, de l'activité antioxydante et de la couleur du miel slovène » Volume 105, Numéro 2 , , Pages 822-828 chimie alimentaire
98. **Jean-prost ,P.(1979).**« La Botanique et ses applications agricoles et horticoles. Tomes 1.5 éd. Paris, 211p.
99. **Jeddar A., Kharsany A., Ramsaroop U.G., Bhamjee A., Haffejee I.E., Moosa A (1985)**. The antibacterial action of honey: an in vitro study. *S. Afr. Med. J.*, 67:257-258.
100. **Jenkins R., Burton N., Cooper R (2011)** . Effet of manuka honey on the expression of universal stress protein A in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Int J Antimicrob Agents*. Apr;37(4):373-6.
101. **Jérémy A (2012)**. titre Du miel à volonté P 09 edditio 1
102. **Jessica, Y- Y (2015)**. Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*». Thèse pour - l'obtention du diplôme d'état de Docteur en chirurgie dentaire .Université de Bordeaux.
103. **Joëlle R Jean-M B (2003)**. Les vertus du miel dans les thériaques selon les médecins arabo musulmans (IXe-XIIIe s.). In: *Revue d'histoire de la pharmacie*, , n°337., pp. 21-28.
104. **Jose M. Alvarez-Suarez Y E, Stefania R, Stefano B M B (2010)**. Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds *Toxicologie alimentaire et chimique* Volume 48, 8 à 9 , pages 2490-2499
105. **Jose Miguel A , Tulipani S , Stefania R• Enrico B , Maurizio Battino(2010)** .Contribution of honey in nutrition and human health: a review *Mediterr J Nutr Metab* 3:15–23
106. **Kacaniova M., Fatrcova-Sramkova K., Nozkova J., Melich M., Kadasi-Horakova M., Knazovicka V., Felsociova S., Kunova S., Mariassyova M. (2011)**. Antiradical activity of natural honeys and antifungal effect against *Penicillium* genera. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, 46 (1): 92-96.
107. **Kawkman P .H et Zaat S .A . (2012)**. Antibacterial components of Horney IUBMB *Life* 64:48-5-- BOGDANOV S ET BULMER P 2001 propriétés antibiotique naturelles du miel centre Suisse de recherches apicoles Station fédérale des recherches laitières Liebefeld CH -3003 Berne .PP :1-8
108. **Keast –Butler J (1980)**. Honey for necrotic malignantbreast ulcers.*Lancet* ii (October 11) 809

109. **Khalil MI, Sulaiman SA (2010)**. Le rôle potentiel du miel et de ses polyphénols dans la prévention des maladies cardiaques: examen Revue africaine des médecines traditionnelles, complémentaires et alternatives, vol. 7, n ° 4, , p. 315-321
110. **Kwakman PHS ,Velde AA ,Boer L ,Speijer D ,Vandenbroucke CMJH ,Zaat SAJ (2010)**. How honey kills bacteria FASEB J .24 (7) :2576 -82
111. **L. Vandamme 1, A. Heyneman 1, H. Hoeksema , J. Verbelen , S. Monstrey (2013 )**. Le miel dans le soin des plaies moderne: une revue systématique Volume 39, numéro 8 , décembre pages 1514-1525
112. **Laurent, C. (2014)**. L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat. Université de Poitiers
113. **Lequet L. (2010)**. Du nectar a un miel de qualité: Contrôles analytiques du miel et conseils Pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur; thèse de Doctorat en vétérinaire, numéro de thèse 085. Université de Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie).
114. **Ed Mir ,Moscou Les abielles pharmacienns aillées science por tous PP 40 -70**
115. **Lesley A Smith Fiona(2001)**. Campbell Kate Seers Henry J McQuay Systematic review of the use of honey as a wound dressing University of Oxford
116. **Lobreau-Callen, D. Marmion, V. Clément, M-C (2000)**. « Les miels. In techniques de l'ingénieur ». P.1-20.
117. **Louveaux .J (1968)**. composition ,proprieties et technologie du miel .In :CHAUVIN R traité de biologie de l'abielle. Editions Masson et Cie Paris .Tome 03 P 277-324 Piazza MG,Accorti M,Persano Oddo L 1991 .Electrialconductivity ,ash colour and specific rotatory power In Italian unifloral honey Apicultura V 7 P 51-63
118. **Lquet. L (2010)**. du nectar a un miel de qualité : controles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, thèse docteur vétérinaire, l'université claudebernard - lyoni ,pages 194
119. **Lusby P.E., Coombes A. and Wilkinson.J.M, (2002)**.Honey : A potent agent for woundactivity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1: 154-160
120. **M Rabiul Islam1, Tahmina Pervin1, Hemayet Hossain2, Badhan Saha3, Sheikh Julfikar Hossain (2017)**. Propriétés physicochimiques et antioxydantes des miels de la forêt de mangroves des Sundarbans au Bangladeshb Preventive Nutrition and Food Science; 22(4): 335-344
121. **Makhloufi, Ch. (2010)**. «Melissopalynologie et étude des élément bioactifs des miels Algérienne». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en science agronomiques. Université Alger.
122. **Mandal S., DebMandal M., Pal N.K., Saha K (2010)**. Antibacterial activity of honey against clinical isolates of Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa and Salmonella enterica serovar Typhi. Asian Pac. J. Trop. Med., 3(12): 961-964.
123. **Manischa Deb Mandal, Sahyamapad Mandal (2011)**, Honey: its medicinal property and antibacterial activity Asian Pac J Trop Biomed. 2011 Apr; 1(2): 154–160
124. **Marchenay P (1984)**. L'homme et l'abeille, édition : Berger Levrault .PP :43 -49
125. **Matthieu Eveillard (2007)**.Politique de dépistage de Staphylococcus aureus résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage,

- conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission  
UNIVERSITE D'ANGERS
126. **Meda .A, L C. E, Marco R. (2005)** . Determination of the total phenolic, flavonoïde and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. Food Chemistry, vol. 91, n°3, p. 571-577.
  127. **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.
  128. **Mesclé J.F et Zucca J(1996)** .les facteurs de developement in Microbiologie alimentaire ;Tomel (Bourgois C M Mesclé J .F et Zucca J editors )edition : Lavoisier Technique et Documentation Londres Paris New York Chapitre 1,PP :4-33
  129. **Michael Beaudry Ferland, (2011)**. Etude sur le staphylococcus aureus résistant à la méthlicilline chez le porc à laboraoire au québec , Canada Université de Montréal .
  130. **Miorin P. L., Levy Junior N. C., Custodio A. R., Bteritz W. A., Marcucci M. C (2003)**. Antibacterial activity of honey and propolis from Apis mellifera and Tetragonisca angustula against Staphylococcus aureus. J. Appl. Microbiology, 95: 913- 920
  131. **Mohamed Al-Mamary à, Ali Al-Meeri b, Molham Al-Habori ( 2002)**. Activités antioxydants et composés phénoliques totaux de différents types de miel Volume 22, numéro 9 , septembre, pages 1041-1047 Recherche en nutrition
  132. **Molan ,P.C (1992)**.«The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity». Bee world, vol.73, p.59-76..
  133. **MOLAN P.C (2002)** Honey provides an effective and harmless source of hydrogen peroxide for chemokine and antibacterial roles in wound care a paper presented at the 4th Australian Wound Management Association Conference Adelaide.
  134. **Molan P.C., Russell K.M (1988)**. Non-peroxide antibacterial activity in some NewZealand honeys. Journal of Apicultural Research, 27(1):62-67.
  135. **Molan P.C., White R.J., Cooper R., Dunford C (2000)**. The use of honey in wound management. Nurse Standard, 15(11): 63-68.
  136. **Molan PC. (1992)**. The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity. Bee world. 73: 5-28
  137. **Molan, P.C. (2001)**. «Why honey is effective as a medicine: 2- the scientific explanation of its effect». Bee World, vol.82, n°1, p.22-40
  138. **Morais, M. Moreira, L. Xesus, F. Estevinho, L.M (2011)**. «Honeybee- collected pollen from five Portuguese natural parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity». Food and chemical Taxicology, vol.49, p. 1096-1101.
  139. **Mostefa M, Messaoud B BACHAGHA Amel B(2010)** « Etude de l'effet antimicrobien de trois Echantillons du miel naturel récoltes du territoire Algérien » Vol. 2, N° 2
  140. **Murat , Sevgi k.engu L.Karaouglu B.Esri (2005)** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia Food Chemistry 100,PP:526-534

141. **Musulman N , Tahereh EO (2013 )**. Les utilisations traditionnelles et modernes de miel naturel dans les maladies humaines: Un examen Iran J Basic Med Sci . juin; 16 (6): 731–742
142. **Nair, S (2014)**. Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Travail de diplôme réalisé en vue de l’obtention du diplôme de Doctorat en biologie, biochimie, université d’Oran, 2014, p.157-158.
143. **Ndaisaba G., Bazira L., Habonimana E., Moteganya D (1993)**. Clinical and Bacteriological results in wounds treated with honey. J.Orthopedic Surgery, 7(2): 202-204.
144. **Nguyen HTL, Panyoyai N, Kasapis S, Pang E , Mantri N (2019)** Le miel et son rôle dans le soulagement des multiples facettes de l'athérosclérose V11 p 167\_215
145. **Nor Hayati O (2012)**. Le miel a-t-il les caractéristiques d'un vaccin contre le cancer naturel? Journal de médecine traditionnelle et complémentaire Volume 2, numéro 4 , octobre – décembre, pages 276-283 .
146. **Olaitan, P,Adeleke, O, (2007)**. Honey: a reservoir for microorganisms and an Inhibitory agent for microbes. African Health Sciences, vol. 7, n°3, p. 159-65..
147. **Osato M, Reddy S;Graham D (1999)**. Osmotic effect of honey on growth and viability of Helicobacter pylori. Dig Dis Sci. Mar;44(3):462-4
148. **Oudjet, K. (2012)**. Le miel une denrée à promouvoir. Infos-CACQE, p.1-3.
149. **Pascale . P (2013)**. Typage de *staphylococcus aureus* YPAGE DE STAPHYLOCOCCUS AUREUS PAR MLVA : ETUDE DE FAISABILITE DE LA DETECTION PAR HRM UNIVERSITÉ DE LORRAINE 2013.
150. **Pérez, C., Conchello, P , Ariño, A , Juan, T. et Herrera, A (1995)**. Physico-chemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. Food Chem. Vol (54):167–172.
151. **Pierre Jean (2005)** .Prost, livre Apiculture P382,(7 édition)
152. **Piotr S (2016)**. Activité antimicrobienne du miel
153. **PROST P. (1979)**. Apiculture, Paris, Edition J-B.Baillièrre, P.140-1, 270-2-3,303-15
154. **Radwan S. Elssawy- A.Sarhan M (1984)**. Experimental evidence for the occurrence in honey of specific substances active against microorganisms Zentralblatt fur Microbiologie 139-(4) :249-255
155. **Rahmanian M., Khouhestani A., Ghavifekr H., Tersarkissan N, Ionoso G. et al. (1970)**. High Ascorbic acid content in some Iranian honeys: Chemical and biological assays. J. Nutr. Metab., 12: 131-135.
156. **Roberts A, Brown HL, Jenkins R(2015)**. Sur les effets antibactériens du miel de manuka: perspectives mécanistiques Volume: 6 Pages 215—224 Université métropolitaine de Cardiff
157. **Rossant, (2011)**. Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 132 p
158. **Salwa, H.A.and Maher, A.A.M (2014)**. Antibacterial Potential and Physicochemical Properties. Global Advanced Research Journals, 3 (3): 049-058
159. **Sarfraz A, , Siti A S, Atif Amin B, Muhammad I, Sana L, Saira F,et al (2018)** Honey as a Potential Natural Antioxidant Medicine: An Insight into Its Molecular Mechanisms of Action Oxyd Med Cell Longev . v.2018; 2018 PMC5822819

160. **Schultsz C., Geerlings S (2012).** Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: Changing landscape and implications for therapy. *Drugs*, 72:1-16
161. **Schweitzer P (2005).** Encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France* N°917 .laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.p 03.
162. **Schweitzer,P. Un miel étrange...** [En ligne]. Disponible sur < [www.apiservices.com](http://www.apiservices.com) (Consulté le 20.02.15)
163. **Serrano Slaud, Villarejo Marta, Espejo Roberto, Jordal Manuela L (2007).** Diastase and invertase activities in Andalusian honeys. *Int.J.Food Sci. Technol.* 42,76-79.
164. **Seymour fi Wstks (1951).** Honey-its role in medicine .*Med Times* 79,PP 104-107
165. **Shin , H.S, Ustunol ,Z (2005) .** Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected instestinalbacteria : An in vitro comparison .*Food Research International* ,38:721-728
166. **Siess M.H., Le bon AM., Canivenc- lavier M.C., Amiot M.J., Sabatier S., Aubert S.Y., Suschetet M. (1996).** Flavonoids of Honey and Propolis, Characterization and effects on hepatic drug-metabolizing enzymes and benzo[a]pyrene-DNA binding in rats. *J. Agr. Food Chem.* 44: 2297–2301.
167. **Srisayam M., Chantawannakul P (2010).** Antimicrobial andantioxidant properties of honeys produced by Apis Mellifera in Thailand. *Journal of Apiproduct and Apimedical Science*, 2 (2): 77-83.
168. **Strateva T., Yordanov D (2009).** Pseudomonas aeruginosa - a phenomenon of bacterial resistance. *J Med Microbiol.*, 58: 1133-1148.
169. **Subrahmanyam M., Archan H., Pawer S.G (2001).** Antibacterial activity of honey on bacteria isolated from wounds. *Annals of Burns and FireDisaster*, 14(1): 124-128
170. **Sultan Ayoub , Salah Ahmed Al Asiri, Abdul Latief Mahesar ,Mohammad Javved Ansari (2017) .** Rôle du miel dans la médecine moderne , juillet, pages 975-978 *journal saoudien des sciences biologique*
171. **Tan Ht. Rahman RA., GAN SH. ( 2009)** The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. *BMC Complement Altern Med.*Sep 15; 9:34.
172. **Taormina P. J, Niemira B. A, Beuchat L. R (2001).** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *International Journal of Food Microbiology*, 69: 217-25.
173. **Terminalia mantaly (H.Perrier) (2011),, UNE COMBRETACÉE, SUR LA CROISSANCE IN VITRO DE Candida albicans.** V 80, p. 953 – 964
174. **Terrab A, Diez MJ, Heredia FJ (2002).** Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food Chemistry*; 79: 337-73.
175. **Theunissen F .Grobler S .et Gedalia I (2001).** the antifungal action of three South African honeys on Candida albicans, revue; *Apidologie* n°32 edition: INRA/DIB –AGIB /EDP Siences PP: 371-379
176. **Thomas, P. Barrett,J. Brennan,J. Moran, N(2005).** «Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey». *Journal of Microbiology Methods*, vol.64, n°1, p.84-95.
177. **Tomaz C (2010).**Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Thèse de doctorat, ecole nationale vétérinaire, univ. lyon, p 185.

178. **Torres,A. Garedeu,G. Schmlöz, E. Lamprecht,I (2004).** «Calorimetric investigation of the antimicrobial action and insight into the chemical properties of “angelita” honey, a production of the stingless bee *Tetragonisca angustula* from Colombia». *Thermochemica Acta*, vol.415, n°1-2, 7, p.107-113.
179. **Tovey Fi (1991).** Honey and healing .*J.R.Soc Med* 84 (7)PP 447-520
180. **Tremblay YDN, Hathroubi S et Jacques M( 2014).** les biofilms Bactériens: leur importance en santé animale et en santé publique *Canadian Journal of Veterinary Research* 78(2) :110-116
181. **V. M. French<sup>1</sup>, R. A. Cooper<sup>2</sup> and P. C. Molan (2005).** the antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* V 56, P228–231
182. **Van Delden C., Iglewski B. H (1998).** Cell-to-cell signaling and *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Emerg. Infect. Dis.*, 4: 551-560
183. **Velghe, C (2016).** «Miel valeurs nutritionnelle et bienfaits». Santé-MGC- Prévention. En ligne < [www.mgc-prevention.fr](http://www.mgc-prevention.fr) > Nutrition > Aliments et santé >. Consulté le 17 février 2017.
184. **Viduda M Martos Y Ruiz Navajas J Fermandaz Lopez JA Pérez Alvarez (2008).** Propriétés fonctionnelles du miel, de la propolis et de la gelée royale *Journal de la science alimentaire* v 73 P239
185. **Weese J.S. (2008).** A review of multidrug resistant surgical site infections. *V et. Comp. Orthop. Traumatol.*, 21:1-7.
186. **Westman E.L., Matewish J.M., Lam J.S (2010).** *Pseudomonas aeruginosa*: In: Pathogenesis of bacterial infections in animals. Wiley-Blackwell.(Gyles C.L., Prescott J.F., Songer .G, et al., Ed), 4th Edition:443- 448
187. **WHITE J. SUBERS M . SCHEPARTZ A (1963)** the identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose oxidase system: *Biochim. Bio-phys.Acta*, 73 : 57-70
188. **Wootton M., Edwards R.A., Rowse A (1978).** Antibacterial properties of some Australian honeys. *Food Technol.*, 175-178.
189. **Yao,L., Datta,N., Tomas-Barberan,F.A., Ferreres,F., Martos,I., & Singanusong,R (2003).** Flavonoid, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*,81(2),159-168
190. **Yapi G Y, Adou Koffi M K, Jacques A B t Allico J D** Évaluation de l'activité antifongique et essai de purification des principes actifs des extraits.
191. **Yatsunami K., Echigo T (1984).** Antibacterial action of honey and royal jelly. *Honeybee Sci.*, 5: 125-130.
192. **Zafar H. Israili, MS, PhD (2014).** Propriétés antimicrobiennes du miel p 304
193. **ZBUCHEA A (2014).** Up-to-date use of honey for burns treatment. *Ann Burns Fire Disasters*. Mar 31; 27(1):22-30

---

# *Annexes*

---

## Annexe 01

**Tableau.1.** Composition moyenne de miel (Olaitan et al., 2007; Bogdanov et al., 2008 ; Jesica, 2015).

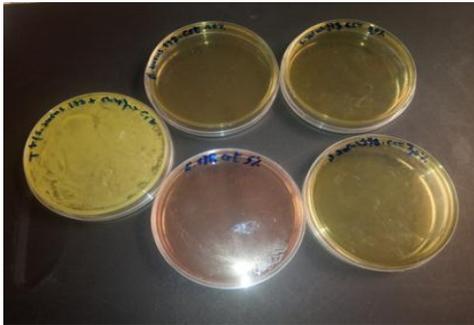
Composition	Pourcentage totale	Types de composés	Principaux composants
Hydrates de carbone	75 à 80%	- Monosaccharides - Disaccharides - Polysaccharides (1,5 à 8%)	- Fructose (38%), glucose (31%) Maltose (7, 3%), -iso maltose, saccharose (1, 3%) - Erllose, Raffinose, (dextrantriase, mélézitose, Kojibiose, mélibiose)...
Eau	15 à 20% (moyenne 17%)		
Substances diverses	1 à 5% (Moyenne 3, 5%)	- Acides organique (0,1 à 0,5%) - Protéines, peptides et acides aminés (0,2 à 2%) - Les vitamines - Enzymes - Minéraux	acide citrique, gluconique (0,1 à 4%), lactique, fumarique, etc. ... - Matières albuminoïdes, matières azotées, la défensine-(aspartique, glutamique, alanine, arginine, asparagine, cystine, glycine, méthionine, phénylalanine, ) - B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8 ou H, B9 et C - Amylase et gluco-invertase, glucose-oxydase (catalase, amylase, phosphatase acides) - Mg, Mn, K, Ca, Na, Fe, Cu, Se, S, Cl, Zn, (Co, B, Ci, Cr, Ni, Au, Ag, Ba, P, Cs)
(Lipides)	Traces	Acides gras	acide palmitique, oléique et linoléique, butyrique, caprique)
Pigments		Caroténoïdes et flavonoïdes	, méthylflavonol, catéchine, chrysine....
Arômes		- Esters - Aldéhydes et acetones - Alcools	- Méthyléthylcétone, méthylantranilate, acétates. - Formaldéhyde, acétaldéhyde... - Ethanol, méthanol, isobutano,

**Tableau.2.** Présentation des volumes de miel et volumes de milieu de cultures utilisé avec chaque souche pour cette étude

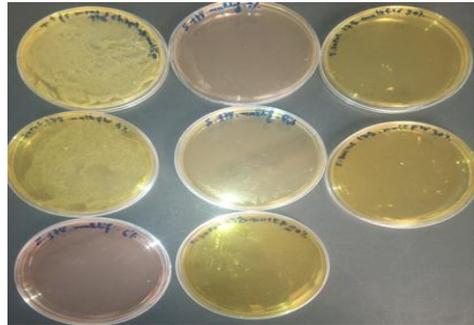
	Concentration % (X%)	Volume du miel (Y)	Volume de milieu de culture
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10%	1	9
	20%	2	8
	30%	3	7
<i>E. Coli</i>	10%	1	9
	12%	1.2	8.8
	15%	1.5	8.5
	20%	2	8
	30%	3	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	5%	0.5	09,5
	6%	0.6	09,4
	7%	0.7	09,3
	8%	0.8	09,2
	10%	1	9
	20%	2	8
	30%	3	7
<i>Candida albicans</i>	10%	1	9
	20%	2	8
	30%	3	7
	35%,	3.5	6.5
	40%	4	6

Annexe 02

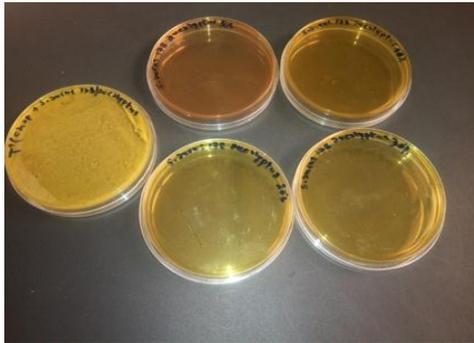
1. *Staphylococcus aureus* isolat d'un aliment (aliment)



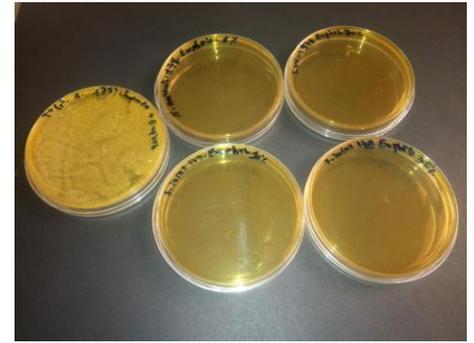
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale

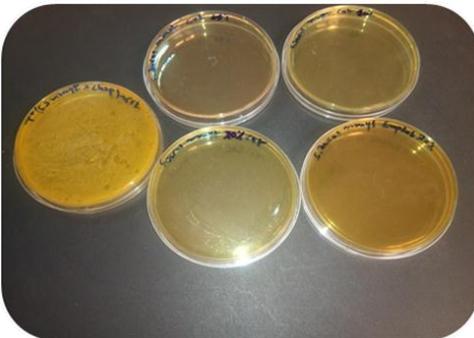


Avec le miel Eucalyptus

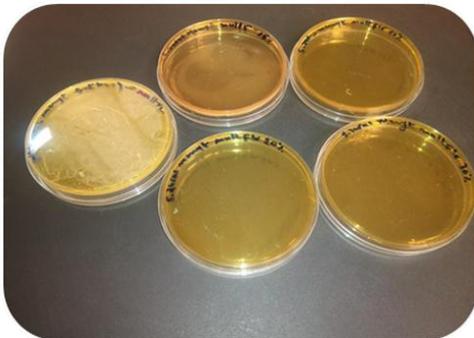


Avec le miel Euphorbe

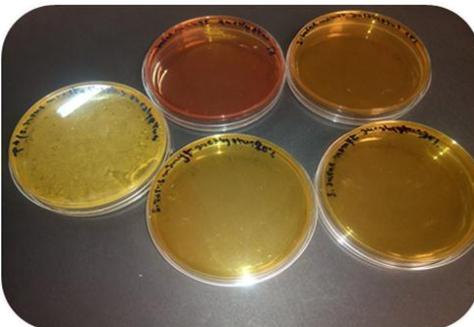
2. *Staphylococcus aureus* isolat d'un animal (mammite) :



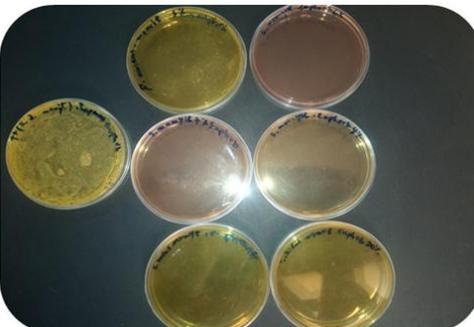
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale

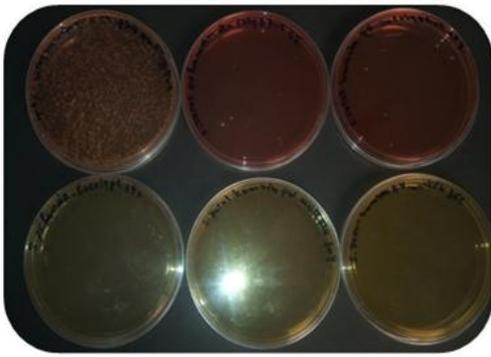


Avec le miel Eucalyptus

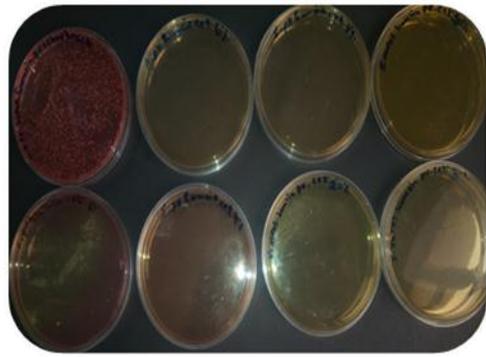


Avec le miel Euphorbe

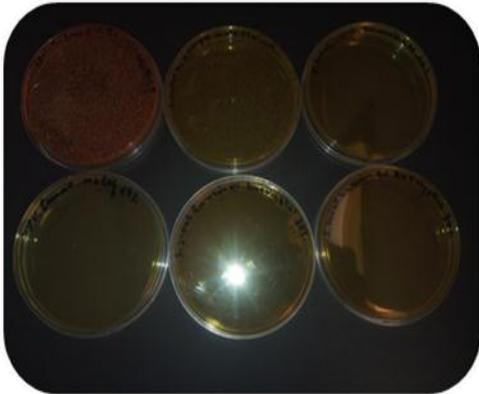
**3. *Staphylococcus aureus* isolat d'un humain (Prélèvement Vaginale)**



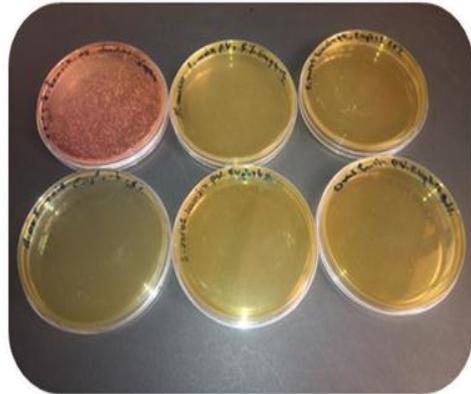
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale

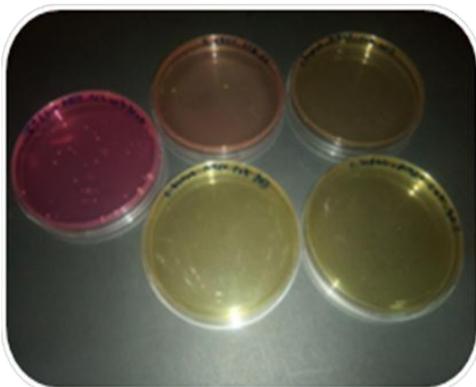


Avec le miel Eucalyptus

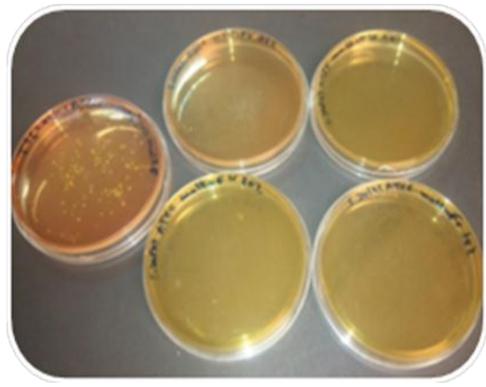


Avec le miel Euphorbe

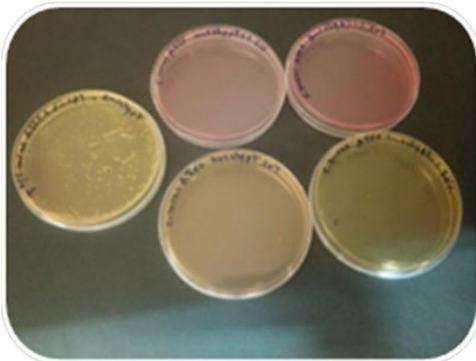
**4. *Staphylococcus aureus* référencié (ATCC)**



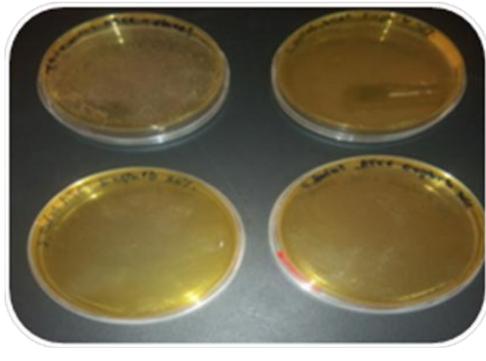
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale



Avec le miel Eucalyptus



Avec le miel Euphorbe

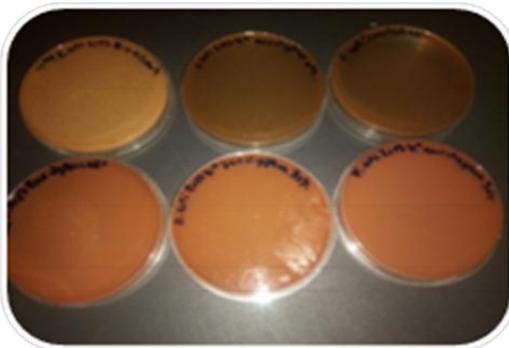
5. *Escherichia coli* (*E. coli* 2017 référencé)



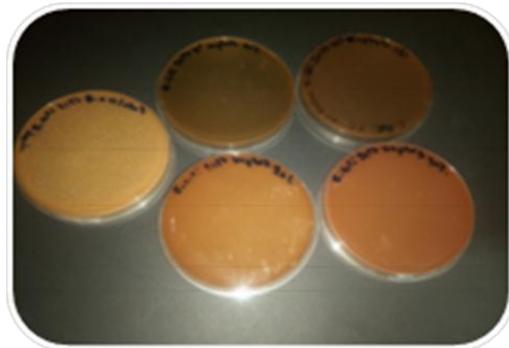
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale



Avec le miel Eucalyptus



Avec le miel Euphorbe

6. *Escherichia coli* (*E. coli* isola clinique polie)



Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale

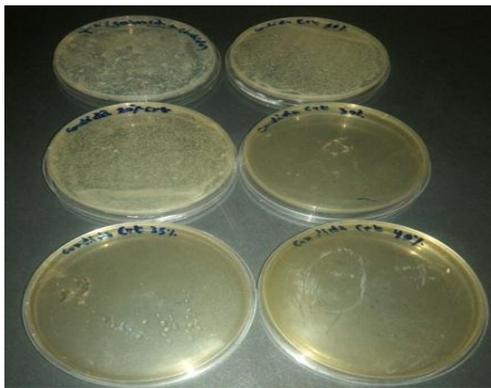


Avec le miel Eucalyptus

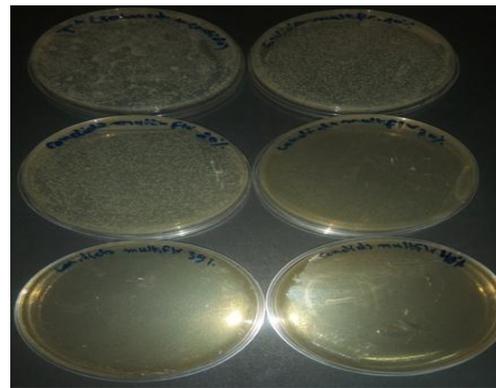


Avec le miel Euphorbe

**7-Détermination de CMI pour *Candida albicans* (isolat clinique d'un humain)**



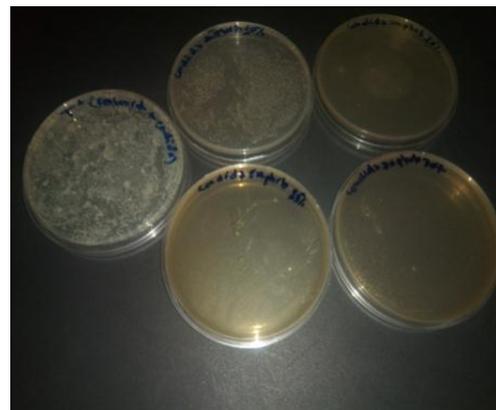
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale

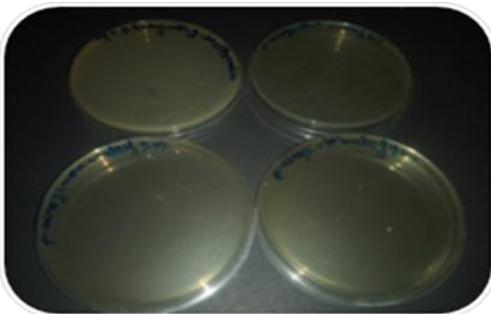


Avec le miel Eucalyptus

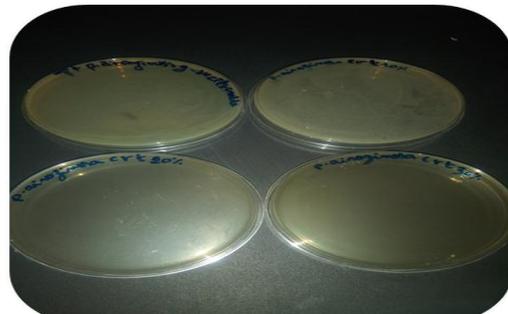


Avec le miel Euphorbe

**8. Détermination de CMI pour *Pseudomonas aeruginosa* :**



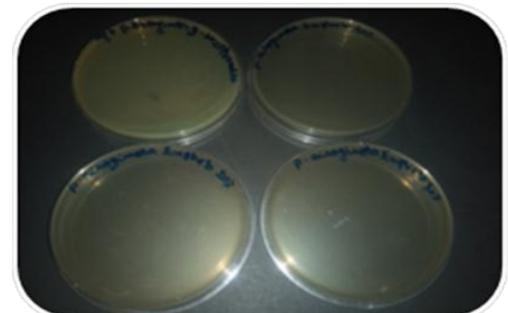
Avec le miel carotte sauvage



Avec e miel multi florale



Avec le miel Eucalyptus



Avec le miel Euphorbe

## RESUME

Ce travail est une évaluation *in vitro* de l'activité antibactérienne et antifongique de quatre variétés de miels naturels récoltés de différentes régions du territoire national. Nos échantillons de miel sont de différentes sources florales ; Euphorbe, Eucalyptus, Multi floral et carotte sauvage à l'égard de trois souches bactériennes : *Staphylococcus aureus* ; *Eschireshia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui compte parmi les agents responsables des maladies infectieuses, et une souche fongique *Candida albicans* à caractère pathogène.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antimicrobienne par la méthode d'Incorporation sur Milieu Solide. Il semble que l'effet inhibiteur de chaque variété de miel est significatif vis-à-vis les souches testées au dépend de la souche et le type de miel.

Notons que les deux variétés du miel Euphorbe et Eucalyptus présentant un contraste effet, alors que *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible à l'action de miel, par rapport à *l'Eschireshia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Candida albicans* sont considérés comme étant moins sensibles à l'activité du miel avec des CMI qui varient entre 05 % à 40 % ,

Les résultats obtenus *in vitro* montrent clairement l'impact positif du miel naturel sur la croissance bactérienne et fongique.

**Mots clés :** Activité antimicrobienne, Activité antifongique, Miel Natural, incorporation sur milieu solide, CMI.

## ملخص

يعتمد عملنا على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا والفطريات في المختبر لأربع عينات من العسل الطبيعي التي تم جلبها من مناطق مختلفة من الأراضي الجزائرية . عينات العسل المدروسة ذات مصادر مختلفة من الزهور ; ألبينية الكاليتوس متعدد الأزهار و عسل الجزر البري فيما يتعلق بثلاثة سلالات بكتيرية : المكورات العنقودية الذهبية , البكتيريا الاشريكية , البكتيريا الزائفة الزنجارية التي تعتبر من العوامل المسؤولة عن الأمراض المعدية . و المبيضات البيض من سلالة الفطريات الممرضة .

يتركز عملنا على تقييم النشاط الضد الميكروبي عن طريق تقنية الدمج على الوسط الصلب وقد أظهرت هذه التقنية أن التأثير المثبط كان في غالبية عينات من العسل المختبرة مع تقلب معين وفقاً لسلالة ونوع العسل. نلاحظ ان كلا الصنفين من العسل ألبينية و الكاليتوس لهما تأثير متباين , اذن المكورات العنقودية الذهبية كانت السلالة الأكثر حساسية لنشاط العسل مقارنة بالبكتيريا الاشريكية و الزايفة الزنجارية و المبيضات البيض تعتبر اقل حساسية لنشاط العسل بقيمة التركيز المثبط الأدنى متروحة بين 05% حتى 40%

النتائج المتحصل عليها في المختبر تبين التأثير الايجابي للعسل الطبيعي على النشاط البكتيري و الفطري . الكلمات الدالة : العسل الطبيعي ، النشاط المضاد للميكروبات ، التأثير المضاد للبكتيريا ، التأثير المضاد للفطريات ، تقنية التأسيس الصلبة ، إدماج , التركيز المثبط الأدنى .