

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR
ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE KASDI MERBAH DE OUARGLA

FACULTE DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE

DEPARTEMENT DES SCIENCES AGRONOMIQUES



Projet de Fin d'Etudes en vue de l'obtention
Du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie

Spécialité : Technologie alimentaire

THEME

CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE ET EFFET ANTIBACTERIEN DE QUELQUES TYPES DE MIELS

Présenté par :

M^{elle} DJAAFRI Fatima

M^{elle} REZZOUG Sara

M^{elle} OUNIS Karima

Devant le jury composé de :

HANNANI A.	MAB	UKMO	Président de jury
LOUNICI S.	MAB	UKMO	Promotrice
LOUNI S.	MAB	UKMO	Co-promoteur
CHOUANA T.	MAA	UKMO	Examineur
CHAICH K.	MAA	UKMO	Examineur

Remerciements

Avant tout, nous remercions en premier lieu ALLAH le tout puissant de nous avoir illuminé et ouvert les voies du savoir, et pour nous avoir accordé la volonté et le courage pour élaborer ce travail.

Au terme ce modeste travail nous tenons tout particulièrement à témoigner notre profonde gratitude à notre encadreur M^{me} LOUNICI SAFIA, Maître à la Faculté des Science de la Nature et de la Vie et des Science de la Terre et de l'Univers, pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de diriger ce mémoire.

Nos remerciements vont à notre co-promoteur M^r LOUNI SOFIANE, pour avoir accepté de nous encadrer et de nous suivre tout au long de la réalisation de ce mémoire de fin d'étude.

Madame HANNANI AMINA, Maître assistant à l'université de Ouargla, pour avoir accepté de présider ce jury.

Monsieur CHOUANA TOUFIK Maître assistant à l'université de Ouargla, pour m'avoir fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail. avoir accepté de présider ce jury.

Monsieur CHAICH KHALED Maître assistant à l'université de Ouargla, pour nous avoir fait l'honneur d'examiner et de juger ce travail.

Nous remercions spécialement Mr GUEZOUL OMAR pour son aide pendant toutes les années d'études.

Nous remercions aussi M^r.BEL LAROUCSI, M^r. HAMLAOUI et KHANGUAOUI AMINA pour leurs aides et leurs encouragements.

Notre remerciement s'adresse également à tous nos professeurs pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Enfin, nous remercions tous ceux qui de près ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail.

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AMC: amoxicillin+clavulanicacid

AMP : ampicillin

AMX : amoxicillin

ATB : Antibiogramme

ATCC : American Type Collection Culture

BHIB : bouillon cœur cerveau

CAZ : ceftazidime

CEF: cephalothin

CHL: chiofamphenicol

CHU : Centre hospital Universitaire.

CMI : Concentration minimale inhibitrice

ENR: Enrofloxacin

ERY: Erythromycin

FAO: Food and Agriculture Organization

GM: gentamicin

GMN: gentamicin

h : heures

HMF: hydroxyméthylfurfural

LVRL : Laboratoire Vétérinaire Régional de Laghouat

M1 : miel Montagnard

M2 : miel d'Eucalyptus

M3 : miel Multi floral

M4 : miel de Cidre
M5 : miel lebina
MH: milieu de Mueller Hinton
N: neomycin
NAL: nalidixicaci
NEO: neomycin
NOR: norfloxacin
OAD: oxolinicacid
OXC: oxacillin
PEN: penicillin
R: Resistant
S: Sensible
SPN: spiramycin
SXT: trimethoprim+sulfamethoxaole
TET: tetracycline
UBN : flumequine
UCL : Université catholique de Louvain
XNL : ceftiofur

Table des matières

Introduction générale	1
<i>Chapitre I. Le miel.</i>	
1. Historique	2
2. Définition	2
3. Origine	3
3.1. Nectar	3
3.2. Miellat	3
4. Formation du miel	4
5. La conservation	5
6. Les principales variétés du miel	6
6.1. Le miel monofloral	6
6.2. Les miels polyfloraux	6
7. Composition du miel	6
7.1. Eau	7
7.2. L'hydroxyméthylfurfural (HMF)	8
7.3. Les glucides	8
7.4. Les acides	8
7.5. Les Lipides	8
7.6. Les Protéines	9
7.7. Les sels minéraux	9
7.8. Enzymes	9
7.9. Les vitamines	9
8. Les propriétés du miel	9
8.1. Les propriétés physiques du miel	9
8.1.1. Les poids spécifiques	9

8.1.2.	Les viscosités	10
8.1.3.	La coloration des miels	10
8.1.4.	La cristallisation	10
8.1.5.	La chaleur spécifique	11
8.1.6.	L'abaissement du point de congélation	11
8.1.7.	La conductibilité électrique	12
8.1.8.	L'indice de réfraction	12
8.1.9.	La florescence	12
8.1.10.	Le pouvoir rotatoire	12
8.1.11.	La turbidité	12
8.2.	Propriétés chimiques du miel	13
8.2.1.	L'hygroscopie	13
8.2.2.	Le potentiel d'Hydrogène (pH)	13
8.3.	Propriétés biologiques du miel	13
8.3.1.	Propriétés nutritives	13
8.3.2.	Propriétés thérapeutiques	13
8.4.	Propriétés organoleptiques	14
8.4.1.	La couleur	14
8.4.2.	La saveur	14
8.5.	Propriétés antibactériennes	14
9.	L'utilisation du miel	14
9.1.	Utilisation du miel comme cicatrisant	14
9.2.	En alimentation	16
9.3.	Médicament ou tonique	17
9.4.	Autres usages	17
10.	Antibiothérapie du miel	17
10.1	L'effet antibactériennes	17
10.2	Effet antioxydant	18
10.3	Action anti-inflammatoire	19
10.4	Action antifongique	19
10.5	L'activité anti-mycobactérienne	19
10.6	Action antiseptique	19

10.7	Miel et système immunitaire	19
------	-----------------------------	----

Chapitre II. Les antibiotiques.

1.	Définition	21
2.	Historique	21
3.	Mode d'action des antibiotiques	21
3.1.	Sur la paroi bactérienne	22
3.2.	Sur les ribosomes	22
3.3.	Sur l'ADN	22
4.	Antibiogramme	22
4.1.	Principe	22
4.2.	Techniques classiques	23
4.2.1.	Méthodes de dilution	23
4.2.1.1.	En milieu liquide	23
4.2.1.2.	Technique en milieu liquide couramment utilisée	24
4.2.2.	Méthodes de diffusion : antibiogramme standard	24
5.	Evaluation de l'activité des antibiotiques	26
6.	Choix d'une antibiothérapie	26
7.	l'Antibiorésistance	27
8.	Toxicité des antibiotiques	28

Chapitre III. Matériel et méthodes

1.	Matériel utilisé	29
	Miel	29
	Souches bactériennes	29
2.	Matériel d'analyses	31
2.1.	Echantillonnage	31
2.2.	Analyses physico-chimiques	31
2.2.1	Le potentiel d'hydrogène (pH)	31
2.2.2	La conductibilité électrique	32
2.2.3	Teneur en eau	32

2.3.	Analyse pollinique	33
2.3.1	Méthode classique	33
2.4.	Etude du pouvoir antimicrobienne du miel	35
2.4.1	Technique de disque	35

Chapitre VI : Résultats et discussions.

1.	Résultats des analyses physico-chimiques	38
1.1.	le potentiel d'Hydrogène (pH):	38
1.2.	La conductibilité électrique	39
1.3.	Teneur en eau.	40
2.	Résultats de l'analyse pollinique	41
3.	Résultats de l'effet antibactérien	44
3.1.	Effet des miels sur <i>Escherichia coli</i> .	44
3.2.	Effet sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	46
3.3.	Effet des miels sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	48
3.4.	Effet sur <i>Bacillus cereus</i> .	49
3.5.	Effet sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	51
3.6.	Effet sur <i>Enterococcus faecalis</i> .	52
	Conclusion générale	57

Liste de figure

Figure n°01	Composition moyenne du miel	7
Figure n°02	Brûlure du 2ème degré avant et après traitement par le miel	16
Figure n°03	Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.	23
Figure n°04	Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.	24
Figure n° 5	Droite de concordance établie pour l'amoxicilline avec un disque chargé à 25 µg.	25
Figure n°06	Les unités des différents miels utilisés.	29
Figure n°07	Tubes de conservation des Souches utilisées	30
Figure n° 08	Le pH-mètre utilisé de type WTW series inolab PH730	31
Figure n°:09	Le conductimètre électrique utilisé de type WTW series inolab cond720	32
Figure n°10	Refractomètre de type novex	33
Figure n°:11	Centrifugeuse de type SIGMA 4-16	34
Figure n°12	Les calibres de la Centrifugeuse	34
Figure n°13	Application des disques d'antibiotiques	36
Figure n°14	L'incubateur.	37
Figure n°15	Lecture	37
Figure n°16	Le pH de chaque miel.	38
Figure n° 17	Laconductibilité électrique de chaque miel.	39
Figure n°18	La teneur en eau de chaque miel.	41
Figure n°19	Vue microscopique des grains de pollen du miel n°2 (40X).	42
Figure n°:20	Vue microscopique des grains de pollen du miel n°3 (40X).	43

Figure n°:21	Vue microscopique des grains de pollen du miel n°4 (40X).	43
Figure n°:22	Vue microscopique des grains de pollen du miel n°5 (40X).	43
Figure n°23	Effet inhibiteur de différents types et concentrations de miels sur la croissance d' <i>Escherichia coli</i> .	45
Figure n° 24	Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).	47
Figure n° 25	Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de <i>S.aureus</i> (ATCC 43300).	47
Figure n° 26	Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .	49
Figure n° 27	Effet inhibiteur des différents types et concentration des miels sur la croissance de <i>Bacillus cereus</i> .	50
Figure n°28	Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de <i>Klebsiella pneumoniae</i> .	52
Figure n°29	Effet inhibiteur des différents types et concentration de miel sur la croissance d' <i>Enterococcus faecalis</i> .	53

Liste des tableaux

Tableau n° 01	Souches bactériennes.	29
Tableau n° 02	Les antibiotiques utilisés.	30
Tableau n° 03	Origine des différents miels utilisés.	31
Tableau n°04	La moyenne du potentiel d'hydrogène des différents échantillons de miel.	38
Tableau n° 05	La moyenne de la conductibilité des différents échantillons de miel.	39
Tableau n°06	La moyenne de la teneur en eau en % des différents échantillons de miel.	40
Tableau n°07	Effet des miels sur <i>Escherichia coli</i> . Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm \pm écart type.	44
Tableau n°08	Effet des antibiotiques sur <i>Escherichia coli</i> .	45
Tableau n°9	Effet du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923). Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm \pm écart type.	46
Tableau n°10	Effet du miel sur <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 43300). Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm.	46
Tableau n°11	Effet des antibiotiques sur les deux souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .	47
Tableau n°12	Effet du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i> . Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm.	48
Tableau n°13	Effet des antibiotiques sur <i>P. aeruginosa</i> .	49
Tableau n°14	Effet du miel sur <i>Bacillus cereus</i> . Les chiffres représentent les	50

	diamètres da la zone d'inhibition en mm± écart-type.	
Tableau n°15:	Effet du miel sur <i>Bacillus cereus</i> . Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm.	50
Tableau n°16	Effet du miel sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm.	51
Tableau n°17	Effet du miel sur <i>Klebsiella pneumoniae</i> . Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm.	51
Tableau n°18	Effet du miel sur <i>Enterococcus faecalis</i> . Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm ± écart-type.	53
Tableau n°19	Effet des antibiotiques (diamètre en mm) sur <i>Enterococcus faecalis</i> .	53

Introduction générale

Introduction générale :

Actuellement, plusieurs questions se sont soulevées concernant l'efficacité et la sécurité des produits chimiques utilisés en médecine ou dans l'industrie alimentaire.

En effet, le développement de la résistance des micro-organismes aux divers antibiotiques préoccupent les spécialistes en médecine.

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne des aliments.

Le miel est la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée (*DONADIEU, 2003*).

Le miel, substance sucrée totalement naturelle est l'un des produits issus de la ruche employé depuis des millénaires par de nombreuses civilisations, pour ses qualités nutritionnelles et ses utilisations thérapeutiques.

Des usages médicaux sont également évoqués dans diverses pharmacopées, notamment pour le soin des plaies infectées ou pour donner du tonus.

De nos jours, devant l'essor des médecines naturelles et face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels, le miel peut être un atout grâce à ses activités thérapeutiques et surtout antibactériennes.

Dans ce travail, nous présentons une synthèse des connaissances actuelles sur les propriétés générales et spécifiques du miel et notamment sur son pouvoir anti-bactérien révélé *in vitro*,

En effet, c'est dans la perspective d'évaluer, *in vitro*, l'activité antibactérienne de cinq échantillons différents de miel naturel, provenant du même pratiquant, sur sept souches de bactéries pathogènes de référence que ce travail est fait.

Chapitre I

Le miel.

Chapitre I. Le miel.

1. Historique :

Les produits de la ruche ont toujours fasciné les hommes. Le miel d'abord, qui a constitué pendant des millénaires en occident la seule source abondante de matières sucrées dont on pouvait disposer. Mais aussi la cire, première matière plastique connue, dont le principal emploi était l'éclairage. La fermentation, aussi, une des plus anciennes boissons alcooliques de l'humanité, dont on faisait jadis une consommation impressionnante. Quant à la propolis, cette résine que les abeilles récoltent sur les bourgeons des arbres, était mal distinguée de la cire, mais on l'utilisait dans le folklore médical pour le pansement des blessures.

Le miel est donc un aliment que l'humanité connaît depuis la nuit des temps. Les usages qu'en faisaient les Anciens étaient très variés, que ce soit en Egypte où, considéré comme source d'immortalité, il servait à conserver la dépouille du pharaon, à Babylone où il était employé en ophtalmologie et pour les maladies de l'oreille et en Afrique où il joue un grand rôle dans l'alimentation et la pharmacopée pour soigner les brûlures les morsures de serpent ou les plaies infectées.

L'origine du mot miel est à rechercher dans le mot *Sanskrit medhu*. Connue sous le nom de *Melikraton* durant toute l'Antiquité, il a eu une valeur religieuse très importante. Chez les Scandinaves, il donnait l'hydromel, la boisson des dieux, à Babylone on l'offrait en sacrifice aux divinités à l'occasion de la construction d'un temple. En Afrique, il avait une grande importance dans le rituel de la naissance et de la mort comme en Inde ou chez les Germains.

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

2. Définition :

<< Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques

qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche >> (**ANONYME, 2001**).

Les miels produits par des espèces proches de l'abeille mellifiques domestique telles que *Apis cerana* et *Apis dorsata*, ou encore par les abeilles mélipones² ou par les bourdons, seront obligatoirement identifiés autrement, leur composition en sucres étant très différente (**JOSHS et al, 2000**).

3. Origine :

3.1. Nectar :

Le nectar est une substance sucrée produite par les fleurs. Les plantes ne peuvent se déplacer et se mouvoir. Pour se reproduire, elles ont besoin d'un moyen pour transporter le pollen, élément fécondant, d'une fleur à l'autre. Ce moyen de transport peut être le vent ou les insectes. Pour attirer les insectes, les plantes produisent le nectar, le plus souvent, par des glandes situées à la base des pétales, des étamines ou de l'ovaire qui obligent l'insecte à se mettre en contact avec les étamines qui déposent le pollen sur leur corps. La concentration du sucre du nectar varie entre 10 et 65-70 % (**ROMANO et al, 2009**).

3.2. Miellat :

Il s'agit d'un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des Homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons).

Ces insectes piqueurs perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève, et rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés, le miellat. Ce dernier est plus dense en sucre que le nectar, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes (**CLEMENT, 2002**).

Les plantes hôtes de ces insectes sont essentiellement les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne. Le miellat est récolté par les abeilles en complément ou en remplacement du nectar afin de produire un miel plutôt sombre, moins humide que le miel de nectar. Toutefois, la récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire et dépend de nombreux facteurs climatiques continues. De plus, tous les miellats ne conviennent pas aux abeilles (**CLEMENT, 2002 ; DELEGUE, 1999**).

4. Formation du miel :

Les abeilles appartiennent à l'ordre des Hyménoptères qui regroupent 20000 espèces d'abeilles. Toutes collectent du nectar et du pollen, s'en nourrissent et participent sans relâche à la pollinisation des plantes et au maintien des équilibres naturels.

Toutes les abeilles productrices de miel ne font pas l'objet d'un élevage. C'est l'abeille mellifère et ses races que l'on retrouve un peu partout à travers le monde, car c'est la plus intéressante à élever, c'est elle qui assure les meilleurs rendements. De nombreux rôles sont définis à l'intérieur de la ruche comme gardiennes, ouvrières, butineuses... Chaque abeille accomplira au cours de sa vie toutes ces fonctions.

Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demande environ 15 minutes. Le rayon d'action moyen se situe entre 500 mètres et 2 kilomètres, d'où l'importance, en plus des conditions climatiques et de la nature du sol, de la végétation des alentours du rucher. La butineuse prélève sur les fleurs le nectar liquide sucré et sécrété puis excrété par des glandes dites nectarifères présentes sur de nombreuses plantes.

Le changement de la solution sucrée en miel commence déjà lors du voyage, au cours duquel elle est accumulée dans le jabot de l'abeille. C'est dans son tube digestif que s'amorce la longue transformation : des enzymes agissent sur le nectar. Le saccharose, sous l'action de l'invertase, se transforme en glucose, fructose, maltose et autres sucres. Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. A son retour, la butineuse régurgite sa charge et la passe aux ouvrières qui, elles-mêmes, la communiquent à d'autres et ainsi de suite.

D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucs gastriques et de substances salivaires : invertase, diastase, et glucooxydase. Simultanément, d'autres sucres qui n'existent pas au départ sont synthétisés. La goutte épaisse est déversée ensuite dans une alvéole qui sera, après évaporation, obturée par un opercule de cire. A ce moment, la solution sucrée transformée, qui contient encore 50% d'eau environ, va subir une nouvelle concentration par évaporation qui se fait sous la double influence :

1. D'abord de la chaleur régnant dans la ruche et qui est d'environ 36°C

2. Ensuite de la ventilation assurée par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes. On arrive ainsi à

une proportion d'environ 20% d'eau et de 80% de sucres, correspondant aux pourcentages normaux du miel.

Evaporation de l'excès d'eau et concentration en sucres sont donc les deux objectifs principaux. Grâce à cela, la colonie dispose en réserve d'un aliment hautement énergétique et stable, de longue conservation et peu sensible aux fermentations. Les bâtisseuses l'utilisent pour fabriquer la cire servant à la construction des cellules de la ruche.

Heureusement pour l'homme, la quantité emmagasinée dans la ruche est largement supérieure aux besoins immédiats de la colonie (l'abeille possède un fort instinct de stockage).

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée quand la ruche est devenue très lourde (mi-avril, mi-mai). L'apiculteur retire les cadres de miel, mais en laissant aux abeilles les provisions nécessaires pour qu'elles puissent nourrir les jeunes larves et éventuellement passer l'hiver si la saison est avancée. C'est pourquoi la ruche est divisée en deux parties :

Une partie inférieure, le corps qui contient de hauts rayons garnis non seulement de miel, mais aussi de pollen et de couvain : il ne faut pas y toucher. Au-dessus est placée la hausse garnie de cadres, moitié moins hauts, qui ne contient en général que du miel : c'est d'elle que l'apiculteur va obtenir sa récolte. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, il transporte les hausses dans la miellerie, et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer. (HUCHET et al, 1996).

5. La conservation :

Pour une bonne conservation du miel, pendant de nombreux mois, il faut faire attention à 3 facteurs : l'humidité, la chaleur et la lumière. Si celui-ci est soumis à une température trop importante, il s'en suivra une dégradation des sucres, une perte d'arôme et une augmentation de l'acidité.

En règle générale, la conservation du miel se fera à température constante, dans un récipient étanche placé dans un endroit sec et à l'abri de la lumière. Grâce à ses 67 hautes teneuses en sucre, il se conserve très longtemps. Il se consomme idéalement dans les deux ans. Un miel cristallisé supporte mal les excès de température (plus de 25°C), qui risquent de provoquer l'effondrement de sa structure cristalline (déphasage). Il faudra donc le conserver dans un endroit où la température ne dépasse pas 20°C (deux ans au maximum). S'il est

liquide, une température d'environ 25°C est souhaitable. Il faudra cependant le consommer rapidement et idéalement dans les 6 mois. Un miel trop humide sera conservé à 11°C, pour éviter sa fermentation. Comme les miels absorbent l'eau, les pots seront fermés avec un couvercle hermétique et l'on évitera de les stocker dans un endroit trop humide. En hiver, des marbrures blanchâtres peuvent apparaître sur les parois du pot. Il s'agit la plupart du temps, de microscopiques bulles d'air qui demeurent prisonnières entre la paroi du pot et la masse de miel, et qui se rétractent en cristallisant. Regrettables sur le plan esthétique, elles n'altèrent en aucune manière la qualité du miel (BLANC, 2010).

6. Les principales variétés du miel :

6.1. Le miel monofloral :

Cette variété du miel se réfère au site principal de butinage des abeilles, et prend le nom de la plante sur laquelle elles se sont concentrées. Les types de miel monofloraux courants proviennent du trèfle, de l'acacia, du tilleul et du tournesol. Le miel monofloral est plus cher que le miel polyfloral.

Le miel mono-floral léger comme celui de la fleur d'oranger ou de l'acacia – à cause de sa belle apparence – coûte toujours plus cher que les mélanges de miels. (BRADBEAR, 2010)

6.2. Les miels poly-floraux :

Les miels poly-floraux sont les plus communs en Suisse et proviennent de plusieurs sources botaniques.

On peut trouver des miels de fleurs mélangées, les miels de châtaignier et tilleul, les miels de fleurs de montagne, etc. Les abeilles produisent un miel différent chaque année (goût, odeur, etc.) parce que la floraison des plantes dépend du climat, de la température et des précipitations, etc.

Les abeilles recueillent le nectar des fleurs distantes jusqu'à 2 km de la ruche. Quand deux floraisons arrivent en même temps, les abeilles préfèrent le nectar qui possède la plus grande concentration de sucre. (ROMANO, 2009)

7. Composition du miel :

Comme nous l'avons vu précédemment, le nectar à l'origine du miel possède une composition différente pour chaque plante.

Cette différence, aussi infime soit-elle, se retrouve dans les miels, ce qui leur donne une saveur, une couleur ainsi qu'une évolution propre. Comme pour les vins, les récoltes de miels sont différentes selon les régions, mais aussi selon les conditions climatiques de l'année. (WYKESG, 1952).

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 (sucrose, etc.) (JEREMY, 2012)

- Hydrates de carbones (sous formes de sucres divers) : 79,5%
- Eau : 17%
- Divers : 3,5%

Il est évident qu'en réalité, cette composition est beaucoup plus complexe et aujourd'hui, tous les constituants sont loin d'être connus (figure 1).

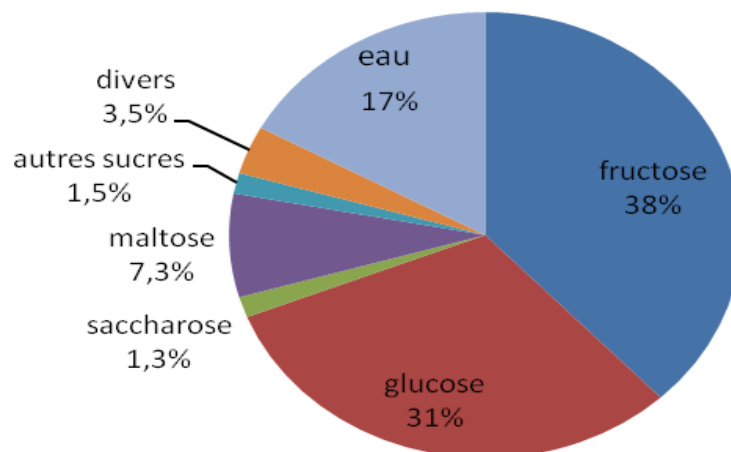


Figure n° 01 : Composition moyenne du miel (BRUNEAU, 2002).

7.1. Eau:

La teneur en eau dans le miel s'élève le plus souvent à moins de 20 %. Il dépend de la miellée, du climat, du type de ruche et d'autres facteurs. La teneur en eau détermine de façon

prépondérante la conservation du miel. Seuls les miels avec une teneur en eau inférieure à 17% sont stables lors de la conservation et ne fermentent pas. (BOGDANOV et al., 2006)

7.2 .L'hydroxyméthylfurfural (HMF) :

L'hydroxyméthylfurfural (HMF), produit de dégradation des sucres, apparaît seulement après la récolte du miel. Selon le Manuel suisse des denrées alimentaires, le miel frais, naturel, ne peut contenir que 15 mg d'HMF/kg, alors que pour les autres miels du commerce, 30 mg/kg au maximum sont tolérés. (BOGDANOV, 2006)

7.3. Les glucides :

Des glucides ou sucres, présents en grande quantité : 78 à 80%. La majorité sont des sucres simples (environ 90% des sucres totaux) avec une prédominance pour le fructose, davantage que le glucose. Une petite quantité de disaccharides (sucrose, maltose, isomaltose), Trisaccharides et oligosaccharides sont également présents et caractéristiques de leur origine Botanique. (DELPHINE, 2010)

7.4. Les acides :

Les miels contiennent des acides organiques (dont certains sont volatils), ainsi que des lactones. Leur provenance est diverse : certains sont issus du nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions enzymatiques et de fermentations.

Les acides identifiés dans le miel sont : l'acide gluconique (constituant acide majoritaire, issu du glucose), les acides butyriques, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide proglutamique, l'acide malique et l'acide citrique.

L'acidité totale est la somme des acides libres et des lactones. Légalement, elle ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents par kg. Pour les miels destinés à l'industrie, la limite tolérée est de 80 milliéquivalents. (LEQUET, 2010).

7.5. Lipides :

Le miel est pauvre en lipide : ceux qu'on y trouve sont probablement des microparticules de cire qui échappaient à la filtration (HUCHET et al, 1996 ; LOUVEAUX, 1986) , identifie cependant, des glycérides et des acides gras tels que l'acide palmitique les acide oléiques et linoléique.

7.6. Protéines :

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0,26%) et la teneur en azote est négligeable, de l'ordre de 0,041%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectars, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille. 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. La quantité de proline donne une indication sur la qualité du miel, et elle ne doit pas être inférieure à 183 mg/ kg (**MEDA et al, 2005**).

7.7. Les sels minéraux :

Il s'agit surtout du potassium, du sodium, du manganèse, du cuivre et du calcium .Leur teneur est en moyenne de 0,17% (**PHILLIPPE, 1993**).

7.8-Enzymes :

Le miel contient plusieurs enzyme qui peuvent provenir selon (**HAMMOUDI et BOUDERHEM, 2009**) des abeilles, du pollen du nectar, ou encore des microorganismes.

D'après **DONADIEU(2006)**, les principaux enzymes sont les amylases alpha et bêta, la gluco-invertase et la gluco-oxydase. On trouve également de la catalase ainsi qu'une phosphatase (**CHAUVIN, 1968**).

7.9-Les vitamines :

Le miel contient peu de vitamines. On y trouve essentiellement des vitamines du Groupe B: vitamines B1, B2 B3 (appelée aussi PP), B4 et B5. Parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, Ket D. (**CLEMENCE, 1980**)

8. Les propriétés du miel :

8.1. Les propriétés physiques du miel :

8.1.1. Les poids spécifiques :

Le poids spécifique s'apprécie avec un densimètre. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels. On peut admettre une moyenne de 1.4225 à 20°C. (**DESCOTTES, 2004**).

8.1.2. Les viscosités :

La viscosité diminue quand la température s'élève jusqu'à 30°C. Elle est en fonction de la température, de la teneur en eau et des autres constituants du miel, en particulier de la composition des différents sucres (**PROST, 2005**).

8.1.3. La coloration des miels :

La teinte a été étudiée dans un but pratique : elle constitue un facteur de classement important au plan commercial. Les travaux à caractères fondamentaux sont rares et on connaît mal les substances qui sont responsables de la coloration des miels.

Coloration :

miel clair = incolores.

miel foncé = presque noir

La mesure de la couleur des miels est assez difficile dès que l'on recherche la précision. Le classement par simple appréciation visuelle est subjectif et erroné. C'est pourquoi, Aubert et Gonnet ont entrepris d'étudier la couleur des miels à l'aide de la méthodologie trismulaire d'analyse spectrophométrique adoptée par la convention internationale de l'éclairage. Cette méthode permet d'effectuer le classement précis des miels très clairs ou très foncés, difficiles à différencier par les comparateurs visuels.

La couleur des miels est due aux matières minérales qu'il contient. La teneur en cendres des miels est inférieure à 1%, la moyenne étant 0.1%.

La variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit de miels très clairs; les plus foncés étant les plus minéralisés. (**HUCHET et al, 1996**)

8.1.4. La cristallisation :

Le miel est une solution sucrée sursaturée et, lorsqu'il est stocké dans les rayons de la ruche, il est généralement à l'état liquide. Mais c'est un état instable. Sous l'effet de la température et de la présence de germes de cristallisation (poussière, cristaux de glucose, grains de pollen), la cristallisation du miel s'amorce. Le processus de cristallisation des sucres est dépendant des rapports glucose/fructose et glucose/eau. La connaissance de ces rapports peut prédire l'aptitude des miels à cristalliser : elle sera faible pour un rapport glucose/eau

inférieur à 1,7 mais très importante si cette valeur atteint 2,1 (**SABLE, 1997**). En effet, le glucose est peu soluble dans l'eau, il cristallise donc rapidement, alors que le fructose reste liquide.

Un miel riche en glucose (teneur proche de 40%), cristallisera en deux à trois jours et pourra même cristalliser dans les hausses, comme c'est le cas pour les miels de colza ou de pissenlit. A l'opposé, les miels très riches en fructose (teneur supérieure à 42%), comme les miels d'acacia et de sapin, resteront liquides pendant plusieurs années.

La plupart des miels se situent entre ces deux extrêmes et cristallisent naturellement en une à quatre semaines.

Pour que les cristaux se forment, il faut que les molécules de glucose rencontrent des germes de cristallisation, appelés aussi particules d'ensemencement, et s'y agglutinent. L'eau intervient également dans la vitesse de cristallisation ; en effet, trop d'eau perturbe ces rencontres ; au contraire, s'il n'y a pas assez d'eau, le miel sera tellement visqueux que les molécules ne pourront plus se déplacer et cristalliser. La température a un effet similaire, une température basse favorisant la viscosité du miel et une température élevée faisant vibrer les molécules de glucose et les empêchant de former des cristaux. Au-delà de 30°C, la cristallisation d'un miel est arrêtée. Pour une humidité de 18%, la température optimale de cristallisation est de 14°C (**BRUNEAU, 2002**).

8.1.5. La chaleur spécifique :

Elle a été étudiée par Helvey à l'aide de dilutions de miel de plus en plus fortes. La courbe obtenue varie très peu d'un miel à l'autre, et correspond à 0.54 pour 17% d'eau. La chaleur de dilution apparaît lorsqu'on ajoute de l'eau au miel : il y a alors production de chaleur. Par exemple, si un miel normal est dilué jusqu'à la concentration de 3%, chaque gramme aura produit 5.5 calories. En revanche, un miel déshydraté que l'on dissout dans l'eau absorbe de la chaleur, soit 673 frigories par gramme. (**LOUVEAUX, 1968 ; LOUVEAUX, 1985; PROST, 1987**).

8.1.7. L'abaissement du point de congélation :

Il dépend de la proportion en sucres : Il serait de 1.42°C à 1.53°C en solution aqueuse à 15%., et 2.75°C à 3.15°C en solution aqueuse à 25%. (**HUCHET et al. ,1996**).

8.1.8. La conductibilité électrique :

Elle est intéressante, car elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds. Mais il existe des variations importantes suivant la teneur en eau et en éléments minéraux (ROSSANT, 2011)

8.1.10. L'indice de réfraction :

Il est couramment utilisé par les techniciens qui se servent de réfractomètres de petite taille et très pratiques. L'indice permet de calculer une variable très importante, la teneur en eau, bien plus rapidement que pour les autres méthodes. (HUCHET et al, 1996).

8.1.11. La florescence :

Beaucoup de miels présentent une fluorescence plus ou moins marquée, mais on ne sait rien de précis sur cette caractéristique. (DESCOTTES, 2004).

8.1.12. Le pouvoir rotatoire :

Il concerne l'action des miels sur la lumière polarisée. La majorité des miels sont lévogyres (PROST, 1979).

8.1.13. La turbidité :

Lorsque les miels sont sous forme liquide, ils sont généralement très transparents. Ils contiennent cependant des éléments en suspension qui leur confèrent une certaine turbidité (levures, poussières, grains de pollen, colloïdes, etc.) (LOUVEAUX, 1968).

La néphélométrie est une des techniques de mesure de la teneur en particules en suspension ou de la turbidité d'un milieu (respectivement gazeux ou liquide). Elle fait partie de la photométrie des milieux troubles.

Elle consiste à mesurer la lumière diffusée à 90° d'angle par rapport à la lumière incidente. L'instrument utilisé pour faire les mesures est le néphélomètre. Il est généralement constitué d'une source de lumière blanche ou de lumière infrarouge. (LOUVEAUX, 1968).

8.2. Propriétés chimiques du miel :

8.2.1. L'hygroscopie :

Le miel tend à absorber l'humidité de l'air et, si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable.

Un miel "normal", contenant 18% d'eau, peut atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55% : son poids augmente alors de 84%. D'autre part, lorsqu'on veut dessécher le miel, il est nuisible de le maintenir en atmosphère rigoureusement sèche, parce qu'il se forme en surface une pellicule dure qui empêche le reste d'eau de s'évaporer. (HUCHET et al, 1996).

8.2.2. Le potentiel d'Hydrogène (pH) :

Sa valeur varie en général entre 3,5 et 5,5 ; elle est due à la présence des acides organiques (BOGDANOV et al, 2004).

Selon SCHWEITZER (2005), les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5.

8.3. Propriétés biologiques du miel :

8.3.1. Propriétés nutritives :

Le miel étant composé de sucres simples, il est facilement assimilé par l'organisme :

Il passe dans le sang très rapidement et la glycémie décroît ensuite lentement. Il est souvent utilisé par les sportifs pour sa valeur énergétique : 310kCal / 100g. Il est cependant moins calorique que le sucre (environ 405kCal / 100g), ce qui en fait un aliment apprécié des diététiciens (GOUT, 2009).

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

8.3.2. Propriétés thérapeutiques :

Certaines personnes paraissent sensibilisées au miel qui déclenche chez elles des malaises.

Cependant on attribue au miel un très grand nombre de propriétés thérapeutiques (propriétés antiseptiques, antianémiques et antitussives par exemple) (**GUARCH, 2008 ; CHANAUD, 2010**).

8.4. Propriétés organoleptiques :

8.4.1. La couleur :

En fonction de ses origines florales et géographiques, le miel peut présenter différents coloris. Il existe des miels limpides comme de l'eau, des miels jaunes, ambrés, verdâtres, rougeâtres et certains presque noirs. À l'exception du violet et du bleu, la couleur des miels varie à l'infini. (**CLEMENCE, 2005**)

8.4.2. La saveur :

Le goût et l'arôme varient et dépendent de l'origine végétale, mais le miel ne doit pas présenter de goût étranger ou d'odeur étrangère (fumée, etc.) ni avoir commencé à fermenter.

(**LEQUET, 2010**)

8.5. Propriétés antibactériennes :

Le miel inhibe la croissance d'un grand nombre de bactéries, y compris d'un grand nombre de bactéries pathogènes. Il y a deux systèmes antibactériens (**BOGDANOV, 1997**) : premièrement, l'enzyme glucose-oxydase forme du peroxyde d'hydrogène; deuxièmement, d'autres substances antibactériennes ont une action, en premier lieu les acides du miel.

Ces deux systèmes se comportent différemment sous l'influence de la lumière, de la chaleur et du stockage (**BOGDANOV, 1997**)

9. L'utilisation du miel :

9.1 .Utilisation du miel comme cicatrisant :

Comme nous l'avons vu, lors de la dégradation du glucose (du miel) en présence d'eau et d'oxygène par la gluco-oxydase, il y a formation d'acide gluconique et d'eau oxygénée (H₂O₂). L'eau oxygénée formée joue un rôle très important dans le processus de cicatrisation. En effet, comme mentionné plus haut, c'est un très bon antiseptique. Au contact des tissus et du sang, elle se décompose en eau et en oxygène ($\text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{H}_2\text{O} + \text{O}_2$),

Ce qui crée une « micro-effervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (déterSION). De plus, le peroxyde d'hydrogène apparaît comme un véritable stimulus pour la

multiplication cellulaire ainsi que pour la réponse à l'évolution de l'inflammation normale lors de la cicatrisation. Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire. Dans le même temps, il stimule également le développement d'une néo-vascularisation dans le tissu cicatriciel. (**DESCOTTES, 2009**). Le miel induit également la synthèse de collagène et active le *transforming growth factor-B1* (qui a un puissant pouvoir réparateur) ; à cela s'ajoute aussi des pouvoirs antioxydants et anti-inflammatoires. L'application de miel sur la plaie génère, grâce à ses propriétés hygroscopiques, un milieu humide favorable à l'ensemble des processus cités ci-dessus. La quantité d'eau libre du miel étant très faible, on pourrait s'attendre à un dessèchement des tissus. Au contraire, l'effet osmotique permet de drainer le plasma et la lymphe (qui peuvent contenir des éléments favorisant la reconstitution cutanée) (**GOETZ, 2009**). Ce milieu humide permet notamment une cicatrisation plus rapide qu'avec un pansement sec car on ne lèse pas les tissus épithéliaux nouvellement formés. De plus, l'osmolarité du miel favorise l'exsudation et donc la diminution de l'œdème au sein de la plaie (**DESCOTTES, 2009**). Enfin, le changement du pansement s'effectue sans douleur. Cependant, les pansements créant un milieu humide peuvent favoriser la croissance des bactéries et sont donc contre-indiqués dans les plaies infectées. Mais le miel au contraire crée un milieu humide dans lequel la croissance des bactéries est évitée grâce à son activité antibactérienne. Egalement, Le miel élimine rapidement les mauvaises odeurs alors que des plaies malodorantes sont souvent rencontrées avec les pansements humides conventionnels. Cela peut s'expliquer par l'action antibactérienne du miel mais aussi par le fait que les glucides apportés par le miel sont utilisés par les bactéries à la place des acides aminés provenant du sérum ou des cellules mortes. Cela aboutit à la formation d'acide lactique à la place d'amines, d'ammoniac et de composés soufrés qui ont une odeur nauséabonde. Le maintien d'un environnement humide est également un avantage pour permettre le bon fonctionnement des enzymes protéolytiques et l'élimination des croûtes, du pu et des tissus morts.

Tous ces mécanismes activent de façon très favorable la cicatrisation, et font du miel un pansement humide bio-actif d'une grande efficacité : nombreuses observations obtenues dans le service du Professeur Descottes, CHU Dupuytren (**ASSIE, 2004**), (**figure 2**).



Figure n° 02 : Brûlure du 2^{ème} degré avant et après traitement par le miel (ASSIE, 2004).

9.2 .En alimentation :

c'est un aliment de soutien et de régénération.

Il aide à l'effort, entretient une meilleure résistance à la fatigue, tant physique qu'intellectuelle et apporte à l'organisme un assez large éventail d'éléments indispensables à notre équilibre (vitamines, sels minéraux, oligo-éléments). Il entre dans la composition de diverses recettes :

- des bonbons au miel
- des caramels
- du bœuf au miel
- du nougat
- de la crème de miel aux noix
- du pain d'épice
- du cocktail au rhum et au miel
- de l'hydromel... (REFERANCE ,E,1)

9.3. Médicament ou tonique :

Dans de nombreux pays, le miel est considéré comme un médicament ou un tonique spécial, plutôt que comme un aliment quotidien. Le miel a des propriétés médicinales qui sont de plus en plus reconnues par la médecine contemporaine. **(BRADBEAR, 2010)**

9.4. Autres usages :

Le miel est fréquemment utilisé en tant que source de sucres pour faire les vins ou les bières de miel, et pour fabriquer des produits secondaires : céréales pour le petit-déjeuner, produits de boulangerie et une multitude d'autres produits ayant une valeur ajoutée. **(BRADBEAR, 2010)**

10. Antibiothérapie du miel.

Selon une étude allemande, le miel serait plus efficace que certains antibiotiques de synthèse pour les blessures et les infections. Une préparation à base de miel, commercialisée sous le nom de Medihoney, vient d'ailleurs d'être homologuée par l'Union européenne. À la clinique pédiatrique de l'Université de Bonn, cette préparation s'est révélée efficace contre l'infection des plaies, là où un antibiotique couramment utilisé, la méticilline, ne donnait plus de résultats **(REFERENC,E ,2)**.

10.1. L'effet antibactériennes :

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

D'après certaines études, un miel riche en fructose peut même être consommé par des personnes diabétiques **(GUARCH, 1968)**.

- ❖ L'effet osmotique : Le miel est hypertonique, ceci 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.
- ❖ Le pH acide : Le pH du miel est relativement acide, variant entre 3,5 et 6. Ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes. On peut donc dire que le pH acide du miel renforce l'activité antibactérienne de celui-ci **(ASSIE, 2004)**.

- ❖ Viscosité : Elle varie en fonction de la température, de la teneur en eau et de la composition chimique du miel. A 35°C, tous les miels sont fluides. Certains sont thixotropes (c'est à dire que ces miels lorsqu'on les agite deviennent liquides mais reprennent leur viscosité première après repos) comme ceux *d'Erica* et surtout de *Calluna*. Ils ont une viscosité anormale, leur consistance étant celle d'un gel. **(CLEMENCE, 1980)**.
- ❖ Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ : L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène **(BRUDZYNSKI, 2006)**.

L'eau oxygénée aussi appelée peroxyde d'hydrogène est considérée comme la principale inhibitive du miel. Elle est produite par réaction enzymatique ; c'est la glucoseoxydase, sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel. La production d'eau oxygénée et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose. La catalase réduit l'eau oxygénée, ainsi la concentration en peroxyde dépend donc de l'activité de ces deux enzymes. L'eau est indispensable au processus d'oxydation, c'est ainsi que le peroxyde d'hydrogène se forme uniquement dans le miel non-mur ou dilué, dans le miel mur, le Processus est bloqué, avec possibilité de réactivation par dilution **(BOGDANOV, BLUMER, 2001)**.

10.2. Effet antioxydant

Les capacités antioxydantes du miel sont énormes, la hauteur de leur nombre dans celui-ci. On retrouve comme antioxydants présents dans le miel : des oxydases du glucose, des catalases, de l'acide ascorbique, des flavonoïdes, des acides phénoliques, des caroténoïdes, des acides organiques, des produits de la réaction de Maillard, des acides aminés et des protéines **(BERETTA et al 2005)**

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 de l'organisme.

C'est notamment le cas des artérioscléroses engendrées par des oxydations néfastes des lipoprotéines **(ARTHASARATHY et al 1992)**

Les phénols, déjà présentés pour leurs propriétés bactéricides, protègent ces lipoprotéines des éventuels dommages oxydatifs causés par un surplus de radicaux libres **(GHELDOLF et al 2003)**

10.3. Action anti-inflammatoire :

Les flavonoïdes présents semblent provoquer la disparition des douleurs et gonflements.

L'ingestion de miel est à recommander aux patients traités pour cancers de la bouche, tête et cou qui subissent une hypo-salivation et une fragilisation des muqueuses O.R.L irradiées, avec souvent amaigrissement multifactoriel associé. (Des bains de bouche à la camomille, riches en flavonoïdes, sont utilisés en milieu universitaire).

L'adjonction de propolis est synergique et justifie l'utilisation de propomiel (GERAUD 2005).

10.4. Action antifongique :

Il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique. Une solution de miel comparée à une solution isotonique de saccharose inhibe complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *l'Aspergillus niger*, *l'Aspergillus parasiticus*, *Candida albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (REFERENCE, E ,3)

10.5. L'activité anti-mycobactérienne

AVICENNE recommandait à son époque le miel comme remède à la tuberculose. ASADI-POOYA et al. (2003), ont étudié *in vitro* le potentiel bactéricide du miel sur les mycobactéries. Ils ont démontré que la croissance des mycobactéries était inhibée lorsque l'on ajoute du miel (à des concentrations de 10% à 20%) au milieu de culture.

10. 6. Action antiseptique :

Le miel est actif sur les infections de l'arrière-gorge, pur ou dilué à 50 %, actif également contre les bactéroïdes (*B. melaninogenicus*) responsables d'abcès dentaires, ostéomyélites, gingivite et périodontie. Exemple : 5ml de miel gardé en bouche 4 minutes diminue de 65 % la population de *Streptococcus Mutans* pendant une heure. (Géraud, 2005)

10.7. Miel et système immunitaire.

Il existe d'autres effets du miel sur l'organisme, notamment l'augmentation de plusieurs éléments du sérum sanguin : + 50 % de monocytes (acteurs du système

immunitaire), + 20 % de fer, + 33 % de cuivre et plus légèrement de lymphocyte 16 (d'autres acteurs majeurs du système immunitaire)

La prise orale de miel stimule la production d'anticorps durant les deux premières phases de la réponse immunitaire contre les antigènes thymus-dépendants et thymus-indépendants (**AL-WAILI et HAQ, 2004**).

Chapitre II.

Les antibiotiques.

Chapitre II. Les antibiotiques.

1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances chimiques, qui empêchent la multiplication des bactéries ; Ils ont une toxicité sélectivement dirigée contre les bactéries (cellules procaryotes), mais cette toxicité existe aussi, bien que moindre, pour les cellules de l'organisme humain (cellules eucaryotes); ils exercent leur action en des points précis (cibles) de certaines des chaînes métaboliques des bactéries ; ils provoquent leurs effets à faibles concentration (mg/l) et relativement lentement (heures).

Les antibiotiques peuvent être d'origine naturelle, ou héli-synthétique ou purement synthétique (SOILLEUX, 2007).

2. Historique :

La découverte des antibiotiques revient à FLEMING, (1929). Au cours d'examens de routine de cultures de staphylocoques en boites de Pétri au *Mary's hospital* de Londres, il découvre le développement accidentel de certaines moisissures de *pénicillium* notamment autour desquelles les colonies bactériennes ne cultivaient pas. Il émit l'hypothèse que ce champignon devait sécréter une substance nuisible à la croissance des staphylocoques et il a démontré que le bouillon filtré de ce champignon permet de reproduire ce phénomène. Il a donné à ce produit qui a pu empêcher la croissance de ces bactéries le nom de la pénicilline qui est introduit en thérapeutique pendant la Deuxième Guerre Mondiale (1941).

Parallèlement sont préparés en 1935, les sulfamides, le premier groupe d'antibactériens artificiels. Par la suite de nombreux autres antibiotiques ont été isolés à partir de champignons inférieurs, mais aussi et surtout des bactéries telluriques (genre *actinomyose*, *Bacillus...*) les plus productrices d'antibiotiques. Les tétracyclines sont découvertes dans les années 1950.(DUVALET, 1990 ; PUYT et FAUBLEE, 2006).

3. Mode d'action des antibiotiques :

A la différence des antiseptiques et des désinfectants, les antibiotiques agissent en général de façon très spécifique sur certaines structures de la cellule bactérienne ; cette grande spécificité d'action explique pourquoi les antibiotiques sont actifs à très faible concentration. Cette action s'exerce selon les molécules sur des sites variés.

3.1. Sur la paroi bactérienne : en inhibant la dernière étape de la biosynthèse du peptidoglycane (muréine composant essentiel de la paroi bactérienne, qui confère à la bactérie sa forme et sa rigidité ce qui lui permet de résister à la forte pression osmotique intracytoplasmique) au cours de la multiplication cellulaire, la nouvelle bactérie n'est plus protégée entraînant ainsi une lyse bactérienne, (**LAGIER , 1998**) sur la membrane cellulaire : en désorganisant sa structure et son fonctionnement, ce qui produit de graves troubles d'échanges électrolytiques avec le milieu extérieur.

3.2. Sur les ribosomes : ce qui entraîne l'arrêt de la biosynthèse des protéines ou la formation de protéines anormales.

3.3. Sur l'ADN : en empêchant sa réplication et de la biosynthèse protéique autres : en agissant tant qu'anti métabolites bactériens (c'est à dire au niveau des étapes du métabolisme intermédiaire des bactéries),(**YALA, et al, 2001 ; COHEN, JAQUOT, 2001 ; PUYT, 2002 ; PUYT, 2006 ; CUQ, 2008**).

4. Antibiogramme :

L'antibiogramme est une technique simplifiée d'appréciation de l'activité bactériostatique des antibiotiques sur une souche bactérienne. (**SOILLEUX, 2007**).

L'antibiogramme est un test qui permet de mesurer la capacité d'un antibiotique à inhiber la croissance bactérienne *in vitro*. Il renseigne, par conséquent, sur la sensibilité des germes vis-à-vis des agents anti-infectieux.

Les résultats de l'antibiogramme engagent pleinement la responsabilité du biologiste.

En effet, sa décision suppose que la souche isolée est responsable du processus infectieux et incite le clinicien à la mise en route d'une antibiothérapie donnée.

Cette mise au point sera axée sur le choix de la méthode adéquate pour le test de l'antibiogramme .la lecture interprétative des résultats et les limites de l'antibiogramme. (**TAGJIDID,2008**)

4.1. Principe :

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

La détermination de cette valeur est peu précise, mais elle est consacrée par l'usage et elle bénéficie d'une masse importante d'informations recueillies à son sujet (**BURNICHON, TEXIER, 2003**).

4.2. Techniques classiques :

4.2.1. Méthodes de dilution

Les méthodes de dilution sont effectuées en milieu liquide ou en milieu solide. Elles consistent à mettre un inoculum bactérien standardisé au contact de concentrations croissantes d'antibiotiques selon une progression géométrique de raison 2 (**BURNICHON, TEXIER, 2003**).

4.2.1.1. En milieu liquide (figure n°03),

L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) ou de cupules (méthode de microdilution) contenant l'antibiotique.

Après incubation, la concentration minimale inhibitrice (CMI) est indiquée par le tube ou la cupule qui contient la plus faible concentration d'antibiotique où aucune croissance n'est visible.

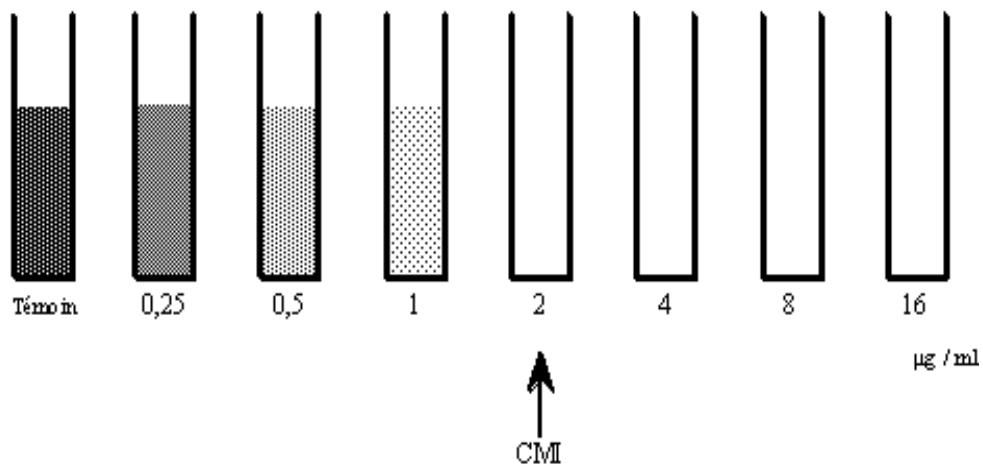


Figure n° 3 : Détermination de la CMI par dilution en milieu liquide.

Ou uniquement vis-à-vis des concentrations critiques inférieures. Dans la figure n° 03, La CMI de la souche testée est de 2 µg/ml (premier tube dans lequel aucune croissance n'est visible à l'œil nu) (**BURNICHON et TEXIER, 2003**).

4.2.1.2. Technique en milieu liquide couramment utilisée :

La détermination de la sensibilité peut se réaliser en milieu liquide en testant la sensibilité de la souche bactérienne vis-à-vis des concentrations critiques supérieures et inférieures des différents antibiotiques sont commercialisées, ce qui les rend accessibles aux laboratoires de diagnostic. L'inoculation des galeries et la lecture des résultats peuvent se réaliser manuellement ou à l'aide d'automates : technique en 24h (à 2 dilutions, c et C) ou en 4h (1 ou 2 dilutions possibles).

En milieu solide (figure n° 4), l'antibiotique est incorporé dans un milieu gélosé coulé en boîtes de Pétri. La surface de la gélose estensemencée avec un inoculum des souches à étudier. Après incubation, la CMI de chaque souche est déterminée par l'inhibition de la croissance sur le milieu contenant la plus faible concentration d'antibiotique.

La méthode de dilution en milieu gélosé, réalisée avec une gamme de concentrations en progression géométrique de raison 2 est la méthode de référence.

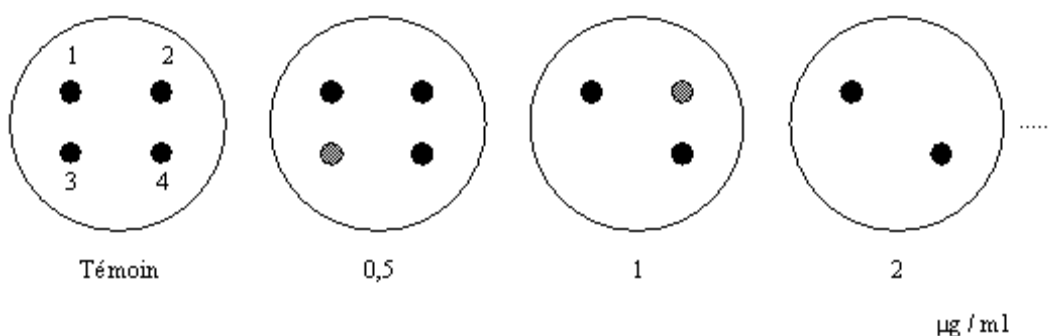


Figure n° 4 : Détermination de la CMI par dilution en milieu gélosé.

4.2.2. Méthodes de diffusion : antibiogramme standard

Les méthodes de diffusion ou antibiogrammes standards sont les plus utilisées par les laboratoires de diagnostic.

Des disques de papier buvard, imprégnés des antibiotiques à tester, sont déposés à la surface d'un milieu gélosé, préalablementensemencé avec une culture pure de la souche à étudier.

Dès l'application des disques, les antibiotiques diffusent de manière uniforme si bien que leurs concentrations sont inversement proportionnelles à la distance du disque. Après incubation, les disques s'entourent de zones d'inhibition circulaires correspondant à une

absence de culture. Lorsque la technique est parfaitement standardisée, les diamètres des zones d'inhibition dépendent uniquement de la sensibilité du germe.

À la limite des zones d'inhibition, il existe dans la gélose des concentrations d'antibiotiques égales aux CMI. Les méthodes de diffusion ne permettent pas de chiffrer directement ces valeurs. Toutefois, il existe une relation simple entre les diamètres des zones d'inhibition et le log base 2 des CMI mesurées par les techniques de dilution. Ces relations, appelées droites de concordance ou droites de régression (figure n° 5), ont été établies par des laboratoires spécialisés travaillant dans des conditions standardisées. À condition de respecter un protocole identique, ces courbes sont utilisables par un laboratoire de diagnostic. En théorie, les mesures des diamètres des zones d'inhibition et leurs reports sur les courbes de concordance donnent les valeurs des CMI en $\mu\text{g/ml}$. Dans la pratique, les résultats de la technique des disques doivent être considérés comme uniquement qualitatifs en raison de la variabilité expérimentale des diamètres et de l'erreur sur les valeurs de la pente et de l'ordonnée à l'origine des droites de régression.

Ces droites de concordance sont tracées expérimentalement à l'aide de nombreuses souches. En général, on utilise un minimum de 100 souches appartenant au moins à quatre genres bactériens différents.

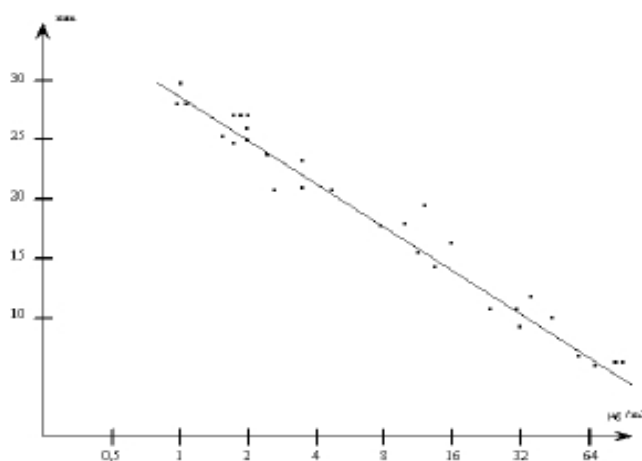


Figure n° 5 : Droite de concordance établie pour l'amoxicilline avec un disque chargé à 25 μg .

Une droite de concordance n'est valable que pour un disque contenant une quantité déterminée d'un antibiotique donné (BURNICHON, TEXIER, 2003).

5. Evaluation de l'activité des antibiotiques :

Des chercheurs de l'Université de Louvain (UCL) ont observé une classe importante d'antibiotiques qui peuvent en réalité être très actifs lorsqu'ils sont évalués dans des milieux représentatifs du lieu de l'infection.

Dans un article récent, Paul Tulkens et Françoise Van Bambeke expliquent de manière scientifique une observation clinique qui montrait que certains antibiotiques pouvaient améliorer le statut respiratoire des patients atteints notamment de mucoviscidose. Comme ces antibiotiques étaient considérés comme inactifs sur cette maladie, cette amélioration était attribuée à des effets « non-antibiotiques ». Le travail des chercheurs de l'UCL suggère, en fait, que c'est très probablement l'action antibiotique qui est essentielle.

Or, les laboratoires utilisent aujourd'hui, pour leurs recherches sur nouveaux antibiotiques, des milieux de culture fabriqués pour favoriser la croissance des bactéries. Le fait que ces milieux ont des compositions très différentes de l'environnement que les bactéries rencontrent dans les milieux biologiques qu'elles infectent, explique que certaines recherches de ces laboratoires n'aboutissent pas ou donnent des résultats faussés.

Au-delà de cet exemple précis, ces travaux ouvrent la voie vers de nouvelles méthodes d'évaluation des antibiotiques dans lesquelles leurs effets seraient recherchés et analysés dans des conditions plus pertinentes de la clinique. Il est ainsi possible que des molécules inactives ou peu actives dans des milieux « de laboratoire » puissent s'avérer utiles dans des conditions plus proches de celles du milieu humain ou animal ou inversement, que des molécules considérées comme efficaces au laboratoire expriment mal leur activité au site d'infection (**REFERENCE, E, 3**).

3. Choix d'une antibiothérapie :

Quatre critères majeurs doivent intervenir dans le choix d'une antibiothérapie :

a) Critère bactériologique :

- Identification du germe responsable après prélèvement bactériologique et l'étude de sa sensibilité in vitro aux ATB (antibiogramme) est du plus grand intérêt dans le traitement des infections sévères (méningites, septicémies...) ou dans le cas d'infections susceptibles d'être dues à un germe multirésistant (infection nosocomiale).

➤ En l'absence d'isolement du germe en cause, le choix de l'ATB repose sur le diagnostic clinique en fonction des germes habituellement responsables et de leur sensibilité usuelle connue aux ATB (**POTELLE, 2011**).

b) Critère pharmacocinétique :

L'antibiotique choisi doit diffuser et être présent sous forme active au site infecté, à une concentration supérieure à sa concentration minimale inhibitrice (CMI) vis-à-vis du germe considéré. Il doit donc être choisi en fonction de ses caractéristiques de diffusion (méninges, os, poumons, ...) ou d'élimination sous forme active (bile, urine) (**POTELLE, 2011**).

c) Critère individuel :

Le choix d'un antibiotique doit prendre en compte le terrain : femme enceinte, sujet âgé, nourrisson et nouveau-né, insuffisant rénal ou hépatique, allergique, immunodéprimé... Ces situations peuvent entraîner soit une contre-indication, soit une adaptation de la posologie de l'ATB utilisé (**POTELLE, 2011**).

d) Critère de risque :

Effets indésirables : à efficacité égale, l'ATB le moins toxique doit être privilégié

➤ Risque écologique : l'utilisation des ATB à spectre étroit adapté sera préférée à celle des ATB à spectre large plus fortement inducteurs de résistances

➤ Retombées médico-économique : à efficacité et tolérance égales, la préférence sera donnée à l'ATB le moins coûteux (**POTELLE, 2011**).

6. l'Antibiorésistance :

Chaque exposition d'une population de bactéries à un antibiotique peut potentiellement mener au développement d'une résistance. Il est donc très important d'administrer un traitement aux antibiotiques seulement s'il est requis. Il faut aussi rappeler que les antibiotiques n'ont aucune efficacité contre les virus et les champignons.

De plus, une partie des bactéries peut réussir à survivre aux « assauts » d'un traitement antibiotique si, par exemple, la durée prescrite pour ce traitement n'est pas respectée.

Le risque que le phénomène de résistance se développe dans cette population bactérienne est alors accru (**CARON, 2007**).

8. Toxicité des antibiotiques :

Les antibiotiques sont des médicaments antibactériens d'origine naturelle, produits à partir des champignons ou des bactéries ou obtenus par synthèse ou semi synthèse.

Ils ont en principe une toxicité sélective, c'est-à-dire qu'ils sont toxiques pour les bactéries mais non pour l'organisme ; ce qui malheureusement n'est pas toujours vrai.

Comme pour tout médicament actif, les antibiotiques sont susceptibles de provoquer des accidents plus ou moins importants.

Il faut cependant signaler que du fait de leur mode d'administration qui se fait souvent par voie naturel, les antibiotiques constituent une classe relativement peu toxique.

Ces effets indésirables, même s'ils sont relativement peu fréquents et rarement graves doivent dans tous les cas faire l'objet d'une déclaration au niveau des centres de pharmacovigilance.

Ces accidents doivent être bien connus par les prescripteurs afin d'être pris en compte dans le choix de la prescription et dans le suivi des patients. Ils doivent être également rapportés et identifiés par l'industrie pharmaceutique et par les autorités responsables dont le rôle est d'ordonner le retrait de substances qui s'avèreraient être à l'origine d'accidents graves et répétés (**MERAD et MERAD, 2001**).

Chapitre III.

Matériel et méthodes

Chapitre III. Matériel et méthodes

Notre travail a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques de l'université Kasdi Merbah Ouargla.

1. Matériel utilisé :

1.1. Miel : Le miel utilisé dans ce travail proviennent du même pratiquant, l'exploitation est situé dans la wilaya de Ghardaïa « Guerara ». Il s'agit de cinq miels à savoir :miel d'eucalyptus ; miel de jujubier (*Zizyphus lotus*) ; miel montagnard ; miel Multi floral; miel lebina (*Euphorbiaguyoniana*). Les miels sont conditionnés dans des récipients en verre de 125grammes de contenance chacun (Figure n°6).



Figure n°06 : Les unités des différents miels utilisés.

1.2. Souches bactériennes : Les bactéries utilisées (tableau n°1) sont des bactéries pathogènes, il s'agit de souches de référence « ATCC », de l'Institut Pasteur fourni par le Laboratoire Vétérinaire Régional de Laghouat (LVRL), dans des tubes de conservation (figure n°7).

Tableau n° 01 : Souches bactériennes.

ATCC 25922	<i>Escherichia coli</i>
ATCC 700603	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
ATCC 27853	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
ATCC 25923	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC 43300	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC 43866	<i>Staphylococcus aureus</i>

ATCC 29212	<i>Enterococcus faecalis</i>
ATCC29213	<i>Staphylococcus aureus</i>
ATCC11778	<i>Bacillus cereus</i>
Souche sauvage	<i>Salmonella Enteritidis</i>



Figure n°07 : Tubes de conservation des Souches

1.4. Milieux et bouillons de culture : bouillon cœur cerveau(BHIB);Mueller-Hinton(MH) ;L'eau physiologique.

1.5. Les antibiotiques utilisés :

Tableau n° 02 :Les antibiotiques utilisés.

signe	Antibiotique	signe	Antibiotique	signe	Antibiotique
AMC	amoxicillin+clavulanicacid	GM	gentamicin	PEN	penicillin
AMP	ampicillin	GMN	gentamicin	SPN	spiramycin
AMX	amoxicillin	N	neomycin	SXT	trimethoprim+sulfamethoxaole
CAZ	ceftazidime	NAL	nalidixicaci	TET	tetracycline
CEF	cephalothin	NEO	neomycin	UBN	flumequine
CHL	chiofamphenicol	NOR	norfloxacin	XNL	ceftiofur
ENR	enrofloxacine	OAD	oxolinicacid		
ERY	erythromycin	OXC	oxacillin		

2. Méthodes d'analyses :

2.1. Echantillonnage :

Tableau n°03: Origine des différents miels utilisés.

Ech	Miel	Région	Origine florale	Année de récolte	Le mode d'extraction	couleur
01	Montagnard	Media	Thym	2013	manuelle	Marron foncé
02	Eucalyptus	Alger	Eucalyptus	2013	manuelle	très foncé
03	Multi floral	Ghardaïa	Toutes fleurs	2013	manuelle	Claire
04	cedre	Ghardaïa	jujubier	2013	Manuelle	très foncé
05	lebina	El-Bayad	lebina	2013	Manuelle	Claire

2.2. Analyses physico-chimiques :

2.2. 1. Le potentiel d'Hydrogène (pH) :

Le potentiel d'hydrogène (pH) est mesuré dans une solution de miel à 10%, à l'aide d'un pH-mètre de type WTW series inolab pH730.

Le pH est défini comme étant le cologarithme de la concentration en ions H^+ dans une solution. Pour le miel, c'est un indice de la « réactivité acide » du produit.

Le miel est mis en solution à 10 % dans l'eau distillée (10 mg de miel dans 90 ml eau distillée). Il suffit de plonger la pointe de l'électrode dans le liquide : la valeur du pH s'affiche automatiquement.



Figure n° 08 : Le pH-mètre utilisé de type WTW series inolab PH730.

2.2. 2.La conductibilité électrique :

Selon LOUVEAUX (1985), la mesure est rapide, mais la préparation de la solution exige une pesée précise et une mesure de la teneur en eau conductimètre dans une solution de miel à 20 % de matière.

Cette méthode a pour objet de vérifier si la valeur de la conductibilité électrique du miel analysé est compatible avec son appellation florale.

Pour la mesure de la conductibilité électrique, il suffit de préparer une solution à 20% de miel avec de l'eau distillée, puis plonge la pointe de l'électrode du conductimètre électrique.

Lire directement sur l'écran la valeur de la conductivité électrique.



Figure n°09 : Le conductimètre électrique utilisé de type WTW series inolab cond720.

2.2.3. Teneur en eau :

La mesure de la teneur en eau se fait très simplement au moyen d'un réfractomètre.

La goutte de miel est déposée sur la platine du prisme d'un réfractomètre de type Abbé à thermomètre incorporé et répartie en couche mince. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure. Cette ligne coupe une échelle verticale graduée directement en pourcentage d'humidité dans le miel. La température du prisme est notée.

En se rapportant au Tableau de CHATAWAY (1932), nous obtenons le pourcentage d'eau correspondant à l'indice de réfraction.



Figure n°10: Refractomètre de type Novex.

2.3. Analyse pollinique :

L'analyse pollinique des miels donne une information précise sur les principales plantes mellifères et permet de caractériser les miels par leur origine botanique ou géographique. Elle apporte des informations importantes sur le comportement de butinage des abeilles. Par ailleurs, la teneur en pollen des miels permet de contrôler leur qualité, augmentant ainsi leur valeur économique.

2.3.1. Méthode classique :

Nous avons utilisé la méthode classique donnée par LOUVEAUX *et al.* (1970), 10 g de miel (pesés exactement à 0,1 g près) sont dissous dans 20 ml d'eau chaude (ne pas dépasser 40 °C). La solution obtenue est centrifugée pendant cinq minutes et le liquide restant est séparé du sédiment; le liquide peut être versé ou aspiré. Pour une meilleure élimination des sucres du miel il est recommandé de reprendre le dépôt par 10 ml d'eau distillée, de le transvaser dans un tube à centrifugation plus petit et de centrifuger à nouveau pendant cinq minutes.

On porte le dépôt (au moyen d'une anse de platine ou d'une fine baguette de verre), autant que possible de façon quantitative, sur une lame porte-objet et on le répartit sur une surface d'environ 20 X 20 mm.

Après séchage (plus avantageusement à la chaleur mais sans excéder 40 °C) on l'inclut dans la glusirole et on recouvre d'une lamelle. La glusirole est préalablement liquéfiée au bain- marie à 40 °C (MAURIZIOU, 1970).

La détermination de l'origine géographique et de l'origine botanique repose sur l'identification des pollens et des autres constituants du sédiment d'un miel ainsi que sur leur dénombrement.

L'identification se fait avec l'aide des données tirées des publications spécialisées.



Figure n°11: Centrifugeuse de type SIGMA

Figure n°12: Les calibres de la

3. Etude de l'activité anti-bactérienne :

Une technique de laboratoire visant à tester la sensibilité d'une [souche bactérienne](#) vis-à-vis d'un ou plusieurs [antibiotiques](#) supposés ou connus.

Le principe consiste à placer la culture de bactéries en présence du ou des antibiotiques et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci. On peut par exemple placer plusieurs pastilles imbibées d'antibiotiques sur une souche bactérienne déposée dans une [boîte de Pétri](#). Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre du cercle qui entoure le disque d'antibiotique : souche ou bactérie sensible, intermédiaire ou résistante.

2.4. Etude du pouvoir antimicrobien du miel :

2.4. 1. Technique de disque :

La méthode des disques est couramment utilisée au laboratoire, elle permet de tester la sensibilité d'une souche bactérienne aux différents miels et aux différents antibiotiques. Une suspension de la souche à tester est déposée à la surface.

Préparation de la gélose :

- ✓ Placer les flacons de milieu gélosé dans un bain marie de manière à faire fondre le milieu.
- ✓ Laisser au bain-marie jusqu'à ce que le milieu soit bien liquide.
- ✓ Couler la gélose de Mueller-Hinton dans le fond de la boîte de Pétri.
- ✓ Laisser sécher.

Préparation de l'inoculum

- ✓ Les tubes contenant la souche bactérienne ATCC sont remplis par 0,5 à 1 ml de BHIB laisser à température ambiante à +4°C pendant 10 minutes.
- ✓ A partir d'une culture la souche ATCC pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. utiliser un écouvillon pour prélever plus facilement les colonies bactériennes.
- ✓ Bien décharger l'anse ou l'écouvillon dans 9 ml d'eau physiologique stérile.
- ✓ Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente.

Ensemencement :

- ✓ Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- ✓ L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.
- ✓ Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

- ✓ Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- ✓ Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- ✓ Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.
- ✓ Laisser sécher à température ambiante pendant 15 minutes.

Application des disques:

- ✓ Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques sur une boîte de 90 mm.
- ✓ Presser chaque disque d'antibiotique à l'aide de pinces bactériologiques stériles et ne pas déplacer les disques après application.
- ✓ Laisser à température ambiante (temps pour que les antibiotiques diffusent dans le milieu avant démarrage de la culture) .
- ✓ La liste des antibiotiques à tester selon la bactérie isolée, figure dans les tableaux.
- ✓ Cette méthode consiste à déposer un disque de papier filtre imprégné 25 µl dans chaque dilution (100%) ,(50%),(30%),(20%),(10%) ,(5%) au centre du couvercle d'une boîte de pétri, sans que de dilution entre en contact avec la gélose ensemencée par les micro-organismes. La boîte est hermétiquement fermée et placée couvercle en bas à l'étuve à 37°C (Bactéries). Chaque essai est répété en double.

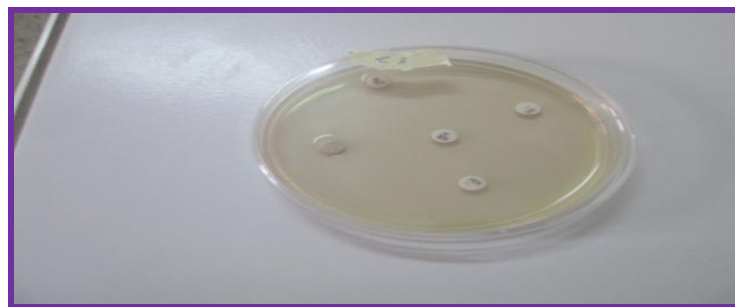


Figure n°13 :Application des disques d'antibiotiques.

L'incubation :

- ✓ Incuber 16 à 18 h, à 37°C (au maximum 24 h), boîte retournée.



Figure n° 14 :Incubateur.

Lecture :

- ✓ Mesurer avec précision les diamètres des zones d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse.
- ✓ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton simple, les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.
- ✓ Pour les bactéries testées sur Mueller-Hinton au sang, les mesures de diamètres de zones d'inhibition seront prises.

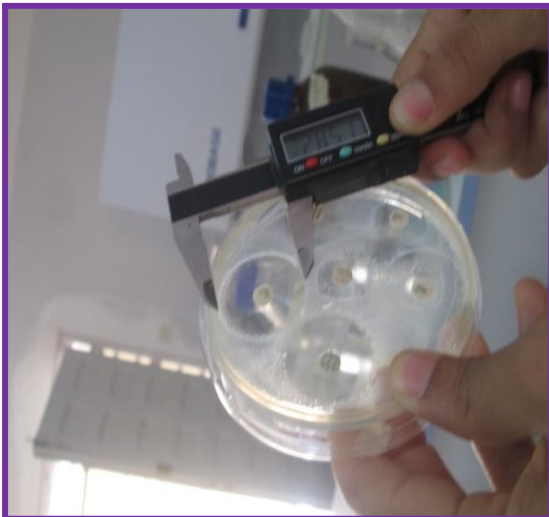


Figure n°15 :Lecture.

Chapitre VI
Résultats et
discussions.

Chapitre VI : Résultats et discussions.

1. Résultats des analyses physico-chimiques :

1.1. le potentiel d'Hydrogène (pH):

Les résultats relatifs aux pH des miels sont donnés dans le tableau 04 et illustrés par la figure 18.

Tableau n°04: La moyenne du potentiel d'hydrogène des différents échantillons de miel.

Miel	Moyenne du pH
E1	5,88
E2	5,66
E3	6,24
E4	6
E5	5,80

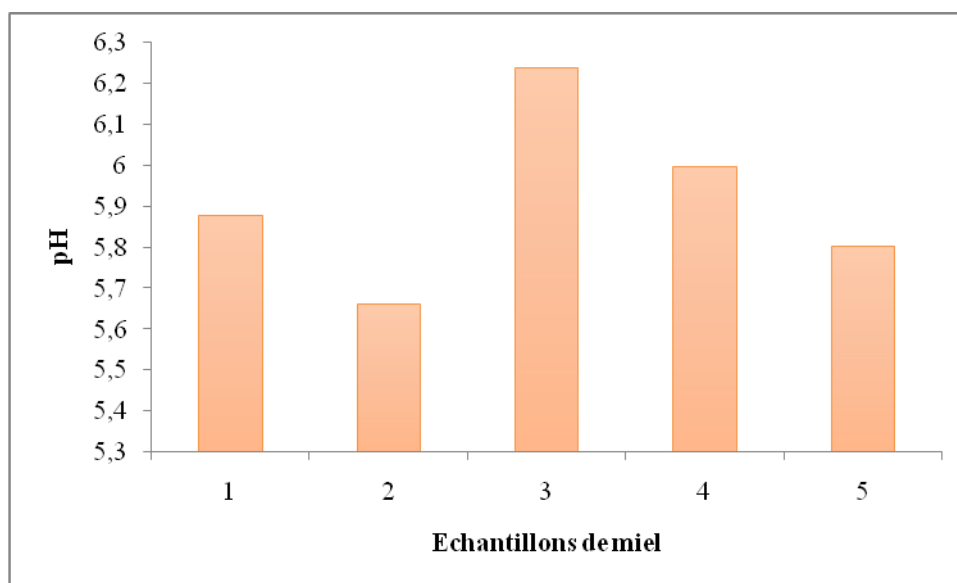


Figure n°16: Le pH de chaque miel.

Pour les résultats du potentiel d'hydrogène, comme les indiquent le tableau n°04 et la figure n° 18, une légère variation des valeurs entre les échantillons est observée. En effet, la valeur minimale est 5,663 de tandis que la maximale est 6,24 pour le 2^{ème} (miel d'eucalyptus) et le 3^{ème} échantillon (miel multifloral) respectivement.

Les valeurs du pH de nos échantillons de miel oscillent entre 3.56 et 5.25 avec une moyenne de 4.14. Donc tous les miels étudiés sont acides : **DONADIEU (1984)**, et

GONNET (1982), signalent que le miel est acide, son pH est en moyenne entre 3.5 et 6.

GONNET (1986), affirme qu'un pH faible de l'ordre de 3.5 pour un miel, prédétermine un produit « fragile » pour la conservation duquel faudra prendre beaucoup de précautions. Par contre un miel à pH 5 ou 5.5 se conservera mieux et plus longtemps ce qui est le cas de nos miels.

1.2. La conductibilité électrique:

Les résultats de la conductibilité des miels sont donnés dans le tableau n°5 et la figure 19.

Tableau n° 05: La moyenne de la conductibilité des différents échantillons de miel.

Echantillons de miel	Conductibilité électrique (10^{-4} s/cm)
E1	2.113
E2	2.293
E3	1.493
E4	1.146
E5	1.044

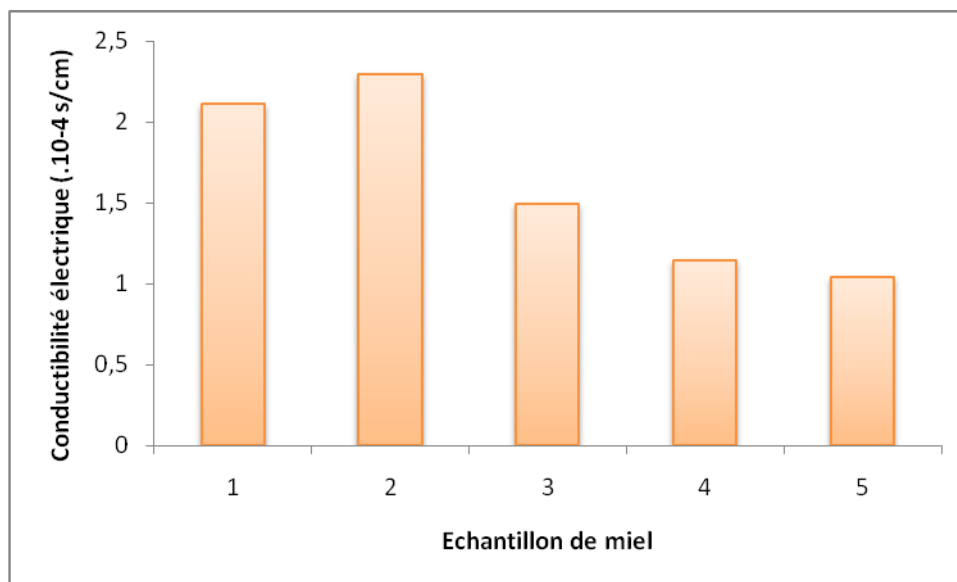


Figure n°17: La conductibilité électrique de chaque miel.

D'après le tableau n°5, et la figure n°19, les valeurs extrêmes de la conductibilité électrique, sont celles du 5^{ème} miel avec $1.045 \cdot 10^{-4}$ s/cm et du 2^{ème} avec $2.293 \cdot 10^{-4}$

s/cm, les trois autres formulations présentent des teneurs intermédiaires comprises entre $2.113 \cdot 10^{-4}$ s/cm et $1.146 \cdot 10^{-4}$ s/cm.

Les valeurs de la conductibilité mesurée sur nos échantillons de miel correspondent à celles rapportées par le *Codex alimentarius* qui préconise des valeurs inférieures à 810^{-4} s/cm pour les miels de nectar, supérieures à 810^{-4} s/cm pour les miels de miellat.

Dans le même contexte, **GONNET (1986)**, affirme que la conductibilité électrique du miel apporte une indication précieuse dans la définition d'une appellation, les miels issus de nectar ont une CE allant de 1 à $5 \cdot 10^{-4}$ s/cm, et ceux issus de miellats de 10 à $15 \cdot 10^{-4}$ s/cm, par contre, les valeurs médianes correspondent souvent à des mélanges naturels des deux origines.

D'après ces deux auteurs, nos miels semblent être tous des miels de nectar.

Il est à noter que le miel de nectar est le miel qui provient des nectars de plantes. Tandis que le miel de miellat est le miel qui provient principalement d'excrétions d'insectes butineurs (*Hemiptera*) laissées sur les parties vivantes de plantes ou de sécrétions de parties vivantes de plantes.

GONNET (1982), signale que les miels foncés sont les plus riches en matières minérales ionisables, donc bon conducteur de courant. **LOUVEAUX (1976)**, affirme que les sels sont apportés par le pollen, par le nectar des fleurs ou par les miellats.

1.3. Teneur en eau.

Après avoir fait recours à la table de **CHATAWAY (1935)**, la teneur en eau exprimée, en pourcentage de la masse, de tous nos miels est représentée dans le tableau n°06 et la figure n°20.

Tableau n°06: La moyenne de la teneur en eau en % des différents échantillons de miel.

Echantillons de miel	Teneur en eau (%)
E1	13.50
E2	17.30
E3	15.73
E4	14.80
E5	13.00

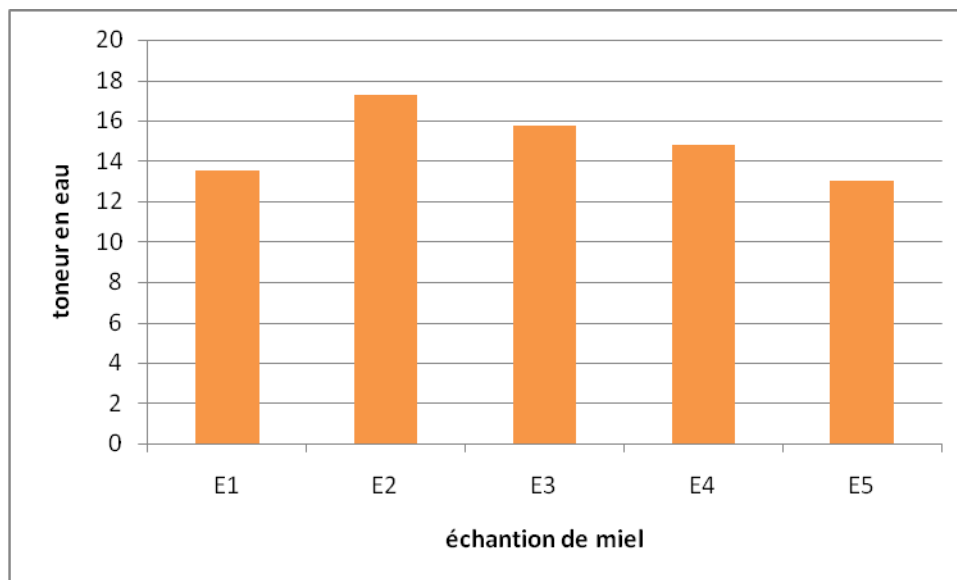


Figure n°18 Teneur en eau de chaque miel.

Nous remarquons que la teneur en eau de nos échantillons du miel varie de 13.00 à 17.30% pour les miels 5 et 2 respectivement. Ces valeurs se situent bien dans l'intervalle préconisé par le *Codex alimentarius* et qui ne dépasse pas 21% en général.

Selon **CHAUVIN (1968)**, les miels commercialisés ont une teneur en eau très variées, allant de 14% à 25%, l'optimum se situe entre 17 et 18%.

La teneur en eau est une donnée très importante à connaître, car elle conditionne la qualité du miel et surtout la conservation, si la teneur en eau est inférieur à 18% les miels sont bons à conserver (**GONNET, 1982**).

Les échantillons 5 et 1 sont les miels les plus pauvres en eau, soit respectivement 13.00% et 13.50 %, ces derniers offrent une très bonne conservation. Selon **GONNET (1982)**, en dessous de 15 % d'eau, la fermentation dans le miel n'intervient jamais.

2. Résultats de l'analyse pollinique :

Les échantillons de miels ont été observés sous le microscope, de là et selon la quantité de pollens présente, nous avons classé les miels analysées en 3 groupes :

Classa I : Beaucoup de pollens

Classe II : peu de pollens

Classe III : Très peu de pollens

Les variations quantitative et qualitative en pollens sont due à :

- La diversité des espèces végétales butinées par l'abeille, et leur intérêt apicole: soit l'espèce butinée est pollinifère, nectarifère ou les deux à la fois ;
- Le travail et les besoins de la colonie d'abeille ;
- La technologie du miel : le mode d'extraction(mécanique ou manuelle), **LOUVEAUX et al, (1970)**, constatent que les miels d'extracteur centrifuge contiennent peu de sédiment. La filtration: Les miels importés (commercial) qui ont subit à une ultrafiltration, va causer l'élimination des pollens.

Classa I : Beaucoup de pollens:

Ce sont les miels qui renferment un nombre important de pollens, dans cette classe, nous avons observé beaucoup de pollens dans le miel échantillon 2 seulement.

Nos observations au niveau de l'échantillon N°02 nous révèle la présence d'un nombre important de grains de pollen, et après l'identification par comparaison avec des pollens de référence, nous pouvons dire qu'il confirme son appellation florale présumée, puisque il est dominé par les grains de pollen de *Eucalyptus sp.*, et nous pouvons dire aussi qu'il est un miel monofloral (miel d'eucalyptus).

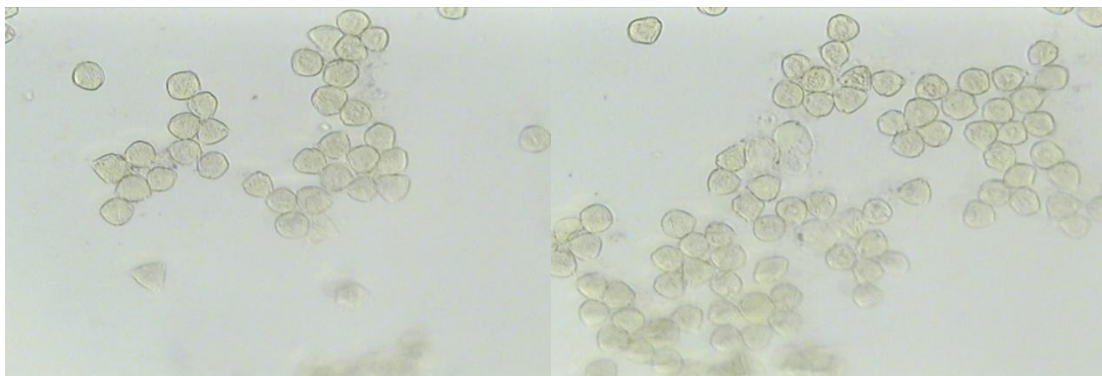


Figure n°19: Vue microscopique des grains de pollen du miel n°2 (40X).

Classe II : Peu de pollens :

On regroupe dans cette classe, les miels 3, 4 et 5.

L'échantillon de miel 03 est un miel multifloral, ils présentent de différentes formes de pollens, après identification par comparaison avec des pollens de référence nous citons quelques pollens trouvés dans cet échantillon : 1 : *Papaver rhoeas* ; 2 : *Prunus sp* ; 3 : *Ziziphus lotus* ; 4 : *Malvasylvestris* ; 5 : *Eucalyptus sp.* ; 6 : *Rosmarinus officinalis* ;

Ce miel confirme son appellation, c'est un miel de toutes fleurs.

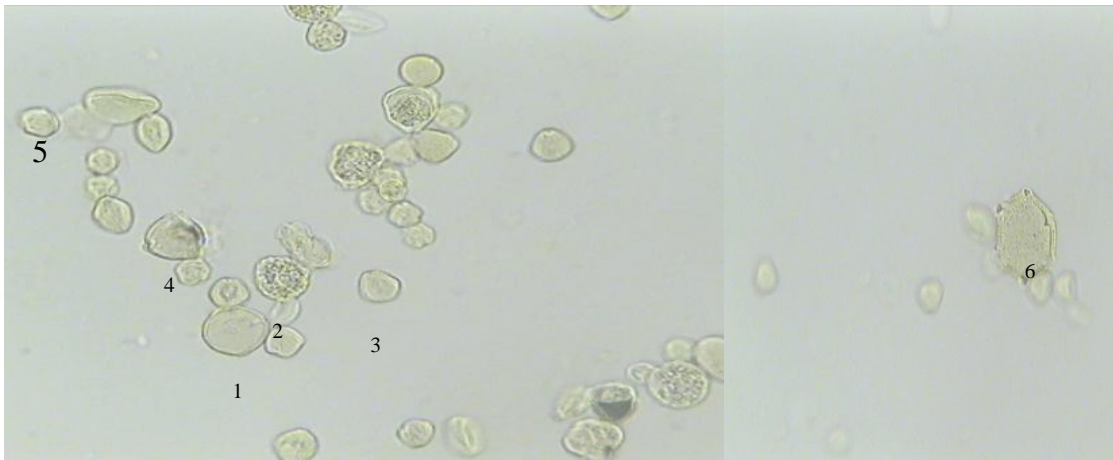


Figure n°20: Vue microscopique des grains de pollen du miel n°3 (40X).

Le miel 4, bien que normalement ce soit un miel monofloral de *Ziziphuslotus*, on note la présence de quelques pollens de *Achilleasp.*

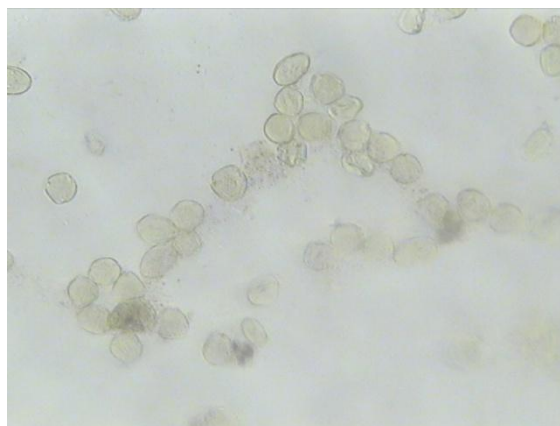


Figure n°21: Vue microscopique des grains de pollen du miel n°4 (40X).

Le miel 05, de lebina, contient des pollens de : 1 : *Euphorbia* (lebina) mais aussi quelques pollens de : 2:*Eucalyptus sp.* ; 3:*Peganumharmala* et4 : *Galactitestomentosa*.

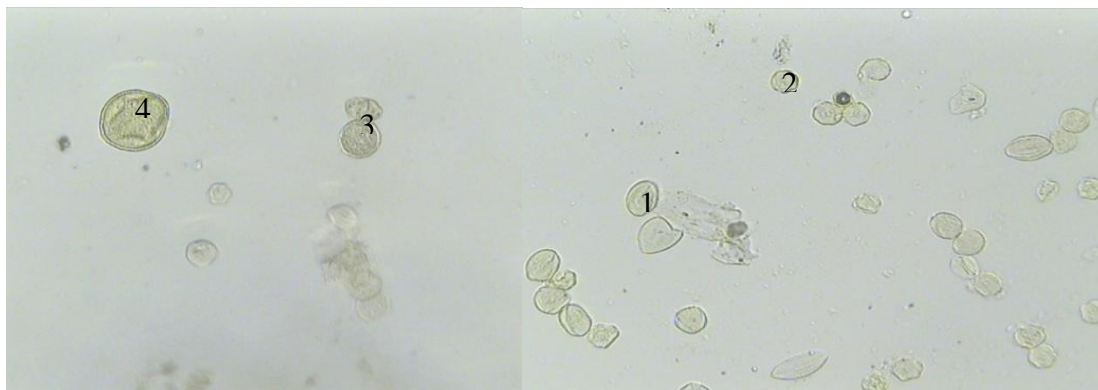
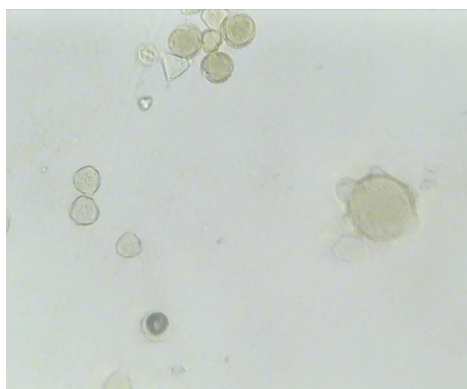


Figure n°22: Vue microscopique des grains de pollen du miel n°5 (40X).

Classe III : Très peu de pollens :

Cette classe ne renferme que le miel 01 (de thym) qui contient les pollens de *Thymus vulgaris*.



3. Résultats de l'effet antibactérien.

La détermination, *in vitro*, de l'effet antibactérien des différents miels consiste à la mesure du diamètre (halos) d'inhibition. Par la suite, les résultats de nos 5 échantillons de miel sur chacun des 12 germes testés.

3.1. Effet des miels sur *Escherichia coli*.

Les résultats de l'effet antibactérien des différents miels testés ainsi que celui des antibiotiques sur la souche de référence d'E. coli est présenté dans les tableaux 7 et 8 et illustré par la figure 25.

Tableau n°07 : Effet des miels sur *Escherichia coli*. Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm± écart type.

Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	10,115±0,485	8,43±0,75	9,6±0,5	9,18±0,91	10,75±1,4
50%	10,115±0,485	6,535±0,575	9,145±0,105	7,765±0,505	6,805±0,155
30%	9,21±0,78	7,805±1,455	7,17±0,19	7,535±0,275	8,08±0,76
20%	8,32±0,5	6,71±1,03	6,8±0,5	8,78±0,37	5,375±0,215
10%	3,705	8,54±2,86	7,3±0,92	7,75±0,68	3,93±3,93
5%	6,905±0,065	6,93±0,83	7,84±0,8	10,695±0,375	3,14

Tableau n°08 : Effet des antibiotiques sur *Escherichia coli*.

Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)		Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)	
AMC	26.61	S	NAL	27.52	
AMP	26.52	S	NOR	43.18	S
AMX	23.02	S	OAD	25.76	S
CEF	17.62	I	SXT	29.19	I
CHL	27.59	I	TET	26.36	S
ENR	29.97	R	UBN	26.34	S
N	24.06	I	XNL	28.28	I

S: Sensible;

R: Resistant;

I: Intermediaire.

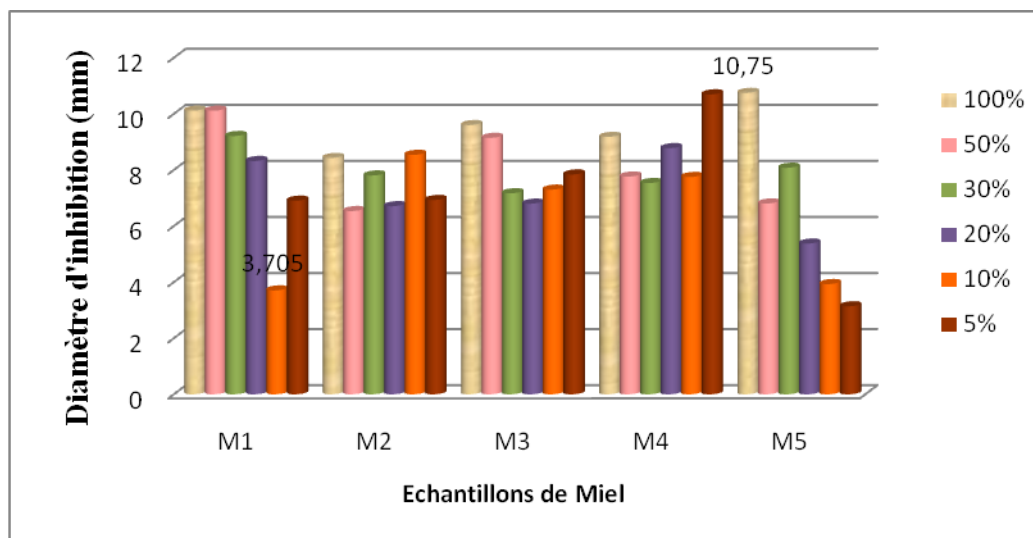


Figure n°23 : Effet inhibiteur de différents types et concentrations de miels sur la croissance d'*Escherichia coli*.

D'après le tableau n°07 et 08 la figure n°25, On remarque que la meilleure inhibition de *E.coli* est observée dans le miel 4 à la plus faible concentration (5%) qui est égale à $10,695 \text{ mm} \pm 0,375$ alors que le miel 5 et à la même concentration présente la plus faible inhibition avec $3,14 \text{ mm}$.

Pour les miels, 2, 3 et 4, le diamètre d'inhibition pour les différentes concentrations semblent être proches : allant de $6,53 \text{ mm} \pm 0,575$ à $10,69 \text{ mm} \pm 0,375$. Tandis que pour les miels 1 et 5 on note une variation entre les différentes concentrations de $6,41 \text{ mm}$ et $7,61 \text{ mm}$ respectivement.

L'inhibition des différents miels à différentes concentrations semble être très loin de celle des antibiotiques testés (tableau n°07).

3.2. Effet sur *Staphylococcus aureus*.

Les tableaux n°09 et 10 et 11 et la figure 26 et 27 représentent les résultats relatifs à l'effet de miels à différentes concentrations sur la prolifération de *S. aureus* (ATCC 25923) et (ATCC 43300) respectivement.

Tableau n°9: Effet du miel sur *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923). Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm± écart type.

Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	13,965±0,215	12,265±2,155	13,66±0,96	12,66±2,33	<u>17,885±0,475</u>
50%	7,855±0,305	8,16±0,01	3,685±3,685	4,62	7,845±0,775
30%	9,605±0,845	6,16±0,35	7,115±0,265	8,135±0,075	6,835±0,225
20%	6,81±1,72	7,185±0,645	<u>3,195</u>	8,68±0,29	6,455±0,085
10%	4,115	4,295	6,335±0,925	7,865±0,565	8,165±0,025
5%	7,06±0,22	8,04±0,01	8,105±0,715	9,04±1,96	6,875±1,045

Tableau n°10: Effet du miel sur *Staphylococcus aureus*(ATCC 43300). Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm.

Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	11,255±0,195	8,525±0,315	7,405±0,845	10,385±1,005	9,93±1,07
50%	8,095±0,795	4,005	11,87±5,09	8,075±0,515	9,06±1,93
30%	8,865±0,035	8,525±0,315	5,205	<u>13,875±3,875</u>	9,93±1,07
20%	8,32±0,5	6,17±1,03	6,8±0,56	8,78±0,37	5,375±0,215
10%	<u>3,705</u>	8,54±2,86	7,3±0,92	7,75±0,68	3,93
5%	6,235±0,185	6,53±0,09	11,81±2,81	11,23±0,79	6,495±0,075

Tableau n°11 : Effet des antibiotiques sur les deux souches de *Staphylococcus aureus*.

ATB	OXC	NEO	PEN	GMN	ENR	VA	ERY	SXL	SPN
ø (mm) ATCC 23	0	9,68	10,35	0	0	10,64	8,66	9,41	9,74
ø (mm) ATCC 00	0	12,29	0	0	0	10,43	17,32	31,19	15,52

ATB: Antibiotique;

Ø (mm): Diamètre en millimètre.

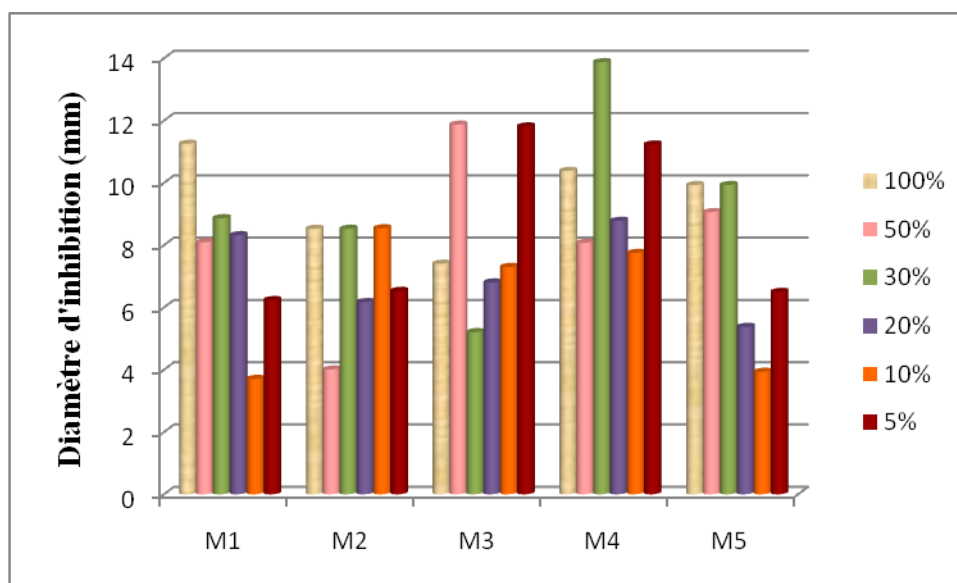


Figure n°24 : Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de *Staphylococcus aureus*(ATCC 25923).

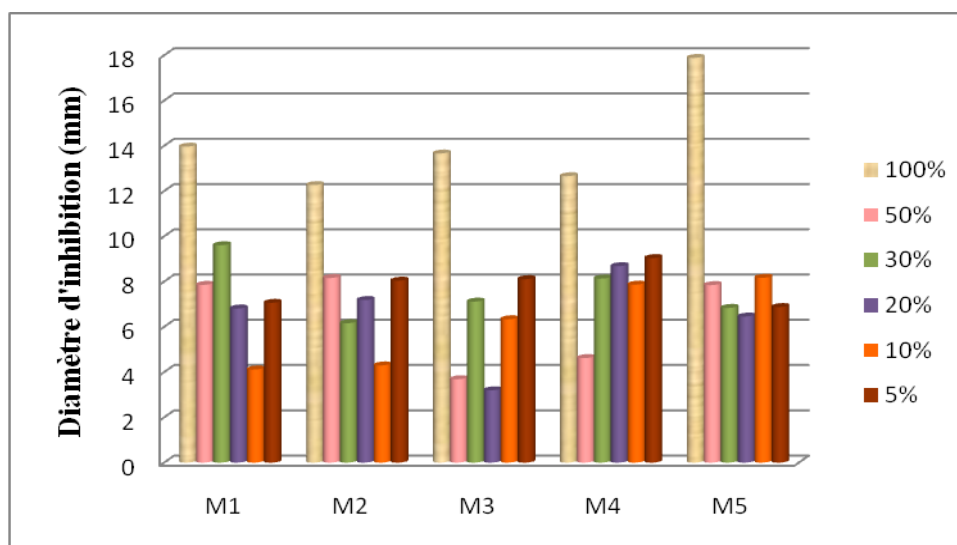


Figure n°25 : Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de *S.aureus*(ATCC 43300).

La comparaison des moyennes démontre que l'inhibition est variable entre les deux souches de *S.aureus* pour l'ensemble des miels analysés. D'après les tableaux n°9 et 10, nous remarquons que l'activité inhibitrice des différentes sortes de miels sur *Staphylococcus aureus* est plus importante pour la souche (ATCC 25923).

Pour cette dernière souche, le maximum d'inhibition est à 17,885 mm \pm 0,475 pour le M05 à l'état brut ; à la concentration de 20%, le miel 03 présente l'inhibition minimale avec 3,195 mm.

Le diamètre d'inhibition maximal pour la souche (ATCC 43300)est observé avec le miel 04 à la concentration de 30% avec 13,875 mm \pm 3,875 ;Le miel 01, à 10%, représente par contre l'inhibition minimale avec 3,705 mm de diamètre.

Il est à noté aussi que d'une manière générale, les différents miels présentent des taux d'inhibition supérieurs à ceux résultant des divers antibiotiques testés.

3.3. Effet des miels sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de l'effet antibactérien des différents miels et celui des différents antibiotiques sur la souche de référence de *P. aeruginosa* sont représentés dans les tableaux n°12et 13 illustré par la figure n°28.

Tableau n°12: Effet du miel sur *Pseudomonas aeruginosa*. Les chiffres représentent les diamètres da la zone d'inhibition en mm.

Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	11,62 \pm 4,33	10,18\pm0,53	9,27 \pm 0,97	<u>13,63\pm0,22</u>	10,23\pm1,59
50%	6,305 \pm 1,04	8,45 \pm 0,31	8,81 \pm 1,01	10,28 \pm 0,19	9,1 \pm 0,37
30%	3,53	6,95 \pm 0,84	7,69 \pm 0,06	9,53 \pm 1,48	9,10 \pm 0,78
20%	10,33 \pm 2,56	6,66 \pm 0,48	3,76	9,03 \pm 1,23	2,84 \pm 2,84
10%	0	6,9 \pm 1,32	3,01	7,87 \pm 0,57	9,14 \pm 0,9
5%	6,57 \pm 0,53	3,05 \pm 3,05	7,27 \pm 1,39	9,57 \pm 0,45	6,69 \pm 0,12

Tableau n°13: Effet des antibiotiques sur *P. aeruginosa*.

ATB	CAZ	ENR	AMC	GM
Ø (mm)	31,73	16,98	8,74	22,96

ATB: Antibiotique;

Ø (mm): Diamètre en millimètre.

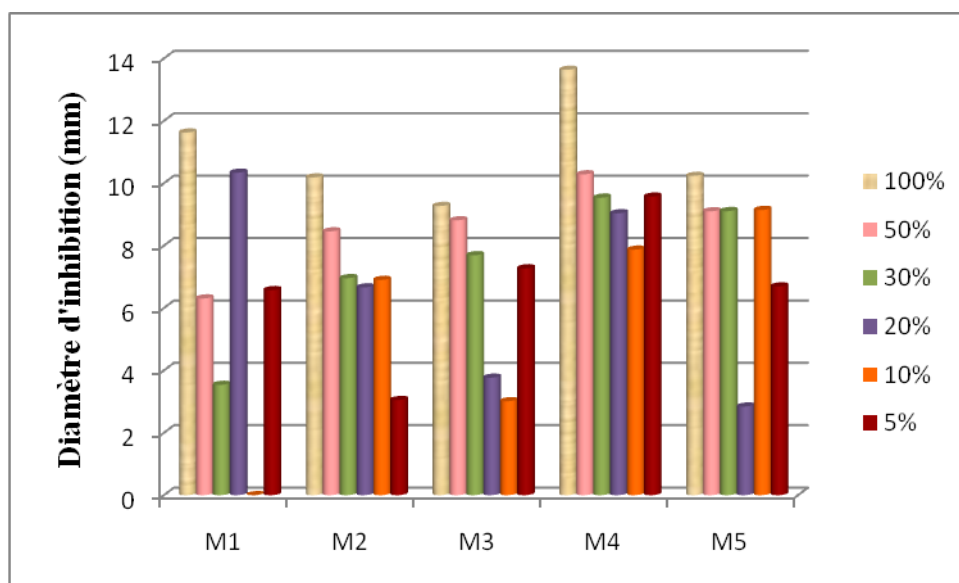


Figure n°26: Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*.

D'après le tableau 12 et 13 la figure 28 qui donnent les résultats de la détermination de l'activité antibactérienne du miel à différentes dilutions *in vitro*. Nous avons constaté donc que le meilleur miel est le miel 04.

Dans le miel M1, nous avons remarqué que la zone d'inhibition maximale est de 11,62 mm \pm 4,33 à la concentration de 100% alors que la valeur minimale s'observe à la concentration de 10% qui est nulle.

Le miel M4 présente la zone d'inhibition maximale avec 13,63 mm \pm 0,225 à l'état pur alors qu'à 10% le diamètre d'inhibition est de 7,87 mm \pm 0,57.

3.4. Effet sur *Bacillus cereus*.

Suite à la mesure des différents halos qui apparaissent après l'incubation à 37°C, les différents miels testés ainsi que les divers antibiotiques ont présentés une inhibition de

Bacillus cereus qui se traduit par le diamètre autour des disques. Les diamètres mesurés en millimètre, sont représentés dans les tableaux 14 et 15 et illustrés par la figure 29.

Tableau n°14 : Effet du miel sur *Bacillus cereus*. Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart-type.

Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	<u>16,925±0,775</u>	8,835±0,355	3,905	8,775±0,705	4,86
50%	14,64±0,52	7,69±0,73	2,835	11,43±1,07	3,795
30%	11,36±3,36	7,365±0,365	2,91	10,03±1,08	6,97±0,68
20%	14,64±0,5	8,645±1,695	3,97	8,94±1	<u>0</u>
10%	<u>0</u>	6,555±0,505	3,735	3,27	<u>0</u>
5%	7,055±1,555	10,38±1,48	2,5	9,27± 0,31	2,555

Tableau n°15: Effet du miel sur *Bacillus cereus*. Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm.

ATB	CAZ	ENR	AMC	GM
Ø (mm)	35,73	0	22,60	0

ATB: Antibiotique;

Ø (mm): Diamètre en millimètre.

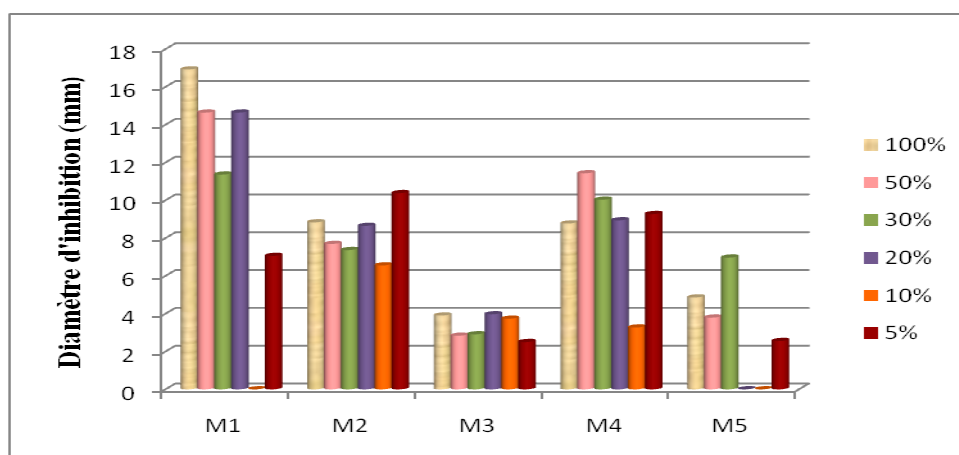


Figure n°27: Effet inhibiteur des différents types et concentration des miels sur la croissance de *Bacillus cereus*.

La figure n°29 et le tableau n°14, montrent l'action antibactérienne des différents types de miels sur *Bacillus cereus*. Il est facile de se rendre compte que l'inhibition est marquée principalement dans le miel M1, nous avons remarqué que la zone d'inhibition maximale est de 16,925 mm \pm 0,775 à la concentration de 100% ; par contre l'inhibition minimale est celle du miel 01 à 10% et le miel 04 à 20% et 10% et qui est nulle.

Tous ces types de miel ont montré que le meilleur miel est celui M1 avec un diamètre de 16,925. Le grand diamètre d'inhibition des antibiotiques est celui de CAZ avec 35,73mm.

3.5. Effet sur *Klebsiella pneumoniae*.

Tableau n°16 : Effet du miel sur *Klebsiella pneumoniae*. Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm.

Concentration	M1	M2	M3	M4	M5
100%	15,11\pm 1,34	8,58 \pm 1,22	8,57 \pm 0,92	8,96 \pm 0,2	10,435 \pm 0,545
50%	7,88 \pm 0,21	8,61 \pm 0,17	3,88	9,03 \pm 1,64	8,48 \pm 0,76
30%	8,08 \pm 0,32	9,58 \pm 0,28	7,855 \pm 1,11	12,52 \pm 1,35	8,92 \pm 2,91
20%	7,075 \pm 0,53	6,97	7,48 \pm 0,67	9,65 \pm 0,52	6,6 \pm 1,25
10%	7,83 \pm 0,67	8,01 \pm 0,79	8,23 \pm 0,83	9,2 \pm 0,03	11,685 \pm 0,055
5%	7,76 \pm 0,71	4,65	9,35 \pm 0,22	9,48 \pm 0,62	6,85 \pm 0,53

Tableau n°17 : Effet du miel sur *Klebsiella pneumoniae*. Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm.

Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)	Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)
CEF	19.65	CHL	28,64
OAD	00	AMP	10,74
TET	00	AMC	28,78
UBN	00	XNL	26,47
ENR	32.54	NAL	17,45
AMX	00	SXT	15,73
NOR	11.04	N	24,81

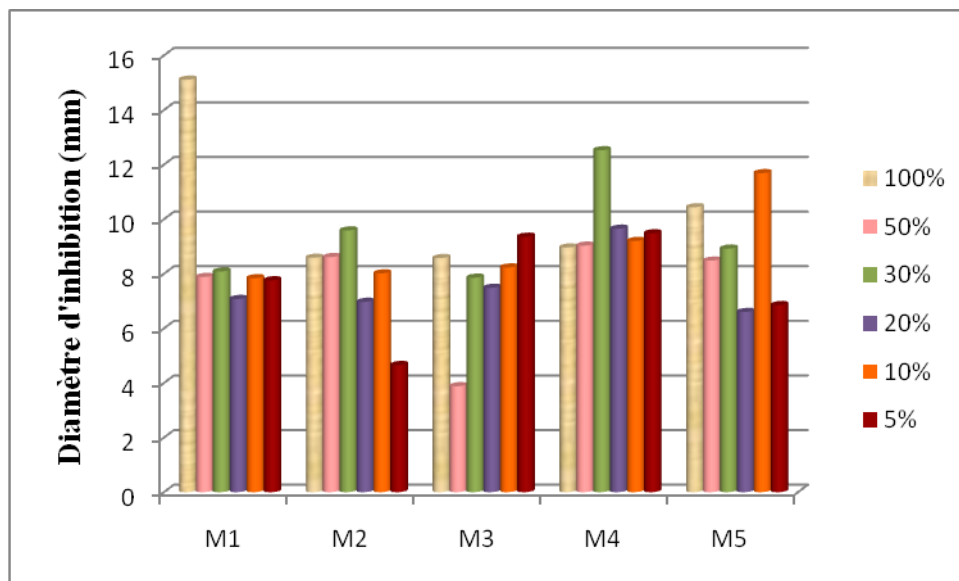


Figure n°27 : Effet inhibiteur des différents types et concentration de miels sur la croissance de *Klebsiella pneumoniae*.

Le tableau n°16 et la figure n°30 indiquent les résultats des tests de l'activité antimicrobienne de miels sur la souche bactérienne de référence : *Klebsiella pneumoniae*.

Le test de l'activité antibactérienne des différentes concentrations de miels testées a inhibé la souche testée. On note un effet plus marqué du miel M1 à l'état pur par rapport aux autres miels testés, avec un maximum de zone d'inhibition de $15,11\text{mm} \pm 1,34$ de diamètre.

Nous remarquons que l'activité inhibitrice des différentes sortes de miels sur *Klebsiella pneumoniae* est importante pour les 6 concentrations et elles varient de $7,07\text{mm} \pm 0,535$ à $15,11\text{mm} \pm 1,34$ mm pour le miel (M1) ; de $4,655\text{mm} \pm 4,655$ à $9,585\text{mm} \pm 0,28$ pour le miel M2 ; de $3,88\text{ mm} \pm 3,88$ à $9,355\text{ mm} \pm 0,225$ pour M3 ; $8,96\text{mm} \pm 0,2$ à $12,525\text{mm} \pm 1,355$ pour (M4) et de $6,6\text{ mm} \pm 1,25$ à $6,85\text{mm} \pm 0,53$ pour le miel M5.

3.6. Effet sur *Enterococcus faecalis*.

Les résultats des tests d'inhibition des miels sur *E.faecalis*, sont regroupés dans le tableau n°18 et 19 illustrés par la figure n°31.

Tableau n°18: Effet du miel sur *Enterococcus faecalis*. Les chiffres représentent les diamètres de la zone d'inhibition en mm± écart-type.

Miel Concentrations	M1	M2	M3	M4	M5
100%	<u>15,59</u>	15,27	4,93	16,05±2,43	9,74±0,35
50%	3,215	9,58±1,72	0	10,98±1,69	4,40
30%	0	3,61	0	4,88	0
20%	6,69	5,07	3,86	4,4	0
10%	6,43	7,685±0,08	4,26	8,23±0,32	0
5%	0	5,365	4,72	9,77±1,94	0

Tableau n°19: Effet des antibiotiques (diamètre en mm) sur *Enterococcus faecalis*.

Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)	Antibiotique	Diamètre d'inhibition (mm)
CEF	00	CHL	24.36
OAD	22.37	AMP	00
TET	26.54	AMC	19.40
UBN	39.65	XNL	22.49
ENR	37.76	NAL	26.01
AMX	32.61	SXT	00
NOR	19.96	N	25.24

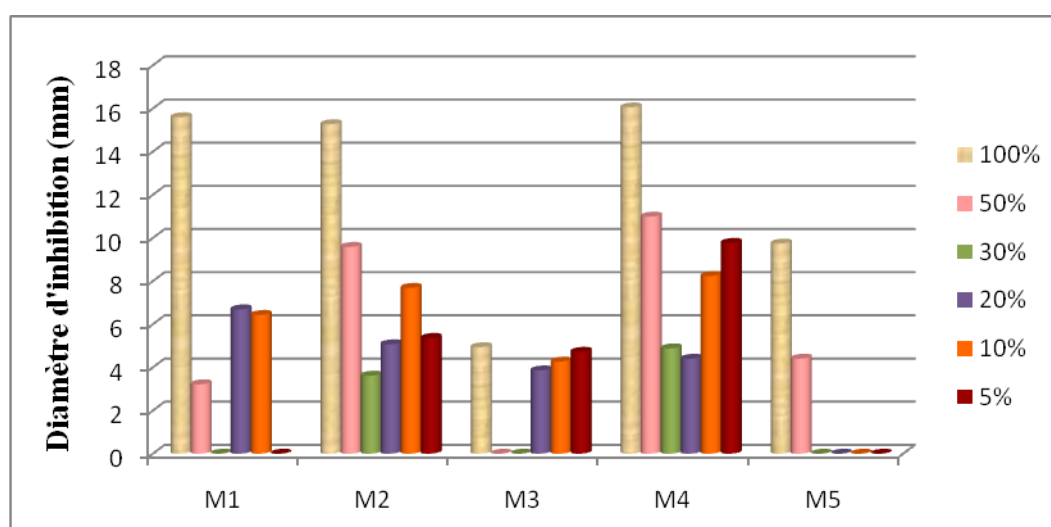


Figure n°28: Effet inhibiteur des différents types et concentration de miel sur la croissance d'*Enterococcus faecalis*.

D'après le tableau n°18 et 19 la figure n°31 qui déterminent l'activité antibactérienne des miels à partir des différentes dilutions *in vitro*, Nous avons constaté donc que les meilleurs miels pour l'inhibition de la souche bactérienne *Enterococcus faecalis*, sont les miels 1, 2 et 4 qui présentent des diamètres d'inhibition de l'ordre de 15.59 ± 7.15 , 15.27 ± 7.85 et $16.05 \text{ mm} \pm 2.43$ respectivement.

Les concentrations dont les valeurs sont minimales sont : pour M1 : 30 et 50% ; M2 : 50 et 30% et M5 pour toutes les concentrations en-dessous de 30% ; la valeur minimale est nulle.

Le meilleur diamètre d'inhibition des antibiotiques est celui d'UBN avec 39,65 mm.

De nombreuses recherches ont été effectuées pour déterminer un spectre antibactérien du miel en vue de l'appliquer sur des plaies contaminées par les germes sensibles par exemple ou pour combattre l'antibiorésistance liée à l'usage des antibiotiques.

L'application de miel sur des plaies infectées aboutit à leur aseptie. A partir de ce constat de nombreux essais cliniques ont été conduits à travers le monde.

Dans ce travail, nous avons trouvé que tout les miels présentent le maximum d'inhibition une inhibition pour *E. coli* avec des diamètres proches allant de 9,6 mm à 10.75 mm. Tandis que pour *S. aureus*, ces diamètres s'évaluent à 17,88 mm pour la souche ATCC 25923 correspondant au miel M5 (miel lebina), et 13.87 mm pour le miel 4 (de cidre) sur la souche ATCC 43300 de *S. aureus*. Ce dernier miel (M4) inhibe plus *Pseudomonas aeruginosa* que le reste des miels avec un diamètre de 13.63 mm.

Pour *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae*, le miel 1 (miel de Thym) présente le maximum d'inhibition comparativement aux autres miels avec des diamètres de 16.92mm et 15.11mm respectivement.

Les miels 1,2, et 4 (de Thym, d'Eucalyptus et de cidre), inhibent *Enterococcus faecalis* avec 15.59 mm, 15.27 mm et 16.05 mm de diamètre respectivement.

Les espèces les plus sensibles sont alors *Staphylococcus aureus* sur le miel M5 de concentration 100% a un diamètre 17,88 mm plus grand par rapport au diamètre des antibiotique utilisés, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae* aussi. Les autres espèces telles que *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterococcus faecalis* sont peu sensibles aux miels.

D'après ASSIE, (2004), les espèces les plus sensibles sont : *Streptococcus pyogènes*, *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*. Les autres espèces telles que *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus species*, *Clostridium welchii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Clostridium tetani* sont également sensibles au miel, mais à un degré moindre. *Clostridium oedematiens* ne semble pas être inhibé par le miel.

Au département de Chirurgie du CHU de Bujumbura au Burundi (NDAYISABA *et al.*, 1992), quarante patients avec des plaies diverses et infectieuses ont été traitées avec du miel. Les prélèvements bactériologiques effectués avant le traitement ont montré la prédominance des *Staphylococcus aureus*, suivis d'*Escherichia coli* et des *Pseudomonas spp.* Ont aussi été isolés des plaies: des *Klebsiella*, des *Enterobacter cloacae* des *Proteus*, des *Acinetobacter*, des *Citrobacter* et des Staphylocoques autres que *S.aureus*.

Au fur et à mesure du traitement, le nombre de prélèvements bactériologiquement positifs a diminué. Au stade de cicatrisation des plaies, seules quelques plaies présentaient encore des germes.

Plusieurs travaux ont montré que *S.aureus* est la plus sensible aux miels (ADOUNI et REZZAG, 2010 ; MOUSSA *et al.* 2012)

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

D'une façon générale, nous avons trouvé que les cinq miels à l'état pur (100%), présentent le maximum d'inhibition. D'après MELLIYOU et CHINOUE (2005), l'activité antibactérienne est révélée particulièrement efficace à fortes doses.

Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes. Premièrement, cette solution concentrée de glucides retire après l'absorption l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes (BOGDANOV, 1997 ; MORAIS *et al.*, 2011). Deuxièmement, son degré d'acidité, valeur du pH le plus souvent faible inhibe la multiplication de la bactérie (TORRES *et al.*, 2004 ; COUQUET, 2013). En outre, Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibitive du miel (ADCOCK, 1962 ; MANDEL *et al.*, 2011).

Les miels foncés ont une activité inhibitrice plus élevée (BOGDANOV et BLUMER, 2001).PATRICK et *al*, (2012) pensent que les propriétés antibiotiques des miels est liés à la défensine secrétée par les abeilles.

Conclusion

Conclusion :

L'objectif de notre travail est de tester l'effet de cinq types de miel sur sept souches microbiennes de références : *Escherichia coli* (ATCC 25922) ; *Klebsiella pneumonia* (ATCC 700603) ; *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853) ; *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923, ATCC 43300 et ATCC 43866 ; ATCC 29213) ; *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) ; ***Bacillus cereus* (ATCC 11778) et *Salmonella Enteritidis* (Souche sauvage).**

Les résultats physico-chimiques ont montrés que nos divers miels sont dans les normes.

Pour ce qui est de l'activité antibactériennes de nos miels ; nous pouvons dire que chaque miel présente une certaine inhibition pour les germes testés, ainsi :

Le miel 01 ou **Montagnard**: la souche la plus sensible à ce miel est ***Bacillus cereus*** et la souche la moins sensible étant *Enterococcus faecalis*.

Staphylococcus aureus semble être la souche la plus sensible vis-à-vis du miel 03 : Multifloral et 05 : de lebina.

Le miel 02 et 04 correspondant aux miels d'Eucalyptus et de cedre respectivement inhibent plus *Enterococcus faecalis*. Alors que *Pseudomonas aeruginosa* semble être la souche la plus sensible au miel d'eucalyptus.

Tous les miels 3, 4 et 5 : multifloral, de cidre et de lebina ; présentent la plus faible inhibition pour ***Bacillus cereus***.

La présente étude a confirmé la propriété antimicrobienne du miel, ces résultats pourraient trouver une application possible dans le traitement des différentes maladies causés par les germes pathogènes (antibio-résistants).

Le miel est un cadeau de la nature. Il possède de nombreuses propriétés thérapeutiques.

Références bibliographiques

Références bibliographiques :

- **ADCOCK. D., 1962:** The effect of catalase on the inhibine and peroxyde values of various honeys. *Journal of Apicultural Research*, 1, pp 38-40.
- ADOUANI. A, REZZAG. MOHCEN. O, 2010:**Extraction de certains composé du miel natural effet antimicrobien. Thèse d'etudes supérieures en biologie, universite kasdi merbah-ouargla .pages 56.
- AL-WAILI. NS, HAQ .A, 2004:** Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. *J Med Food* 7:491–494.
- ARTHASARATHY. S, STEINBERG. D, WITZTUM. JL., 1992:** The role of oxidized low-density lipoproteins in the pathogenesis of atherosclerosis. *Annu Rev Med* 43: pp219–225.
- ASSIE .B, DESCOTTES. B ;, 2004:** (dir.). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse,p 115.
- **BERETTA. G, GRANATA. P, FERRERO. M, ORIOLI. M, FACINO. RM., 2005:** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Anal Chim Acta* 533: p185–191.
- **BLANC .M., 2010:** Propriétés et usage médical des produits de la ruche de docteur en pharmacie de l'universite de limoges pages 142.
- **BOGDANOV. S., 1997:** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie* 30 (7): 748-753.
- **BOGDANOV. S, LULLMANN. C, MARTIN. P., 2001:** *Qualité du miel et norme internationale relative au miel*. Rapport de la commission international du miel. Abeille Cie N° 71-4.1 2p.
- **BOGDANOV. S, RUOFF. K, ODDO PL., 2004:** physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys .*apidologie* 35. 17p.
- **BRADABEAR.N., 2010 :** Le rôle des abeilles dans le développement rural , Manuel sur la récolte la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles , Rome, ISSM 1020-9727,p100.
- **BRUDZYNSKI K., 2006:** Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys.*Canadian Journal of Microbiology*, Volume 52. N° 12. pp. 1228-1237(10).

- **BURNICHON. N, TEXIER.A., 2003:** l'antibiogramme : la détermination des sensibilités aux antibiotiques pp 8-10.
- BOGDANOV. S, MARTIN.P.LULLMANN.C., 1997:** harmonised methods of the european honey commission apidologie, Extraissue, 1- 59.
- BOGDANOV.S UND PETER GALLMANN ALP, STEFAN STANGACIU, THEODORE CHERBULIEZ SOUTH FREEPORT ME, USA, APITHERAPY CONSULTING, BUCAREST, ROUMANIE., 2006:** produits apicoles et santé, ALP forum , N° 41f ISSN 1661-0814 page 5.
- BOUDERHERM, A.HAMMOUDI .E ., 2009:** l'effet antimicrobien du miel, thèse d'étude supérieures en biologie ,université kasdi –merbah ouargla.pages:47.
- BRUNEAU E., 2002:** Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, Rustica, p. 354-384.
- **CEYHAN N., UGUR A., 2001:** Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey, Riv Biol.
- **CHANAUD. P., 2010 :** Les miels. Variétés, bienfaits, recettes. Edisud, Aix-en-Provence, 192 p.
- **CHAUVIN. R., 1968 :** Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In : Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3,pp 116-154.
- **CLEMENCE. H ., 2005:** le miel:de la source a la. therapeutique thèse de docteur en pharmacie, universite henri poincare – nancy1, p 96.
- **COUQUET .Y; 2013:** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.
- **CUQ. J-L ., 2008:** Microbiologie alimentaire. Chapitre les agents antimicrobiens, page 125-130. <http://diffusiondessavoirs.uomlr.fr/balado/wp-content/uploads/2007/10/poly-cours-bio-stia2-007.pdf> (Consulté le 05-02-2008)
- CARON.Y., 2007:** Les antibiotiques, une ressource à préserver; MÉDECINE VÉTÉRINAIRE pp33-34.
- CHATAWAY H, D., 1932:** candian journal of research.v 6, p540.
- CHAUVIN. R., 1968:** L'abeille et la fleur in traite de biologie de l'abeille (T3).Edition masson et cie , p95 ,286-7 ,293 -4-9, 304-6-7 .
- CLEMENT H., 2002 :** Guide des miels. Paris, Rustica, 64 p.
- CODEX ALIMKNATRIUS .**commission du codex alimentarius. edition fao.o.M.S.

- **DESCOTTCS B., 2004:** Le miel comme agent cicatrisant, Thèse de doctorat en médecine, université Toulouse III-Paul SABATIER, Limoges. p 24-6-7-8-9, 32-3, 42- 8 ,52.

- **DESCOTTES. B., 2009:** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. Phytothérapie, vol. 7, n°2, p. 112-116.

- **DONADIEU Y., 2003:**qu'est que le miel .chapitre É. Faculté de médecine de paris .07p .

-**DONADIEU YVES., 1978:** les thérapeutiques naturelles in le miel .Ed Maloine s.a paris,p12-16.

-**DONADIEU, Y; 2006:**les thérapeutique naturelles, produits de la ruche, miel p 6

-**DUVAL. J, SOUSSY. C-J, 1990:** Antibiothérapie (4ème édition), page 3-58.

- **GOETE. P., 2009:** Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. Phytothérapie, vol. 7, n°2, p. 91-93.

- **GOUT .J , 2009:** Le miel. Editions Jean-Paul Gisserot, Paris, 64 p.

- **GUARCH C; 2008:** Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, 72 p.

- **GUARCH C;2008:** Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, 72 p.

-**GERAUD DE, B; 2005:**Indications thérapeutiques apparentées à la cicatrisation, abeilles & cie,n° 104,page 28.

-**GHELDOF .N, WANG .XH, ENGESETH .NJ, 2003:** Buckwheat honey increases serum antioxidant capacity in humans. J Agric Food Chem 51:pp 1500–1505.

-**HUCHET .E, COUSTEL .L., 1996 :** les constituants chimiques du miel .méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment .ecole nationle supérieure des industries agricoles et alimentaire. France. P 5, p 16.

-**HUCHET. E, JULIE C, LAURENT. G., 1996: les constituants chimiques du miel,** Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires.

- **JEAN-PROST P., 2005:** l'apiculture, connaître l'abeille. Conduire le rucher. 7^{ème} édition Lavoisier. p682.

- **LEQUET, L., 2010:** du nectar a un miel de qualite : controles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, these de Docteur Vétérinaire, l'universite claud-bernard - lyon i (médecine - pharmacie), p195.
- **LEQUET. L., 2010:** du nectar a un miel de qualite : controles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, thèse docteur vétérinaire, l'universite claud-bernard - lyon i ,pages 194.
- **LOUVEAUX. J., 1968:** Composition, propriétés et technologie du miel. In : CHAUVIN R. Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, p 277-324.
- **LOUVEAUX. J, MAURIZIO. A et VORWOHL. G., 1970:** *Les méthodes de la mélisso-palynologie*, commission internationale de botanique apicole de l'U.I.S.B. 17p.
- **LOUVEAUX. J., 1985:** *Les abeilles et leur élevage*. Edition Opida. Pp : 165-181
- **LOUVEAUX. J., 1968:** *Composition propriété et technologie du miel*. Les produits de la ruche, in Traité de biologie de l'abeille. Tome 03. Ed Masson et Cie. 389p.
- **MEDA .A, LAMIEN 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.
- **MERAD. M, MERAD. R., 2001:** TOXICITE DES ANTIBIOTIQUES, Médecine du Maghreb,pp18.
- **NDAYISABAG, BAZIRAL, HABONIMANAE ., 1992:** Traitementdes plaies parle miel, Oobservations. La Presse Médicale, (21), n032, 1515-8.
- **PHAM-DELEGUE M.-H., 1999:** Les abeilles. Genève, Minerva, p206 .
- **POTELLE .B, 2011:** ANTIBIOTIQUES cours IFSI page90.
- **PUYT J.D, 2002:** Les antibiotiques et antimicrobiens de synthèse p2.
- **PUYT. J-D et GUERIN-FAUBLEE. V ,2006:** Médicaments anti-infectieux en médecine vétérinaire. Bases de l'antibiothérapie. Ed 2006, page 1-27.
- **ROSSANT. A., 2011:** le miel, un compose complexe aux proprietes surprenantes,thèse de docteur en pharmacie, universite de limoges france faculte de pharmacie pages 133
- **ROMANO. B, UNIONE CONTADINI. T., 2009:** Le chemin du miel, l'école à la ferme page 5-6

- **SABLE., 1997:** Propriétés, valeur nutritionnelle et diététique du miel, cas du miel de tournesol. Apithérapie : la science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être, n°57950, p. 25-32.
- **SCHWEITZER P., 2005:** encore des miels hors normes. Revue l'abeille de France N°917 .laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.p 03.
- **TAGJIDID. MR., 2008 :** antibiogramme: choix, interpretation et limites ,les technologies de la boratoires n° 10 page 16.
- TORRES VAZQUEZ-A, FANG F .C, 2001:** salmonella evasion of the nadph phagocyte oxidase .microbes infect.3,1313-132010.1016/s1286-4579 (1)01492-7.
- WHITE JW., 1975:** Composition of honey. In Crane E (ed): "Honey. A Comprehensive Survey." London: Heinemann Edition, pp 157–206
- YALA. D, MERADA.S, MOHAMEDI. D, OUAR KORICH M.N., 2001:** classification et mode d'action des antibiotiques, médecine du maghreb n°91.

Référence électronique:

- 1- www.ecoles48.net
- 2- www.macrolives.com
- 3-www.biologiq.nl.
- 4-www.uclouvain.be

Etude sur : EFFET ANTIBACTERIEN DE QUELQUES MIELS

Résumé

Le miel est produit par les abeilles à partir du nectar des fleurs ou du miellat. Le miel présente des caractéristiques anti biotiques grâce a ses composants, Dans notre travail on a réalisé une étude comparatif entre cinq échantillons de miel (Montagnard, Eucalyptus, Multi-floral, Jujubier et Lebina) sur sept souches bactérienne de référence (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* et *Salmonella enteritidis*). Les résultats qu'on a eus montrent que l'effet d'inhibiteur a été remarquable chez la majorité des chantillons teste avec une certaine variabilité d'un échantillon a un autre et d'une souche a l'une autre. L'effet du miel sur la sensibilité des *S. aureus* : germe le plus sensible avec un diamètre d'inhibition de 17,88 mm. *E. faecalis*, semble être le germe le moins sensible. Les miels de cidre, multi-floral et de thym présentent le plus grand effet contres ces germes.

Mots clé :pouvoir antimicrobein, miels, souches microbiennes.

الملخص

يتم انتاج العسل من قبل النحل انطلاقا من رحيق الازهار او المن والعسل له خصائص مضادة للبكتريا بفضل مكوناته .
-اجرينا في عملنا هذا دراسه مقارنه بين خمسة عينات من العسل الجبلي . الكليتوس .ازهار الربيع . السدره واللبنه على سبعة سلالات بكتريه (الاشركية القولونية، الكلبسيلا الاتهاب الرائوي، الزائفة الزنجارية ، المكورات العنقودية الذهبية، المكورات البرازية، العصوية الشمعية والملهية السالمونيلا)
- اطهرت النتائج التي حصلنا عليها اثر تثبيطي ملحوظا عند اغلبيه العينات المختبرة مع بعض التفاوت من عينه الي اخرى ومن سلالة الي اخرى .
-تأثير العسل على حساسيه المكورات البرازية مع قطر تطبيطي بي 17.88مم تكون الجرثومه الاقل حساسيه .
-عسل السدر .ازهار الربيع والزعر كان لهم اكثر تأثير ضد هذه المكروبات .
كلمات المفتاح

التأثير ضد المكروبات، العسل، السلالات الميكروبية

Stady:Antibacterial effect of some honey

Summary:

Honey is produced by the bees starting from the nectar of the flowers or the miellat the honey present of the biotic characteristics anti grace has its composants.Dans our work one made a study comparative between five samples of honey (Mountain, Eucalyptus, Multi-floral, Ceder and Lebina) on seven stocks bacterial of reference (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Pseudomonas aeruginosa*,*Sstaphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Bacillus cereus* and *Salmonellas enteritidis* Les results which one had show that the effect of inhibitor was remarkable at the majority of the samples tests with a certain variability of a sample has another and of a stock one other has.The effect of honey on the sensitivity of *S. aureus*:germinate most sensitive with a diameter of inhibition of 17,88 mm. *E faecalis*, seems

Key words:Antimicrobiol power, honey, microbial strains.