

# الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université Ibn Khaldoun –Tiaret-

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie



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

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

Filière : "Sciences biologiques"

Spécialité: "Infectiologie"

Présenté et soutenu publiquement par

M<sup>elle</sup> HENNI Khaldia

M<sup>elle</sup> TITRI Asma

-

*Thème :*

**Traitement alternatif des infections à *Escherichia coli* par le miel et la caséine**

**JURY:**

- Présidente :Dr. MAHOUZ Fatima MCB
- Examineur : Melle. BOUMEZRAG Assia MAA
- Promotrice : Dr.BOURABAH Akila MCA

Année universitaire: 2017 -2018



## *Remerciement*

*En tout premier lieu, nous remercions le bon Dieu tout puissant,  
Le plus Miséricordieux de nous avoir donné la santé et le courage  
pour réaliser ce travail.*

*Nous exprimons toute notre gratitude à notre promotrice Mme  
BOUREBAH.Akila qui nous a donné  
la chance de travailler sous sa direction, dont les encouragements et  
les conseils nous ont permis de réaliser ce travail.*

*Nous aimerons manifester toute notre reconnaissance la plus  
profonde à tous les membres du jury qui ont bien voulu accepter  
d'examiner ce travail.*

*Nous tenons également à exprimer nos sincères remerciements à  
Mme Doukani .K le chef spécialité d'Infectiologie.*

*Nous adresse notre remerciements aussi à :*

*A L'équipe de laboratoire de Biochimie -Département de science de  
la nature et de la vie et a l'équipe de laboratoire Microbiologie du De  
l'institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn*

*Khaldoun de Tiaret*

*Enfin, nous tenons à remercier toute personne ayant encouragé*


*De près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail.*





# Dédicace

*A DIEU le Tout Puissant, le Très Miséricordieux qui m'a accordé santé et courage pour accomplir ce travail. Je suis humble devant votre Grandeur, humble devant ce qui se réalise aujourd'hui, humble devant toutes les responsabilités qui reposent sur moi.*



*A la plus belle perle du monde...ma tendre mère, en témoignage de ma reconnaissance pour votre amour, soutien et encouragement. Je n'oublierai jamais votre patience et compréhension envers moi, et votre aide qu'elle m'a portée pour faciliter la tâche. Que Dieu la garde et protège, je t'aime très fort maman...*

*A mes chers frères : Islem, Ali et Mohamed.*

*Qui n'a cessé d'être pour moi l'exemple de persévérance, de courage et de générosité.*

*A mes aimables sœurs: Fatima, Imen.*

*Que dieu tout puissant, vous donne santé et bonheur*

*HENNI A toute la famille :*

*Je dédie très chaleureusement ce mémoire à mon cher binôme: TITRI ASMA*

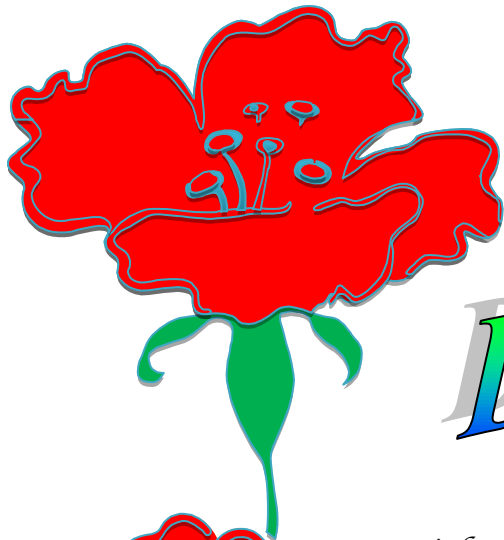
*A mes enseignants qui ont attribué à ma formation. Veuillez trouver ici l'expression de mes profonds sentiments de respect pour le soutien que vous n'avez cessé de me porter.*

*A toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à l'accomplissement de ce travail*

*A tous ceux que j'aurais oublié de citer mais qui existent au fond de mon cœur et de ma pensée.*



*HENNI KHALDIA*



# DEDICACES

*Grace à la volonté de Dieu et avec beaucoup de courage et de patience je dédie ce travail à*

*Tous les membres de ma famille Exceptionnellement :*

## *A ma mère*

*Je ne pourrais te rendre ce que tu as fait pour moi. Si je suis arrivé là, c'est bien grâce à toi. Je te souhaite une longue vie que dieu te protège pour nous et te garde ta santé*

## *A mes très chers frères et sœurs*

*Merci d'être toujours présents à mes côtés et de m'avoir continuellement encouragé.*

*Merci pour tout ce que vous avez fait pour moi*

## *Mon marié*

*Pour ton soutien, tes conseils, ta patience et ta confiance envers moi*

*Je suis fière de toi.*

## *Ma chère binôme HENNI KHALDIA*

*Avec mon grand amour et toute ma tendresse, je vous souhaite un avenir Plein de joie, de réussite et surtout de santé*

*Enfin, à toutes les personnes qui m'ont aidée de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

*Titri Asma*



# Sommaire

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii
Liste des annexes	iv

## Introduction

### Chapitre I

#### *Escherichia coli*

I -1-Généralités	03
I -2-Historique	03
I -3-Taxonomie	04
I-4-Habitat et écologie	04
I-5-Caractères morphologiques	04
I -6-Caractères biochimiques	05
I-7-Caractères cultureux	06
I- 8-Caractères antigéniques	07
I-8-1 - Les antigènes somatiques «antigènes O»	07
I -8-2- Les antigènes de capsulaire « K »	07
I -8-3- Antigène flagellaire «Antigènes H»	07
I -9- Facteurs pathogènes	08
I -9.1- Virulence	08
I -9.1.1- Adhésines	08
I -9.1.2- Hémolysines	08
I -9.1.3- Bactériocine	08
I -9.2- Toxinogénèse	08
I -10-Pouvoir pathogène	08
I- 10.1- Infection intestinales	08
I -10.1.1- <i>E.coli</i> entérotoxigène (ECEP)	08
I -10.1.2- <i>E .coli</i> entérotoxino-gène (ECET)	09
I -10.1.3- <i>E .coli</i> entérohémorragique (ECEH)	09

I -10.1.4- <i>E .coli</i> entéroinvasifs (ECEI)	09
I -10.2- Infection extra-intestinale	09
I -10.2.1- Infection urinaire	09
I -10.2.2- Septicémies et méningites	10
I -11-La résistance d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques	10

## Chapitre II

### les antibiotiques

<b>II-1-Définition</b>	11
<b>II -2-Historique</b>	11
II- 3-Le choix des antibiotiques	11
II-4 - Mode d'action des antibiotiques	12
II-5-Les test de sensibilité (antibiogramme)	12
II- 5.1-Méthode de puits	12
II- 6- L'association des antibiotiques	12
II- 7-L'évaluation de l'activité des antibiotiques	12
II -7.1-Concentration minimale inhibitrice (CMI)	13
II -7.2-Concentration minimale bactéricides(CMB)	13
II -8-La résistance des bactéries aux antibiotiques	13

## Chapitre III

### Généralité sur les produits alternatives (miel et caséine)

<b>III-A-1. Définition du miel</b>	14
III -2. Origine du miel	15
III -2.1. Nectar	15
III- 2.1.1. Composition de nectar	15
III- 2.2. Miellat	15
III.2-2.1. Composition de Miellat	15
III -2.3. Autres origines du miel	16
III -3. Processus de fabrication	17
III -4. Types de miels	17
III -4.1.1. Les miels mono floraux (uni floraux)	18

III -4.1.2. Miels multi floraux (poly floraux)	18
III -4.2 .Principales différences entre miels de nectar et de miellat	18
III -5. Composition du miel	19
III -6. Propriétés antibactériennes	22
III -6.1. L'origine des agents antibactériens du miel	22
III -6.2. Les facteurs antibactériens du miel	22
III -6.2.1.L'effet osmotique	22
III -6.2.2 .L'acidité	22
III -6.2.3. le peroxyde d'hydrogène $(H_2O_2)$	22
III-6.2.4. Autre substances	23
III -7. Conservation et altération du miel	23
III -7.1. Conservation du miel	23
III -7.2. Altération du miel	23
III -7.2. 1.La fermentation	24
III -7.2 .2. Effet de la température	24
III -7.2. 3. Le vieillissement	24
III -7.2. 4 .Action de la lumière	24
III -8. Qualité du miel	24
III-B- Généralité sur la caséine	26
III-1. Composition de caséine	
III--2. Eléments constitutifs des caséines	26
III-3. Caractères généraux des caséines	27
III--3.1 Caséine $\alpha$	27
III-3-.2 Caséine $\beta$	27
III-3.3 Caséine $\kappa$	28
III-3.4 Caséine $\gamma$	28
III-4. Micelle de caséine	29
III-5. Comparaison des hydrophobicités des caséines	30
III--6. Propriétés des caséines	30
III- 6.1. Phi et charge électrique	30
III-6.2. Propriétés associatives des caséines	31
III -7-Propriété antibactérien de caséine	31

## **Chapitre IV**

### **Matériels et Méthodes**

IV -1. Matériel	33
IV -1.1. Matière première	33
IV -1.2. Matériel de laboratoire et réactifs	36
IV -2. Méthodes	37
IV -2.1. Protocole expérimental	37
IV -2.2. Méthodes physico-chimiques	38
IV -2.2.1. Densité	38
IV -2.2.2. Détermination du pH	38
IV -2.2.3. Conductivité électrique	39
IV -2.2.4. Acidité	40
IV-2.3.Evaluation de l'effet antibactérien des deux variétés du miel et de la caséine	40
IV -2. 3.1. Souches bactériennes	40
IV -2.3.2. Préparation de l'inoculum standard des souches	41
IV-2.3.3. Détermination de la concentration minimale inhibitrice en milieu solide	41
IV -2.3.3.1. Méthode puits	42
IV -2.4. Antibiogramme	43

## **Chapitre V**

### **Résultats et Discussion**

V –Résultats	45
V –Discussion	52

[Conclusion](#)

[Références bibliographiques](#)

[Annexes](#)



***Listes d'abréviations :***

<b>APEC</b>	Aviani pathogenic Escherichia coli
<b>BMR</b>	bactérie multi résistance
<b>CMB</b>	Concentration minimal Bactéricide
<b>CE</b>	Conductivité Electrique.
<b>CMI</b>	Concentration minimal inhibitrice.
<b>CMB</b>	Concentration minimale bactéricides
<b>CMP</b>	caséino macropeptide
<b>DO</b>	Densité optique
<b><i>E .coli</i></b>	<i>Escherichia coli</i>
<b><i>ECEP</i></b>	<i>E.coli</i> entéropathogène
<b><i>ECET</i></b>	<i>E .coli</i> entérotoxinogène
<b><i>ECEH</i></b>	<i>E .coli</i> entérohémorragique
<b><i>ECEI</i></b>	<i>E .coli</i> entéroinvasifs
<b>GMP</b>	glyco macro peptide
<b>HMF</b>	hydroxy méthyl furfural
<b>Lps</b>	lipo poly saccharidiques
<b>LT</b>	Thermolabile.
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>pH</b>	Potentiel d'hydrogène .
<b>Phi</b>	pH isoélectrique
<b>P</b>	Phosphore
<b><i>UPEC</i></b>	<i>E.coli</i> uro-pathogène
<b><i>ONPG</i></b>	Ortho –Nithro- Phényl- B-D- galagtopyranoside
<b><i>ufc</i></b>	<b>unite formonte colonie</b>

Tableau	Titre	Page
01	Taxonomie d' <i>E coli</i>	02
02	caractères biochimiques d' <i>E Coli</i> .	04
03	Principales différences entre miel de miellat et miel de nectar	19
04	principaux composants du miel	20
05	Concentration moyenne des protéines du lait de différentes Espèces en (mg/l).	25
06	Composition moyenne de la micelle de caséine en g/100g	27
07	caractéristiques de constituants principales de caséines	28
08	Propriétés caractéristiques des caséines $\alpha_1$ , $\alpha_2$ , $\beta$ , k	28
09	Ingrédients et produits laitiers commercialisés ayant des effets revendiqués sur la santé basés sur des peptides bioactifs issus du lait	32
10	Tableau représente les deux variétés de miels utilisés	33
11	Les disques d'antibiotiques utilisés	35
12	Matériel utilisé	36
13	Résultats des analyses physico-chimiques pour les deux échantillons de miels.	45
14	La concentration minimale inhibitrice du miel multi floral vis-à-vis les différentes souches d'E. coli des différentes espèces humaine ; aviaire et du lait de vache	47
15	La concentration minimale inhibitrice du miel du Forbe vis-à-vis les différentes souches d'E. Coli des différentes espèces humaine ; aviaire et du lait de vache	48
16	L'effet antibactérien de la caséine seule et mélangée avec les deux types du miel vis-à-vis les différentes souches d'E. Coli.	49
17	Le résultat d'antibiogramme des trois souches étudiées d'E. coli.	50
18	Tableau présentatif de la réponse des souches d'E .Coli vis-à-vis les antibiotiques	50
19	La CMI du miel de quelques recherches vis-à-vis E .coli.	56

### *Liste des figures*

<b>Figure</b>	<b>Titre</b>	<b>Page</b>
<b>01</b>	<i>Escherichia coli</i> vue par microscopie électronique	01
<b>02</b>	<i>Escherichia coli</i> vue par microscopie photonique après coloration de Gram	03
<b>03</b>	Planche d'envol d'une ruche	12
<b>04</b>	Origine du miel	14
<b>05</b>	Etapas de formation de miel	15
<b>06</b>	Composition moyenne de miel	21
<b>07</b>	Modèle de micelle de caséine avec sous –unités	26

08	Structure d'une micelle de caséine stable	29
09	Structure d'une submicelle caséinique	29
10	Micrographe électronique d'une micelle de caséine	30
11	Miel de type Forbe	34
12	Miel de type Multi floral	34
13	la Caséine utilisée	34
14	Escherichia coli de type Humain, Aviaire et lait de vache	34
15	des disques utilisés	35
16	protocole expérimentale	37
17	Répartition de la densité des miels	45
18	Répartition des valeurs d'acidité des miels.(Multi floral et la forbe).	46
19	Distribution de la conductivité électrique des miels	46
20	Les concentrations minimales inhibitrices du miel multi floral vis-à-vis les différentes souches <i>d'Escherichia coli</i>	47
21	Les concentrations minimales inhibitrices du miel du Forbe vis-à-vis les différentes souches <i>d'Escherichia coli</i>	48
22	Figure représentatif de la caséine seule	49
23	Figure représentatif de mélange de la caséine avec miel de type multifloral	49
24	Figure représentatif de mélange de la caséine avec le miel de type Forbe	49
25	Résultats de l'antibiogramme chez la souche <i>d'E.coli</i> de lait de vache	51
26	Résultats d'antibiogramme chez la souche <i>d'E.coli</i> d'origine humaine	51
27	Résultats d'antibiogramme chez la souche <i>d'E.coli</i> d'origine Aviaire	51

# INTRODUCTION

La maîtrise des infections bactériennes devient complexe du fait que de nombreuses bactéries ont développé une résistance à la plupart des antibiotiques ce qui a constitué un problème de santé important à l'échelle mondiale. Parmi ces bactéries, on a *Escherichia coli*, qui est l'agent le plus fréquent parmi les isolats cliniques provoquant une infection chez l'homme. Certaines souches *d'Escherichia coli* se caractérisent par leur résistance à plusieurs antibiotiques ce qu'on appelle la multi résistance. La situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier (Liazid (2012)), suite à cette préoccupation concernant les effets indésirables des molécules synthétiques destinées à la lutte contre les infections bactériennes, il semble donc important de trouver une alternative à l'utilisation des antibiotiques classiques. Parmi ces produits on a le miel et la caséine .

Les remèdes à base de miel constituant une alternative dans les systèmes de soin primaires et donc, une voie prometteuse pour le développement des médicaments traditionnellement améliorés. Récemment, beaucoup de chercheurs s'intéressent au miel grâce à ses propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes, cicatrisantes et antioxydantes, qui sont utiles pour le traitement des brûlures, des blessures, des troubles gastro-intestinaux, des ulcères et autre (Lobreau-Callen et al., 2000 ; Al-Mamary et al., 2002) Il a été rapporté que ses propriétés intrinsèques affectent la croissance et la survie des microorganismes par des actions bactéricides ou bactériostatiques (Manzoor et al., 2013).

Et du point de vue nutritionnel, les caséines constituent une source relativement bon marché d'acide aminés (aa) notamment d'acides aminés essentiels non synthétisés par l'organisme, de calcium alimentaire et de phosphore pour les nouveau-né (Holt et Sawyer, 1988). Les caséines sont actuellement recherchées aussi pour leurs propriétés fonctionnelles que pour les activités biologiques de leur peptide constitutif (Cayot et Lorient, 1998).

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre travail, d'évaluer la qualité des deux variétés de miels et de la caséine sur la base de l'étude des propriétés physico-chimiques des miels et de déterminer l'activité antibactérienne de la caséine et de deux variétés de miels sur quelques souches *d'Escherichia coli* étant comme antibiorésistante .

Pour se faire, nous avons mis à profit, les méthodes d'analyses physico-chimiques pour les deux variétés de miel la méthode de diffusion en milieu gélosé par les disques, qui ont permis de déterminer la sensibilité des souches étudiées aux miels et à la caséine à différentes concentrations.

Pour cela, nos objectifs sont comme suit :

- Voir la sensibilité d'*Escherichia colivis*-à-vis les antibiotiques.
- Voir l'effet antibactérien de deux variétés du miel (Forbe et multi floral de la région de Tiaret et Tissemsilt consécutivement)
- Voir l'effet antibactérien de la caséine vis-à-vis *E. coli*.
- Voir l'effet antibactérien du mélange entre les deux variétés

***CHAPITER I***  
***Généralité sur***  
***Esherichia coli***



*Escherichia coli* est l'une des espèces bactériennes les plus rencontrées en pathologie humaine. Récemment, les connaissances sur les mécanismes physiopathologiques des infections à *Escherichia coli* très rapidement progressé mettant en lumière la très grande diversité des facteurs de virulence de cette espèce (Dromigny, 2012)



**Figure N°01:** *Escherichia coli* vue par microscopie électronique (James et al., 2004).

## 2. Historique :

**Theodor Escherich** (1857 ; 1911) est un pédiatre allemand décrivant en 1885 l'espèce *bacterium coli* connu, isolé des selles de bébé nourris exclusivement au lait maternel. On sait aujourd'hui que cette entérobactérie s'installe dans l'intestin des nouveau-nés rapidement après la naissance pendant un temps, elle constitue l'élément dominant de sa flore intestinale et elle reste présente chez l'adulte (Ari et Sezonov, 2008).

Dans une démarche originale Escherich examina les bactéries trouvées dans les intestins de nouveau-nés sains aussi bien que malades. Il trouva que le tractus intestinal stérile à la naissance était rapidement envahi par de nombreuses espèces de bactéries. Plus tard, mais avant que l'enfant sevré, cette faune disparaissait pour laisser la place à un bacille qu'il nomma *Bactérium coli* commune. Escherich observa que celui-ci se trouvait chez tous les individus, sains et malades, et qu'il était inoffensif. Cependant il fut montré par la suite qu'il en existait des variantes pathogènes dont l'une est un agent de la diarrhée. Escherich nota que *Escherichia coli* était facile à cultiver au laboratoire. Ou il croissait bien sur des milieux organiques complexes et sur des milieux inorganiques additionnés d'un sucre (Ari et Sezonov, 2008)

### 3. Taxonomie :

La position phylogénétique est présentée dans le tableau N°1 :

**Tableau N°1:** Taxonomie d'*Escherichia coli* (Belouni, 2010)

Domaine	<i>Bactéria</i>
Règne	<i>Procaryotae</i>
Phylum	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobactériae</i>
Ordre	<i>Enterobacteriales</i>
Famille	<i>Enterobactériaceae</i>
Genre	<i>Escherichia</i>
Espèce	<i>Escherichia coli</i>

### 4. Habitat et écologie :

Les *E. coli* colibacilles sont des hôtes normaux de l'intestin : ils représentent près de 80% de la flore intestinale aérobie de l'adulte (flore souks dominante est à 90% anaérobie)

On peut les retrouver également au niveau de diverses muqueuses chez l'homme et chez les animaux (SINGLETON, 2005). Les colibacilles sont présentés dans les voies biliaires et amygdales (PILET et al, 1975; AVRIL et al ;2000)

Cette bactérie est connue depuis longtemps comme commensale du tube digestif et pathogène pour l'appareil urinaire. (AVRIL et al ,1992).

### 5. Caractères morphologiques :

*E. coli* est une entérobactérie forme bacillaire, anaérobie facultative à gram négatif ou l'enveloppe consiste en deux membranes concentriques entre elle dans un compartiment appelé le périplasma , une paroi rigide faite de peptidoglycane (Ari et Sezonov, 2008).

Elle est une taille moyenne de 2 à 6 um de long sue 1 à 1,5um de large ; mobile grâce à une ciliature pérित्रиче , il est non sporulé (GUIRAUD,1998).

Le principal composant est l'eau, elle est représentée environ 80% du poids de la bactérie.

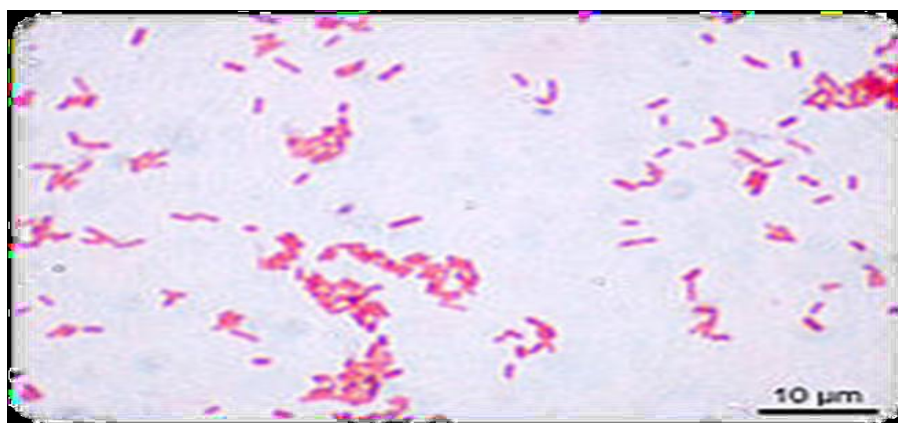


Figure N° 02 : *Escherichia coli* vue par microscopie photonique après coloration de Gram.

## 6. Caractères biochimiques :

- Les principaux caractères sont : absence de production d'oxydase, absence d'uréase, *Escherichia coli* est caractérisés par la fermentation rapide du lactose (24 à 48 heures), la fermentation du dulcitol et la salicine. Ces caractéristiques ont plus de corrélation avec le sérotype qu'avec la virulence des souches APEC (**Dho moulin et Fairbrother, 1999**).
- Le reste des caractères est indiqué dans le tableau n°2
- Tableau N°2 : Caractères biochimiques d'*Escherichia coli* (**LARPENT et LARPENT- GOURGAUD, 1997**).

Caractères biochimiques	<i>Escherichia coli</i>	Caractères biochimiques	<i>Escherichia coli</i>
Lactose	+	Uréase	-
Sorbitol	+	Désaminase oxydative	-
ONPG	+	Phényl-alanine désaminase	-
Indole	+	Gélatinase	-
Gaz	+	Malonate	-
Mannitol	+	H <sub>2</sub> S	-
Citrate de Simmons	-	Inositol	-

## **7. Caractères culturels :**

Les *Escherichia coli* se cultivent facilement sur des milieux ordinaires, à une température de 37°C mais la culture est possible entre 20°C et 40°C.

Leur pH optimum se situe entre 7 et 7,2 mais ils supportent un pH de 5,8 à 8 (voisin de la neutralité), temps de division varie entre 20 à 40 minutes (**BERCHE, 2002**)

Sur gélose simple, les colonies atteignant 2-3 mm sont rondes, lisses, brillantes, à bords bien délimités ou réguliers dans le cas des colonies lisses ou smooths mais il existe aussi des formes rugueuses qui présentent un contour irrégulier, une surface milieu rugueuse.

Sur le liquide, elles occasionnent un trouble uniforme du bouillon. Les cultures se font en principe sur des milieux plus sélectifs qui permettent l'identification et l'isolement des *Escherichia coli*. Ils contiennent des produits inhibiteurs vis-à-vis des bactéries Gram positifs, mais aussi des indicateurs colorés de pH (rouge phénol). Ces milieux facilitent l'isolement de ces bactéries en vue de l'identification (**le Minor et Veron, 1989**).

## **8. Caractères Antigéniques :**

Les entérobactéries possèdent toutes des antigènes de paroi (somatique) ou antigène O

Les entérobactéries mobiles possèdent en plus des antigènes de flagelle ou antigènes H.

Enfin certains possèdent un antigène d'enveloppe ou antigène capsulaire « K » (**Mainil, 2005**)

**8.1. Les antigènes somatiques « O » :** Les antigènes O sont des endotoxines. Il est composé de lipopolysaccharidiques (LPS) complexes (antigène de la paroi) qui contiennent une fraction protéique qui rend l'ensemble antigénique. Il existe près de 160 sérotypes .

Il contient un grand nombre d'unités répétées d'oligosaccharides de 3 à 6 sucres dont la combinaison détermine la diversité d'antigènes O (**Avril et al, 2002**).

### **8. 2. Les antigènes de capsules « K » :**

Les antigènes de surface aussi appelés antigènes de capsule ou d'enveloppe sont des polysides acides qui ont été initialement divisés en trois types A, B et L.

➤ L'antigène L, thermolabile, est le plus fréquent .Le chauffage à 100°C pendant une demi-heure le détruit et démasque l'antigène O le rendant accessible aux techniques de sérogroupage.

- L'antigène A est plus rare et correspond véritablement à un antigène capsulaire. Le chauffage à 100°C ne suffit pas à le détruire. Seul un autoclavage à 121°C durant une heure permet de démasquer l'antigène somatique.
- L'antigène B est toujours présent chez les *Escherichia coli* entéro pathogènes des gastro-entérites infantiles .Il a une thermolabilité intermédiaire : après ½ h à 100°C, il reste toujours de l'antigène A mais l'antigène O peut entrer en contact avec le sérum par trouage de l'enveloppe, la fixation de l'agglutinine est toujours positive mais le pouvoir antigénique se perd progressivement (en fonction de la durée de chauffage) (**mainil, 2004**).
- L'antigène K qui entoure la paroi de certaines entérobactéries peut masquer l'antigène O (**Avril et al ,2002**).

**8. 3. Antigène H :** ou flagellaire, il est de nature protéique présentant chez des formes mobiles .Cet AgH est constitué de molécule de flagelline (composé en myosine du muscle) , il présente la spécificité d'être thermolabile détruit par l'alcool , mais insensible à l'action de formol.(**LARPENT et al ,1985**). Ces antigènes H causent en présence d'anticorps correspondant une agglutination floconneuse , facile à dissocier et apparaissent après 24heures à 37°C. (**LEMINOR et al ; 1990**).

### 9. Facteurs pathogènes :

D'après **NAUCIEL, (2000)**, les colibacilles pathogènes agissent par l'association de deux processus : la multiplication et élaboration des substances pathogènes. On peut considérer deux types de pathogénicité : la virulence et la toxinogénèse.

#### 9.1- Virulence :

La virulence est le pouvoir d'envahir les tissus, de s'y multiplier et d'y créer les lésions grâce aux facteurs spécifiques sont :

**9.1.1- Adhésines :** de multiples adhésines ont été décrites, il existe des adhésines de type I, type P, et de type M

**9.1.2- Hémolysines :** appelée aussi colylisine , c'est une protéine cytotoxine , responsable de la destruction des hématies en provoquant des pores .

**9.1.3- Bactériocine :** ce sont des substances de nature polypeptidique ou protéiques, généralement complexes ( glucido-lipido-protéique) et activent vis-à-vis de nombreuses entérobactéries telle que les salmonella et des shigella

### 9.2- Toxinogénèse :

Elle a le pouvoir d'élaborer de toxines, le colibacille élabore une endotoxine qui est commune aux entérobactéries, découverte par PETTER ; c'est une substance toxique complexe de poids moléculaires élevés, de nature glucido- lipido – protéique thermostable spécifique. Elle est antigénique (Antigène O) et active à des doses relativement faibles. (LECLER et al, 1983)

### 10. Pouvoir pathogène :

En médecine humaine, *Escherichia coli* peut être un banal commensal ou un indiscutable agent pathogène il peut donner lieu à divers types d'infection (FLADNROIS ,1997).

#### 10.1. Infection intestinale :

*Escherichia coli* l'un des causes majeures des diarrhées aiguës dans le monde, cette bactérie entraîne encore une mortalité importante dans les pays en voie de développement (BERCHE et al., 1989)

D'après Avril et al, 1992, les différents syndromes cliniques sont dus à différents types d'*Escherichia coli* On reconnaît aujourd'hui quatre types de souches responsables de diarrhée :

##### 10.1.1- *Escherichia coli* entéro-pathogène :( *ECEP* )

Les *ECEP* sont des souches particulières de *Escherichia coli* responsables de gastro-entérites infantiles (AYQUEM et al., 1998)

Les infections causées par ces souches atteignent uniquement les nourrissons de moins de deux ans et entraînent une diarrhée sévère avec vomissement et déshydratation aiguë (toxicose) (GAILLARD et al., 1989)

Cette déshydratation est à l'origine d'un taux de mortalité qui dans certains cas pourrait atteindre près de 50% de la population malade.

##### 10.1.2- *Escherichia coli* entérotoxinogène : ( *ECET* )

Les *ECET* sont une des souches les plus fréquentes des diarrhées chez l'adulte comme chez l'enfant, provoquent un syndrome de type cholériforme. ces souches responsables également des diarrhées de voyageurs non immunisés, cette diarrhée est appelée « Turista » (AYQUEM et al, 1998 ; Avril et al., 2000).

##### 10.1.3- *Escherichia coli* entérohémorragique (*ECEH*) :

les *ECEH* sont des souches qui provoquent une diarrhée sanglante et éventuellement un syndrome d'urémie hémolytique liés à la présence d'une entérocytotoxine : vérotoxine 1 (de type SLT 1) et vérotoxine 2. (GUIRAUD ,1998)

Il est important de noter de *ECEH* présente le caractère de ne fermenter le sorbitol pendant les 24 heures (JOFFIN et al 1999)

### 10.1.4- *Escherichia coli* entéroinvasifs (ECEI):

Comme les Shigella, les *Escherichia coli* entéroinvasifs sont des agents de dysenterie bacillaire (SINGLATON, 1999).

Toxine LT : entraîne la sécrétion d'un liquide riche en électrolyte dans la lumière de l'intestin, ce qui se traduit par une diarrhée aqueuse (détruit à 5C° /30mn).

Toxine ST : stimule les entérocytes en provoquant une sécrétion accrue des ions chlorures, une inhibition de l'absorption des ions de sodium et entraîne une importante fuite hydrique. (AVRIL et al ; 2000).

### 10.2- Infection extra-intestinale :

#### 10.2.1- Infection urinaire :

Infection urinaire à *Escherichia coli* uro-pathogène (UPEC). Première bactérie responsable d'infections urinaires communautaires et nosocomiale responsable de cystites voir de pyélonéphrites après pénétration par voie urétrale ascendante grâce à leur capacité d'adhérence à l'arbre urinaire (BIANCHI, 2013).

#### 10.2.2- Septicémies et méningites :

Les *Escherichia coli* sont isolés dans 20% des septicémies et représentent 45% des septicémies dues aux bacilles à gram négatif. Les méningites sont rares, elles surviennent surtout chez les nourrissons mais sont souvent grave. Elle est remarquable que 80% des *E. coli* isolés de méningites possèdent l'antigène K1 (Flandrois, 1997).

### 11.La résistance d'*Escherichia coli* aux antibiotiques :

D'après FLANDROIS (1997), *Escherichia coli* n'est plus le germe uniformément sensible des débuts de l'antibiothérapie.

BERCHE et EL.(1989), affirment qu'un certain nombre de souches peuvent acquérir des résistances multiples aux antibiotiques, leur fréquence varie en fonction du degré de la pression de sélection par les antibiotiques.

# CHAPITRE II

# LES ANTIBIOTIQUES



### 1. Définition :

Les antibiotiques sont des substances chimiques produites par des micro-organismes ou par la synthèse chimique, ils empêchent le développement de micro-organismes (bactériostatiques) ou les détruisent (bactéricides) (**JOLLIET et al, 2000**).

Le mot antibiotique vient du grec ; c'est un composé du préfixe anti (contre) et biotique (vital). (**SIMON et al, 1970**).

### 2. Le choix des antibiotiques :

D'après (**PERLEMUTER et al,2000**) ;(**KATZUNG et al,2000**)le choix de l'antibiotique dépend de 6critères :

-Bactériologiques :Identification du germe après prélèvement micro-bio + étude de sa sensibilité in vitro aux ATB

En l'absence du germe en cause, le choix de l'ATB repose sur le diagnostic clinique en fonction des germes habituellement responsables de la pathologie préjugée

-Pharmacologiques. L'ATB choisi doit diffuser et être présent sous forme active au site infecté, à une concentration supérieure à sa CMI vis-à-vis du germe considéré  
-Individuel (lié au patient).

-Toxicologiques.

Individuel : Le choix d'un ATB doit prendre en compte le terrain : femme enceinte, enfant, nourrisson, nouveau né, personne âgée, insuffisant rénal ou hépatique, allergique, immunodéprimé....

Ces situations peuvent entraîner des adaptations de posologies ou des contre-indications  
-Economique.

-Les trois premiers critères (critères majeures) doivent être impérativement respectés.

### 3.Mode d'action des antibiotiques :

Les antibiotiques agissent à l'échelon moléculaire au niveau d'une ou de plusieurs étapes métaboliques indispensables à la vie des bactéries, (**MOHAMMEDI, 2001**).

Que se soit l'action des antibiotiques bactéricides ou bactériostatiques, le mécanisme d'action est complexe.

- En empêchant les synthèses d'acide nucléiques de la bactérie.
- En désorganisant la membrane cytochimique.
- En perturbant la synthèse des protéines bactériennes.
- En agissant sur la perméabilité membranaire (**PERRY et al, 2004**).

#### 4. Les tests de sensibilité (antibiogramme) :

L'antibiogramme est une méthode de travail microbiologique, utilisant un milieu gélose spécifique en boîte pétri et des disques imprégnés d'antibiotique à des concentrations déterminées.

Cette méthode permet d'évaluer la sensibilité d'une bactérie pathogène vis-à-vis d'antibiotique choisi en fonction des indications cliniques fournies et de la prévalence de la résistance acquise.

L'antibiogramme a pour but de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques (**EUZEBY, 2001**).

##### 4.1.Méthode de puits :

Cette technique prend de boîte de pétri mélangés aux cultures de bactéries particulières. Le diamètre de la zone de l'inhibition bactérienne de croissance est mesuré après incubation des boîtes de pétri . (**SCIENTIFIC REPORT, 1998**).

#### 5. L'association des antibiotiques :

Selon **BOULAHBAL(1994)**, l'utilisation d'une association d'antibiotiques est justifiée dans quatre cas :

- Elargir le spectre d'activité dans les cas d'infections à polymicrobiennes
- Traiter en urgence une infection grave non diagnostiquée.
- Prévenir la sélection de mutants résistants lors des traitements de longue durée.
- Obtention d'un effet synergique.

#### 6.L'évaluation de l'activité des antibiotiques :

L'activité antimicrobienne est mesurée en déterminant la concentration de composés antimicrobiens requise pour empêcher la croissance d'un micro-organisme étudié, une valeur appelée la concentration minimale inhibitrice (CMI) (**MADIGAN et MARTINKO, 2007**).

##### 6.1. Concentration minimale inhibitrice (CMI):

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'antibiotique capable d'inhiber la croissance du souche (**BERZIN et BROGARD, 1999**). Une souche est dite sensible lorsque la CMI est très inférieure aux taux sanguins d'antibiotique obtenus avec un traitement à dose usuelle (**BERCHE et al ,1988 ; TOUITOU ; 2000**).

**6.2. Minimale bactéricides (CMB) :**

La CMB est la plus faible concentration est la plus faible concentration d'antibiotiques ne laissent survivre qu'un nombre inférieure ou égale à  $10^4$  bactéries de l'inoculum, après incubation de la culture pendant 18heurs à  $37C^\circ$  (DELARRAS,2007).

**7.La résistance des bactéries aux antibiotiques :**

La résistance aux antibiotiques apportés par des plasmides à poser un problème particulier, car ces plasmides peuvent porter des gènes confèrent une résistance à de nombreux antibiotiques différents en même temps (NICKLIN et al, 2000).

D'après JEROME el al.,(2004),pour être efficace. Un antibiotique doit parvenir au contact de la bactérie, ce qui implique qu'on tienne compte, dans la prescription, des données pharmacologique telles que la posologie, la voie d'introduction, la diffusion tissulaire et le métabolisme de la molécule. Si l'une de ces conditions n'est pas remplie, l'antibiotique même correctement administré, se révèle inefficace. Ce phénomène appelé résistance est lourd de conséquences et doit être si possible dépisté au laboratoire.

Les bactéries résistantes aux antibiotiques continuent à être les principales concernées de santé dans le monde entier (BASUALDO et al, 2007).

# CHAPITRE III

## Généralité sur les produits alternatifs (miel- caseïne)

**B-Généralité sur la caséine :**

Le lait renferme des molécules à activité biologique : enzymes, vitamines, hormones, immunoglobulines. Il est constitué de deux fractions protéiques principales, une fraction soluble et une fraction colloïdale. La fraction soluble se compose des protéines lactosériques et la fraction colloïdale est formée par les caséines et la caséine est la principale composante protéique du lait et la principale composante du fromage (**Mehaia et al. 1995**)

Elle existe dans les conditions biologiques sous la forme d'un assemblage supra-moléculaire, appelé historiquement micelle de caséine. Il existe quatre molécules principales de caséine ( $\alpha_{s1}$ ,  $\alpha_{s2}$ ,  $\beta$  et  $\kappa$ ). La micelle est composée à 92% de caséines et à 8% de minéraux. Le retrait du CCP (par dialyse, acidification ou chélation) provoque la dissociation de la micelle en sous unité plus petites, appelées submicelle. (**Maude Panouille., 2004**)

**Tableau N°05 :** Concentration moyenne des protéines du lait de différentes Espèces en (mg/l) (**Kappeler et al, 1998**).

Protéines	Chamelle	Vache	femme	principale fonction
$\alpha$ S1 caséine	5000	12000	Trace	Nutritive (acides aminés, Ca, P )
$\alpha$ S2 caséine	3000	2200	Trace	Nutritive (acides aminés, Ca, P )
$\beta$ - caséine	15000	10000	4670	Nutritive (acides )
$\kappa$ caséine	800	3500	Trace	Coagulation de la micelle de caséines
$\alpha$ lactalbumine	3500	1260	3400	Synthèse du lactose
$\beta$ -lactoglobuline	-	3500	-	Liaison et transport des acides gras et du rétinol
Lactophorine (PP3)	950	300	-	Inhibition de la lipolyse
Lactoferrine	95↓↑	140↓↑	565↓↑	Anti-inflammatoire,
Lactoperoxydase	-	30	6↓	Anti-inflammatoire, activité bactéricide
Lysozyme	-	≈100↓↑	274↓	Activité bactéricide, N-acetylmuramidase

### 1. Composition de caséine :

La caséine est une substance hétérogène, complexe protéique phosphoré à caractère acide qui précipite dans le lait à pH 4,6. (Cayot et Lorient, 1998). La caséine est une particule sphérique d'environ 180 nm, constituée de submicelles de 8 à 20 nm (Lenoir, 1985); elle est très hydratée (2 à 4 g d'eau par g de protéine). 7% environ de son extrait sec est composé de sels (phosphate, calcium, magnésium, citrate dans l'espace inter submicellaire) (**Amiot et al, 2002**)

Les submicelles pourraient être constituées d'environ 10 molécules des 4 caséines. Les submicelles les plus riches en caséine sont situées en surface de la micelle, ce qui la stabilise. Les portions « C » terminales de la caséine hérissent la micelle et l'enveloppent d'une chevelure périphérique particulièrement hydrophile (**Cayot, 1998**).

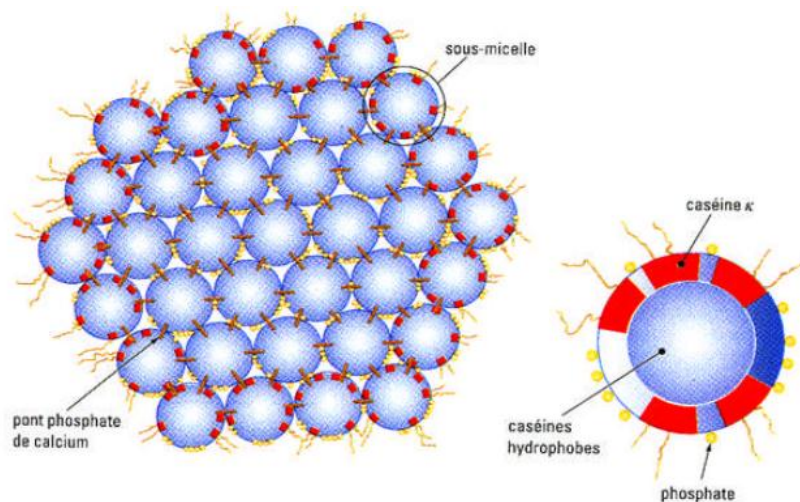


Figure n°07 : Modèle de micelle de caséine avec sous-unités (**Amiot et al, 2002**)

### 2. Éléments constitutifs des caséines :

Les micelles de caséine sont constituées de 92% de protéines et de 8% de minéraux (Tableau 5 et 6). Les quatre principales protéines contenues dans les micelles sont les caséines  $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ , et  $\kappa$ . Il existe également une caséine  $\gamma$  qui provient de l'hydrolyse de la caséine  $\beta$  par la plasmine (**Ribadeau Dumas., 1991**).

Tableau N°06 : Composition moyenne de la micelle de caséine en g/100g (**Ribadeau Dumas., 1991**).

Caséines		Composants salins	
$\alpha 1$	33	Calcium	2.9
$\alpha 2$	11	Magnésium	0.2
B	33	Phosphate inorganique	4.3
K	11	Citrate	0.5
$\Gamma$	4	Totales composants salins	8.0
Totales caséines	92		

### 3. Caractères généraux des caséines :

#### 3.1. Caséine $\alpha$ :

Cette caséine, présente en quantité modeste (8 à 11%), possède 207 acides aminés, la fraction  $\alpha$  s'est révélée hétérogène. L'ensemble des fractions  $\alpha 2$ ,  $\alpha 3$ ,  $\alpha 4$ ,  $\alpha 5$  et  $\alpha 6$  est maintenant nommé caséine  $\alpha 2$ . (**Férial Aziza Benyahia., 2013**)

Elle est fortement sensible au calcium à toute température et est la plus hydrophile de toutes les caséines vu sa richesse en groupements phosphorylés et en résidus cationiques. (**Férial Aziza Benyahia., 2013**)

#### 3.2. Caséine $\beta$ :

Elle est présente en quantité importante (25–35%), et possède 209 acides aminés. Elle est sensible au  $\text{Ca}^{2+}$  à température ambiante. A basse température, en dessous de 10°C, elle reste soluble en présence de calcium. C'est la plus hydrophobe des caséines. La molécule présente un caractère amphipolaire très marqué : partie N terminale très polaire (1/3 de la molécule) et partie C terminale hydrophobe comprenant les 2/3 restants de la molécule. (**Férial Aziza Benyahia., 2013**)

### 3.3. Caséine $\kappa$ :

Sa structure primaire comporte 169 résidus d'acide aminés. Lors de l'hydrolyse de la liaison Phe 105- Met106 par la chymosine, il y a libération du caséino macropeptide (CMP) ou s'il est fortement glycosylé, glyco macro peptide (GMP) et la para caséine  $\kappa$ . La fraction CMP ou GMP confère à cette protéine son caractère hydrophile et la para caséine  $\kappa$  son caractère très hydrophobe. Ceci explique la perte de la solubilité des micelles de caséines. (**Férial Aziza Benyahia., 2013**)

### 3.4. Caséine $\gamma$ :

La connaissance de la structure de la caséine  $\beta$  permet de montrer que la fraction,  $\gamma$  est constituée de 3 fragments appelés  $\gamma_1$  (20500 Daltons),  $\gamma_2$  (11800 Daltons),  $\gamma_3$  (11500 Daltons) qui proviennent de l'hydrolyse de la caséine  $\beta$  par la plasmine, une protéase endogène alcaline du lait. (**Férial Aziza Benyahia., 2013**)

**Tableau N°07 :** caractéristiques de constituants principales de caséines (**Boubezari mohammed tahar ., 2010**)

	caséine $\alpha$ S1	caséine $\alpha$ S2	caséine $\beta$	Caséine k
Proportion %	36	10	34	13
Concentration (g.L <sup>-1</sup> )	9.6	6.7	9	3.5
Masse moléculaire	236000	25250	24000	19000
Nombre de résidus d'acides aminés	199	207	209	169
Phosphore (%)	1.1	1.3	0.56	0.2
Glucide (%)	0	0	0	5
Proline (%)	17	10	35	20
Résidus Cystéine/mol	0	2	0	2
Phi	4.4	-	4.9	3.7
Sensibilité à la chymosine	+	-	+	+++
Fixation du calcium	++	+++	+	0
Solubilité en presence du calicium			+	

Légende : - : insensible, + : peu sensible, ++ : sensible, +++ : très sensible.



#### 4. Micelle de caséine :

La micelle de caséine est une particule sphérique d'un diamètre moyen de 50 à 200 nm formée par l'association des caséines ( $\alpha_1$ ,  $\alpha_2$ ,  $\beta$ ,  $\kappa$ )(Figure n° 3), de quelques fragments peptidiques (caséines  $\gamma$  issus de la protéolyse de la caséine  $\beta$  par la plasmine) et de composants salins dont les deux principaux sont le calcium et le phosphore. Les associant qui constituent la micelle, sont appelées des submicelles. Les uns accordent à la micelle une structure globale avec une répartition non uniforme des constituants ; d'autres retiennent l'idée d'une structure avec sous-unité ou submicelle. (Vierling, 1999).

Les submicelles à faible teneur en caséine  $\kappa$  sont localisées à l'intérieur de la micelle ; celles, riches en caséines  $\kappa$  sont présentes à l'extérieur. (Vierling, 1999).

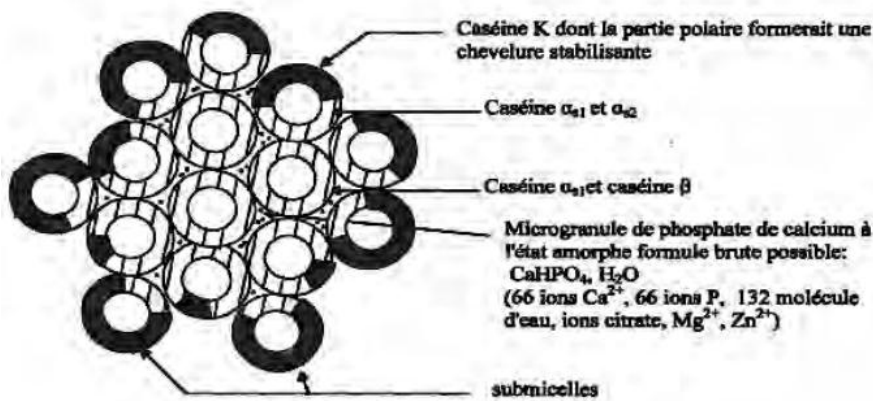


Figure n°08 : Structure d'une micelle de caséine stable (Vierling, 1999).

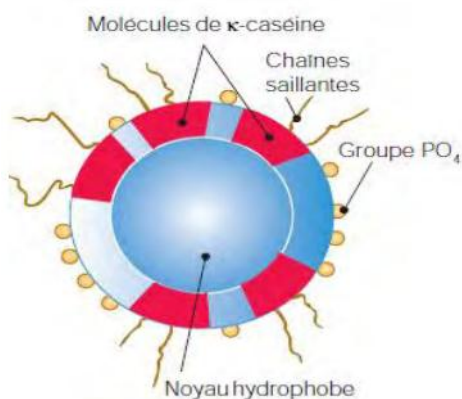


Figure n°09 : Structure d'une submicelle caséinique (Tetra Pak Processing system, 1995)

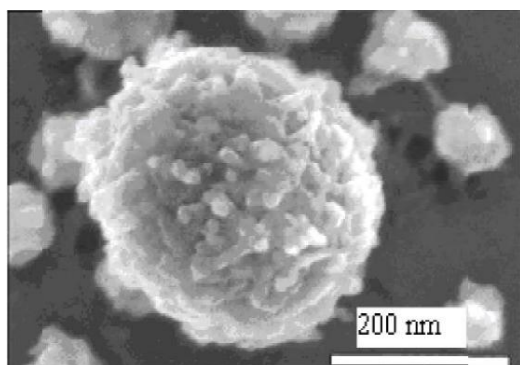


Figure n°10: Micrographe électronique d'une micelle de caséine (Dalglish et al ; 2004)

### 5. Comparaison des hydrophobicités des caséines :

Il est à peine nécessaire, devant un auditoire comme celui-ci, de mentionner que la caséine est une protéine hétérogène. Il suffit de résumer quelques propriétés caractéristiques de ses composants (Tableau n°4) Comme on voit, la teneur en phosphate estérifié varie : (T.A. Payens, 1987 )

Tableau N°08 : Propriétés caractéristiques des caséines  $\alpha$ 1,  $\alpha$ 2,  $\beta$ , k (Payens et Vreeman, 1982)

Caséine	Pourcentage %	Masse moléculaire	Nombre de résidus phosphoséryles	Concentration limite de $Ca^{++}$ (mM) permettant la solubilité
$\alpha$ 1	11	25300	10-13	1
$\alpha$ 2	38	23600	8-9	2
B	38	24000	5	9
K	13	19000	1-2	400

### 6. Propriétés des caséines :

#### 6.1. Phi et charge électrique :

Les groupements acides libres des résidus glutamyl, aspartyl et phosphoryl en nombre supérieur aux groupements basiques libres  $NH_2^-$  des lysines et autres acides aminés diamines, confèrent à la caséine entière un phi de 4.65, une charge négative et des propriétés acides (réaction avec les métaux alcalino-terreux).( Hamidi Mohamed ., 2014)

### 6.2. Propriétés associatives des caséines :

A pH = 7, lorsqu'on élève la température, les caséines  $\alpha$  S1 et  $\alpha$  S2 donnent des polymères d'une vingtaine à une trentaine d'unités. Les différentes molécules étant unies par des liaisons hydrophobes. (Hamidi Mohamed ., 2014)

### 7. Propriétés antibactériennes de caséine :

Les études telles que les travaux de Cayot et Lorient 1998. ont également montré l'efficacité des films à base de caséinate contenant des agents actifs contre la croissance de micro-organismes indésirables. Des films à base de caséinate de sodium contenant de la nisine ont été proposés afin de surmonter les problèmes de contamination de fromages durant le stockage. Donc ils ont protégés les produits alimentaires par l'utilisation des techniques de protection comme l'emballage antimicrobien. (Cayot P et Lorient D., 1998)

Antoine Vimont., 2007 ont même introduit dans des films de caséinate de sodium des bactéries lactiques qui produisent des bactériocines. Ces films ont peut totalement inhiber la croissance de *Listeria innocua* pendant une semaine de stockage dans des conditions de réfrigération. (Antoine Vimont., 2007)

Enfin, Aurélie MATEOS., 2008 .ont introduit du carvacrol dans des films à base de caséinate de calcium et de sodium. Ils ont utilisé avec succès ces films antimicrobiens pour inhiber la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*. La casocidine-I est un peptide cationique issu de la CN- $\alpha$ 2bovine. Ce peptide inhibe la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus carnosus* (Zuchet et al., 1995)

Tableau N°09 : Ingrédients et produits laitiers commercialisés ayant des effets revendiqués sur la santé basés sur des peptides bioactifs issus du lait (**Korhonen et Pihlanto,2006**)

Type de produit	Peptides bioactifs	Effet revendiqué sur la santé
Lait caillé	Caséine $\beta$	Diminution de la pression sanguine
Boisson au lait fermenté enrichi en calcium	Caséine $\beta$	Diminution de la pression sanguine
Lactoséum	Glycomacropéptide	Prévention des caries dentaires, influence sur la coagulation du sang. Protection contre les virus et les bactéries.
Boisson lactée aromatisée, gélules	Caséine $\alpha$	Diminution des effets liés au stress
Fromage fermenté	Caséine $\alpha$	Aucun effet encore revendiqué
Hydromysat	Caséinophosphopeptide	Aide à l'absorption des minéraux

# PARTIE EXPERIMENTALE

### Lieu de l'étude expérimentale :

Notre travail s'est déroulé durant la période de 16 Janvier jusqu' au \_8 Mars 2018

L'étude expérimentale a été réalisée au niveau de laboratoire Microbiologie du De l'institut des Sciences Vétérinaires, Université Ibn Khaldoun de Tiaret et de laboratoire de Biochimie - Département de science de la nature et de la vie

### L'objectif:

Faire une caractéristique de quelques paramètres physicochimiques de deux variétés de miels de la région de Tiaret

Evaluer l'effet antibactérien de caséine et le miel vis-à-vis d'*Escherichia coli*.

## 1. Matériel

### 1.1 Matière premières :

#### 1.1.1 Miel :

La présente étude a été réalisée sur deux échantillons de miels, collectés de différentes régions.

**Tableau N°10 :** représente les deux variétés de miels utilisés

Echantillon	Date de récolte	Région de récolte	Origine florale Présumée	Mode d'extraction
E1	2016-2017	MALAAB	Multyfloral	Mécanique
E2	2016-2017	TIARET	Forbe	Mécanique



Figure n°11: Miel de type Forbe

Figure n°12: Miel de type Multifloral

1-1-2 : Caséine : Produit chimique sous forme poudre

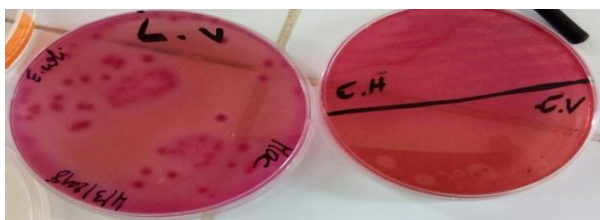


Figure n°13 : Photo de la Caséine utilisée

### Souches bactériennes:

Le choix des bactéries s'est porté sur une bactérie pathogène (*Escherichia coli* de type : isolat du tractus urinaire humaine, isolat aviaire et un isolat de lait de vache).

(Laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaire )

Figure n°14 : *Escherichia coli* de type Humain, Aviaire et lait de vache

**1-1-3-Antibiotiques :** la sensibilité aux antibiotiques est déterminée par le test d'antibiogramme selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la Société Française de microbiologie(AL-WAILI,2003)



Figure n°15 : Antibiotiques utilisés

**1.2. Matériel de laboratoire et réactifs :**

Le matériel de laboratoire et les produits utilisés sont résumés dans le tableau n° 12

Tableau n°12 : Matériel utilisé

<p><b>Appareillage</b></p>	<ul style="list-style-type: none"> <li>- Conductimètre</li> <li>- Balance analytique</li> <li>- Agitateur magnétique</li> <li>- pH-mètre</li> <li>- Bain marie</li> <li>- Spectrophotomètre</li> <li>- Vortex</li> <li>- Autoclave</li> <li>- Micro-onde</li> <li>-Pycnomètre</li> </ul>
<p><b>Verrerie</b></p>	<p>-Burettes graduées, boîtes de pétri, tubes à essai , béciers, fioles jaugées.</p>
<p><b>Autre matériel</b></p>	<p>-Anse de platine, écouvillons, spatules, pipette de pasteur</p>
	<p>-Solution d'hydroxyde de sodium 0,05</p>



---

<b>Produits et réactifs</b>	N;(Naoh)-Chlorure de potassium KCL -Phénol phtaléine -L'eau physiologique
<b>Milieu de culture</b>	-Gélose Mueller Hinton.- Milieu de Mac-conkey

## 2. Méthodes :

### 2.1. Protocole expérimental :

Notre démarche est adaptée sur l'effet anti bactérien du miel et caséine sur *Escherichia coli* repose sur les étapes suivantes :

- Etude physico chimique;
- Etude des propriétés antibactériennes du miel

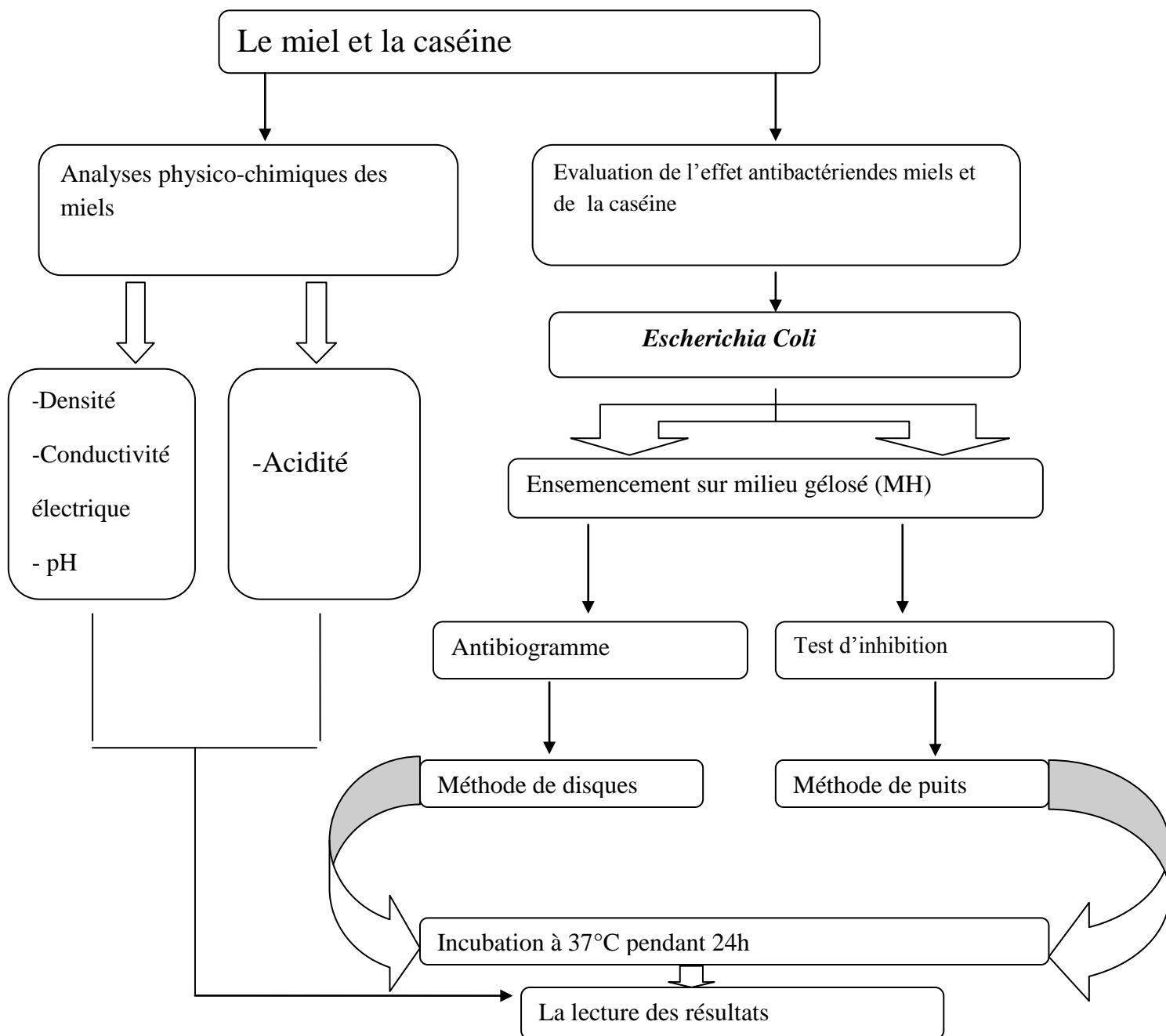


Figure n° 16: protocole expérimental

## 2.2. Méthodes physico-chimiques :

### 2.2.1. La densité :

On remplit le pycnomètre par le miel après le chauffage puis peser.

La densité est déterminée par la méthode AENOR(1984) de la manière suivante :

$$D = \frac{P2 - P1}{P0 - P1}$$

P0 : étant la masse du pycnomètre vide.

P1 : étant la masse du pycnomètre remplie d'eau distillée.

P2 : étant la masse du pycnomètre remplie de miel.

D : la densité citée par MAKHLAUF (2001).

### 2.2.2. Détermination du pH :

#### -Principe

D'après **Mathieu (1998)**, le pH d'une solution est le cologarithme de la concentration molaire de l'ion hydronium.  $pH = -\log [H_3O^+]$

Le pH d'une solution est mesuré directement à l'aide d'un pH-mètre muni d'une électrode combinée (**Guiraud, 1998**).

#### -Mode opératoire

- Etalonner le pH-mètre à l'aide de la solution tampon (pH=7,01; pH=4,01), l'électrode doit être rincée par de l'acétone et nettoyée avec du papier absorbant,
- Tremper l'électrode du pH-mètre dans un volume suffisant de l'échantillon préalablement chauffé à 20°C,
- Lire le pH indiqué sur l'écran d'affichage du pH-mètre

### 2.2.3. Détermination de la conductivité électrique :

Selon la commission international du miel ; cité par BOGDANOV (2002),

la conductivité électrique a été effectuée à l'aide d'une conductimètre selon les étapes suivantes :

#### -La détermination de la constante de la cellule :

Si la constante de conductivité n'est pas connue, opérez comme suite :

Transférez la solution de chlorure de potassium (KCl 0,1n) dans un bécher, rincez la cellule puis la plongez par la même solution, lisez la conductivité de cette solution à la température de 20°C, appliquez la formule suivante :

$$K=11,691 * l/g$$

**K** : la constante de la cellule.

**G** : la conductivité électrique de la solution KCl.

La masse de miel est pesée de la manière suivante :  $M = \frac{5 * 100}{MS}$

MS

MS : étant la matière sèche du miel (g).

M : étant la masse du miel (g).

Le miel de masse M a été dissous dans quelques ml d'eau distillée, puis complété à 25ml dans une fiole jaugé, cette solution de miel est versée dans un bécher, porté dans un bain marie thermostatique après étalonnage de l'appareil avec l'eau distillée, électrodes de la conductivité sont plongées dans la solution.

La lecture de la conductance de la solution est faite lorsque la température est 20°C.

Expression des résultats : La conductivité du miel est calculée après la formule suivante :

$$CE = K * G$$

**CE** : conductivité électrique du miel exprimée (ms. Cm-1)

**K** : constante de la cellule

**G** : conductance de la solution (ms/cm).

#### 2.2.4. Acidité :

##### -Principe

D'après **Guiraud(1998)**, l'acidité peut être titrée de façon précise à l'aide de soude (N/9). En présence de phénolphtaléine comme indicateur.

##### -Mode opératoire

- Mettre 10ml du miel (1g de miel+9ml d'eau distillée) dans un bécher, le déposer sur un agitateur magnétique,
- Puis ajouter deux à trois gouttes de phénolphtaléine,
- Remplir la burette graduée par le NaOH (N/9)
- Titrer jusqu'au virage de la couleur vers du rose,
- Noter le volume du NaOH versé.

##### -Mode de calcul

L'acidité du miel est donnée par la formule suivante :

Où :

$$A=10(V1/V)$$

**A** : L'acidité titrable de l'échantillon en g/l.

**V0** : Volume en ml de la prise d'essai.

**V1** : Volume de NaOH versé en ml.

### 2.3. Evaluation de l'effet antibactérien des deux variétés du miel et de la caséine :

### 2.3.1. Souches bactériennes :

Les souches bactérienne utilisées dans l'essai antibactérien sont: les bactéries à Gram négatif, *Escherichia coli*. Elles proviennent du laboratoire de vétérinaire. Les souches sont conservées à 4 °C dans des tubes à essais contenant le milieu solide Mueller Hinton jusqu'à l'utilisation.

### 2.3. 2. Préparation de l'inoculum standard des souches :

A partir d'une culture pure de 24 h sur milieu d'isolement Mac.Conkey.racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une D.O de 0,08 à 0,10 lue à 625nm, équivalent à  $1 \times 10^8$ ufc/ ml. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (Soussy et al., 2010).

## 2.4 -L'antibiogramme :

### -Méthode de diffusion en milieu gélosé par les disques

#### □ Principe

Pour évaluer l'activité antibactérien du miel , nous avons adopté la méthode de diffusion sur milieu gélosé, en utilisant les disques stériles en cellulose, appelée antibiogramme (Somaie et al., 2013).

### -Mode opératoire :

Le principe de la méthode repose sur la diffusion du composé antibactérien en milieu solide MH 20ml dans une boîte de Pétri, avec création d'un gradient de concentration, après un certain temps de contact entre le produit et le microorganisme cible, l'effet du produit antibactérien sur la cible est apprécié par la mesure d'une zone d'inhibition, est en fonction du diamètre d'inhibition. La souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Somaie et al., 2013).

#### □ Dépôt des disques

-Après la préparation de l'inoculum standard

-Ensemencement

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.

- L'essorer en le pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum.

- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées.

-Répéter l'opération deux 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.

-Les disques imprégnés des extraits sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile (OMS, 2008).

□ **Incubation :**

L'incubation se fait pendant 24 heures à 37°C

**-Lecture :**

Mesurer le diamètre des auréoles (zone d'inhibition de croissance de la souche microbienne). Il existe trois types d'interprétation selon le diamètre de cercle qui entoure le disque d'antibiotique, souche bactérienne sensible, Intermédiaire ou Résistance. ((DEARRAS, 2007).

### 2.3.3 Détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) en milieu solide :

la CMI est définie comme étant la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après incubation, et la CMBC comme la plus faible concentration d'antibiotique qui tue 99,9% des micro-organismes après sous-culture sur milieu sans antimicrobien [(Cosentino et al., 1999) ; (Bellerbeck, 2000) ; (Andrews, 2001)].

La détermination de la CMI se fait par deux techniques sur milieu solide : technique de puits de diffusion et de contact direct sur milieu MH+ 2% glucose et sur milieu liquide par la méthode de spectrophotométrie : MHB +2% de glucose.

**-La lecture**

La lecture des résultats se fait visuellement par l'observation de la croissance ou de l'inhibition de la croissance des bactéries à tester par rapport à la croissance sur la boitetémoin sans miel et caséine.

-La CMI est définie comme étant la plus faible concentration du produit (miel, caséine) pour laquelle aucune croissance n'est visible à l'œil nu. Les valeurs de CMI sont exprimées en pourcentage (vol/vol) (Noel et Leyvral, 2001).

**Préparation des échantillons du miel :**

Les échantillons du miel utilisés pour les tests antibactérienne sont soit purs à 100% ou dilués à 70%, 50%, 40%, 30,20%,15%,10%, 5% (v/v).les séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau physiologique stérile pour un volume final de 10ml.

**2.3.3.1-Méthode des puits :**

Il s'agit d'un test simple de criblage et de sensibilité, en utilisant une méthode dite de diffusion avec des puits creusé dans le milieu Mueller Hinton agar + 2% de glucose [(Perez et al., 1990) ; (Murat et al., 2004)].

Cette technique est répertoriée et décrite dans différentes publications [(Parenteetal., 1995) ; (Assegid et al., 2004) ; (Melissa et al., 2004) ; (Osho et Bello, 2010)].

-Certains puits sont rempli par le miel seul à des concentrations déférents et d'autre par la caséine sous forme poudre et certains par le mélange de la caséine par les deux variétés de miel à des concentrations déférents.

**-La Lecture :**

L'action du produit se manifeste par la formation d'une auréole d'inhibition autour du puits.

-Un produit est considéré actif, s'il donne un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm (ElShaer et Ghanem, 1996).

-La lecture des antibiogrammes a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibitions au tour des disques à l'aide d'un pied à coulisse.



# RESULTATS ET DISCUSSION

## 1. Analyse Physico-chimique :

### 1.1-Résultats :

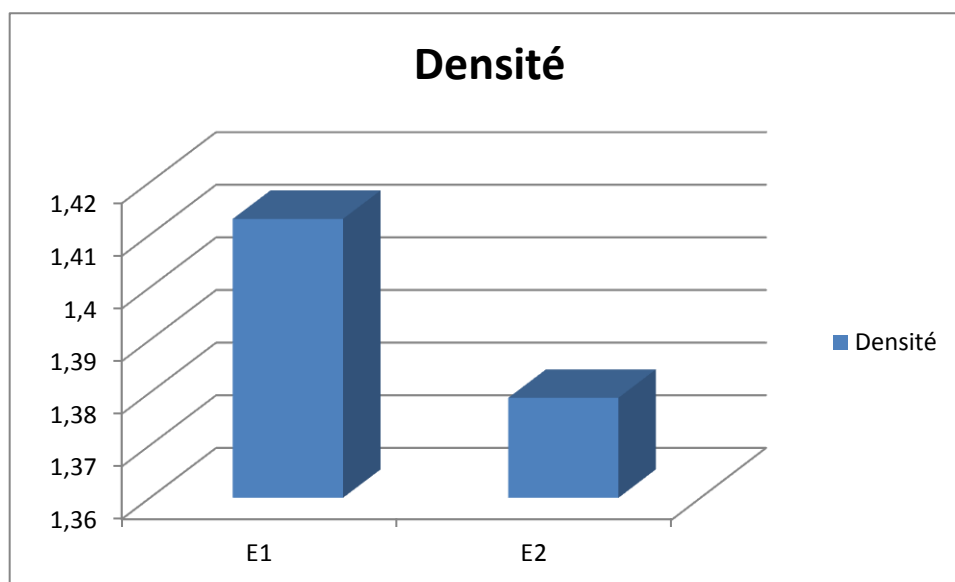
Les résultats des paramètres étudiés des miels analysés sont donnés dans le tableau 12.

**Tableau n°13:** Résultats des analyses physico-chimiques pour les deux échantillons de miels.

Paramètres	Multyfloral	Forbe
Densité	<b>1.413</b>	<b>1.379</b>
PH	<b>4,3</b>	<b>4,3</b>
Acidité	<b>3</b>	<b>3</b>
Conductivité électrique	<b>0.011</b>	<b>0.014</b>

Dans ce tableau ; les paramètres de miel multi floral sont comme suit : pour la densité est 1.413 ; le pH est de 4.3 ; pour l'acidité est de 3 par contre la conductivité électrique est de 0.011

Pour le miel de Forbes : la densité est de 1.379 ; le PH et l'acidité sont les même comme le multi floral par contre la conductivité électrique est de 0.0 14.



**Figure n°17 :** Répartition de la densité des miels.

**E1 :** Miel multi floral ; **E2 :** Miel du forbe.

Pour l'analyse de la variance ; l'étude de la densité donne une différence significative entre le miel multi floral que la fourbe.

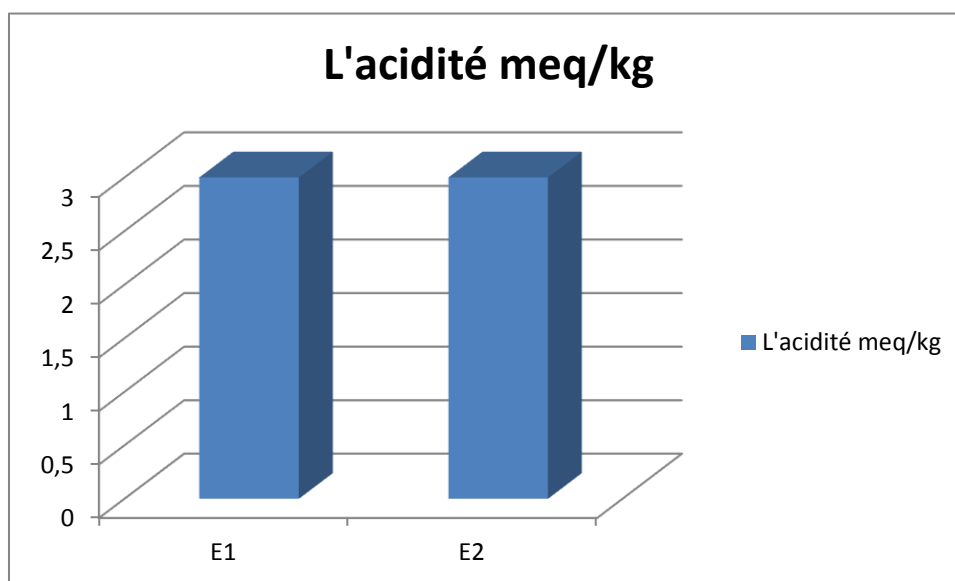


Figure n° 18 : Répartition des valeurs d'acidité des miels. (Multifloral et la forbe).

En résulte qu'il y a une différence très hautement significative entre le miel de Tiaret et de Tissemsilt

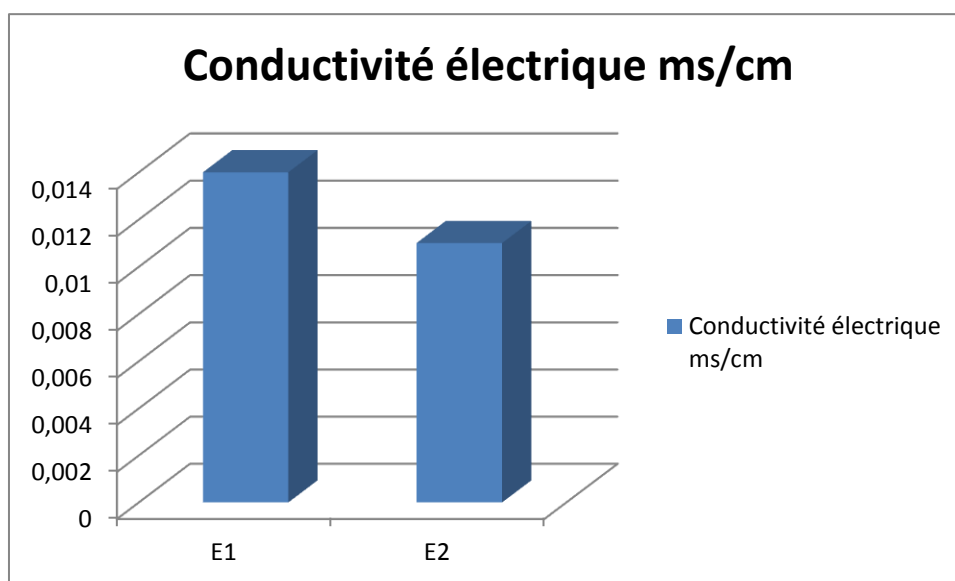


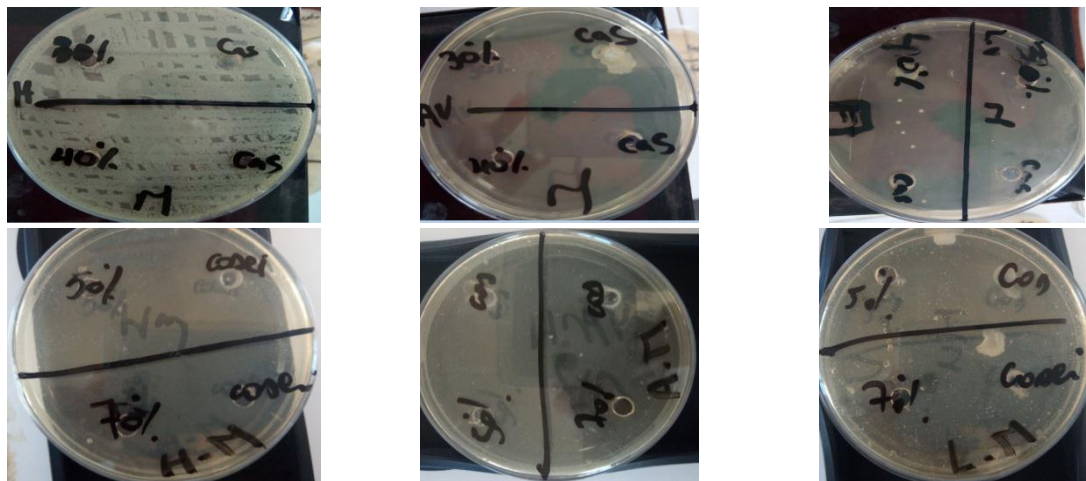
Figure N°19 : Distribution de la conductivité électrique des miels

Pour la conductivité électrique, des deux variétés du miel (Multifloral et la forbe) ; il y a une différence très hautement significative ce qui influence sur la qualité de chacun.

## 2-Détermination de la CMI :

**Tableau n°14:** Concentration minimale inhibitrice du miel multi floral vis-à-vis les différentes souches d'*Escherichia. Coli* d'origine humaine ; aviaire et bovine :

Multyfloral	Humain	Aviaire	Lait de vache
5%	-	-	-
10%	-	-	-
15%	-	-	-
20%	-	-	-
30%	-	+++	+++
40%	-	+++	+++
50%	+++	+++	+++
70%	+++	+++	+++



**Figure n°20 :** Les concentrations minimales inhibitrices du miel multi floral vis-à-vis les différentes souches d'*Escherichia coli*

La concentration minimale inhibitrice du miel multifloral est variable vis-à-vis les souches d'*E. coli* :

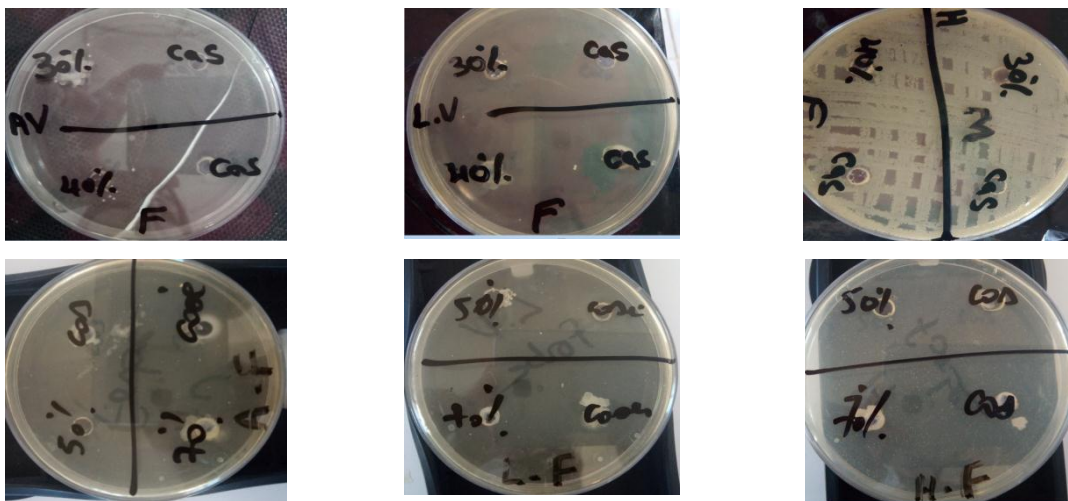
Pour la souche humaine ; La CMI est de 50% ; Pour *E.coli* d'origine aviaire ; La CMI du miel est de 30% ; par contre la CMI du miel vis-à-vis la souche isolée de lait de vache est de 30%.

**Tableau n° 15:** La concentration minimale inhibitrice du miel du Forbe vis-à-vis les différentes souches d'*E. Coli* des différentes espèces humaine ; aviaire et du lait de vache.

Forbe	Humain	Aviaire	Lait de vache
5%	-	-	-
10%	-	-	-
15%	-	-	-
20%	-	-	+++
30%	-	+++	+++
40%	-	+++	+++
50%	+++	+++	+++
70%	+++	+++	+++

- : pas d'inhibition

+++ : Inhibition totale



**Figure n°21 :** Les concentrations minimales inhibitrices du miel du Forbe vis-à-vis les différentes souches d'*Escherichia coli*

La concentration minimale inhibitrice du miel Forbe est variable vis-à-vis les souches d'*E. coli* :

Pour la souche humaine ; La CMI est de 50% ; Pour *E. coli* aviaire ; La CMI du miel est de 30% ; par contre la CMI du miel vis-à-vis la souche isolée de lait de vache est de 20%.

La concentration minimale inhibitrice du miel Forbe est variable vis-à-vis les souches d'*E. coli* :

**Tableau n°16:** L'effet antibactérien de la caséine seule et mélangée avec les deux types du miel vis-à-vis les différentes souches d'*E. Coli*.

Les souches	Caséine	Caséine+ Forbe	Caséine+ multyfloral
<b>Humain</b>	+	<b>50%</b>	<b>50%</b>
<b>Aviaire</b>	+	<b>20%</b>	<b>20%</b>
<b>Lait de vache</b>	+	<b>20%</b>	<b>20%</b>

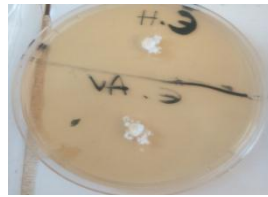


Figure n°22 : Figure représentatif de la caséine seule



Figure n°23 : Figure représentatif de mélange de la caséine avec miel de type multifloral

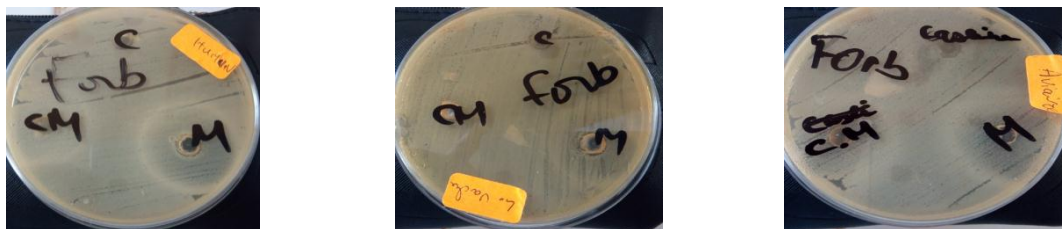


Figure n°24 : Figure représentatif de mélange de la caséine avec le miel de type Forebe  
L'effet antibactérien de la caséine utilisée seule est prouvé contre les différentes souches d'*E. Coli*.

Par contre ; pour le mélange avec le miel la CMI du miel est moins par rapport à celui utilisé seule. Pour la concentration inhibitrice minimale du miel multifloral avec la caséine est de 20% ; et pour la CMI du miel de Forbe avec la caséine est de 20 %

### 3-Détermination de la résistance des souches étudiées vis-à-vis les antibiotiques testés par l'Antibiogramme :

**Tableau n°17** : Le résultat d'antibiogramme des trois souches étudiées d'*E. coli*.

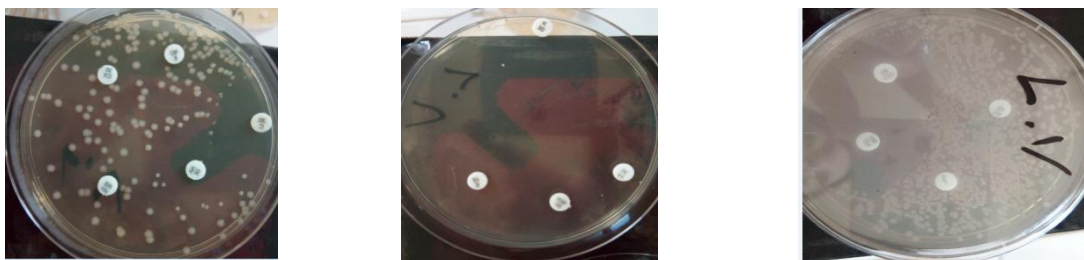
➤ Interprétation des résultats d'antibiogramme :

Antibiotiques	Diamètre inhibitrice (mm)		
	Humain	Aviaire	Lait de vache
ErythromycinE15	16	13	6
KanamycinK30	6	20	13
FosfomycinFo200	30	46	39
VancomycinVA30	8	15	12
TobramycinTOB10	14	17	15
FusidicacidFC10	6	13	6
LincomycinL2	6	6	6
OfloxacinOF5	12	9	11
CefoxitinCX30	18	19	18
AmikacinAK30	20	18	16
ChloramphenicolC30	6	34	20
GentamycinGEN50	26	18	16
SpiramycinSR100	12	13	16

Pour l'effet des antibiotiques est montré sur le tableau ci-dessus avec des zones d'inhibition de chaque antibiotique. La réponse est variable pour chaque souche.

**-Tableau n°18 :**Tableau présentatif de la réponse des souches d'*E.coli*vis-à-vis les antibiotiques

Antibiotiques	Humain	Aviaire	Lait de vache
Erythromycin E15	I	R	R
Kanamycin K30	R	S	R
Fosfomycin Fo200	S	S	S
Vancomycin VA30	R	?	?
Tobramycin TOB10	I	S	S
Fusidicacid FC10	R	?	R
Lincomycin L2	R	R	
Ofloxacin OF5	R	R	R
Cefoxitin CX30	S	S	S
Amikacin AK30	S	S	I
Chloramphenicol C30	R	S	S
Gentamycin GEN50	S	S	S
Spiramycin SR100	?	?	?

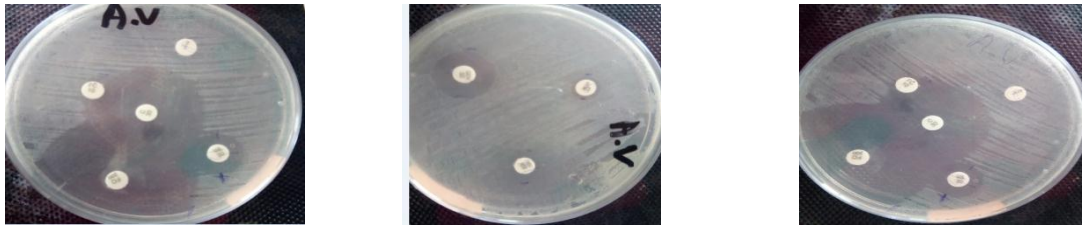


**Figure n°25 :** Résultats de l'antibiogramme chez la souche d'*E.COLI* de lait de vache



**Figure n°26 :** Résultats d'antibiogramme chez la souche *E coli* d'origine humaine





**Figure n°27 : Résultats d'antibiogramme chez la souche d'*E. coli* d'origine Aviaire**

La réponse de la souche d'*E. coli* vis-à-vis les antibiotiques est comme suit : Elle est résistante contre Kanamycine ; Vancomycine ; Fusidicacid ; Lincomycine ; Ofloxacin ; Chloramphenicol. Par contre ; elle est sensible vis-à-vis Fosfomycine ; Cefoxitineamekacine et la gentamycine.

Pour la souche aviaire est résistante contre : Erythromycine ; Linomycine ; Oflaxacine ; mais elle est sensible vis-à-vis la Kanamycine ; Fosfomycine ; Tobramycine ; Cefoxitine ; Amikacine ; Chlaoramphenicol et la Gentamycine.

Pour la souche bovine ; la résistance aux antibiotiques est comme suit : L'Erythromycine ; Kanamycine ; FusidiacideOfloxacin ; est résistante par contre elle est sensible vis-à-vis Fostomycine ; TobramycineCefoxitine ; chloranhenicol et la gentamycine. Pour la spiramycine ; il y a aucune réponse pour les trois souches.

### Discussion :

- **La densité :**

Les résultats de la densité des échantillons des miels étudiés sont représentés par la figure n°17.

La densité des miels étudiés variés de  $1.379 \text{ g/cm}^3$  à  $1.413 \text{ g/cm}^3$  avec une moyenne de  $1.396 \text{ g/cm}^3$  à  $20^\circ\text{C}$  et cela est identique de ce qui est rapporté par **OUCHEMOUKH et al. , (2007)**

Les travaux de Doukani et al. (2014) sur la caractérisation physico-chimique de quelques types de miels algériens, montrent que la densité varie de 1,405 à 1,442.

pour les miels algériens se situe entre 1.4009 et 1.4505 g/cm<sup>3</sup> à 20°C. La différence entre ces valeurs est due à la teneur en eau du miel : plus la teneur en eau est faible, plus la densité est grande (**CHAUVIN, 1968; PROST,1987**).

Ces résultats sont en accords avec les normes, toutes fois une exception est relevée pour le miel forbe (E<sub>2</sub>) qui représente la faible valeur soit 1.379 g/cm<sup>3</sup>, ceci peut être expliqué par sa teneur en eau élevée.

Selon **DARRIGOL (1979)**, un miel récolté prématurément, moins mûr aura une densité plus faible.

Les valeurs de la densité d'échantillons de miels varient entre 1.413 g/cm<sup>3</sup> de Tiaret (E<sub>1</sub>) et 1.379 g/cm<sup>3</sup> (Tissemsilt, E<sub>2</sub>) avec une moyenne 1.396 g/cm<sup>3</sup>.

Cette explication est prouvée par l'allure du graphe de la Figure n°17.

**Louveaux (1985) et Prost (1987)** indiquent que Les variations de la densité de miel proviennent surtout des variations de la teneur en eau, de la composition chimique du miel et de la température.

La densité ne varie pas seulement en fonction de la teneur en eau mais également en fonction de la teneur en sucres, en protéines etc.... (**MAKHLOUFI, 2001**)

- **Détermination de PH :**

Comme le montre le tableau n°12, le pH des miels étudiés pour les deux échantillons est 4.3. Ces résultats confirment le caractère acide des miels qui est due à la présence d'acides organique, principalement à l'acide gluconique (Nanda et al., 2003 cités par Ouchemoukh et al., 2007). Cela a été également confirmé par White et al. (1958)cités par Bogdanov; Ruoff et Persano Oddo (2004) selon lesquels tous les miels sont acides avec un pH généralement compris entre 3,5 et 5,5.

En principe, tous les miels sont acides. Les miels de nectar très acide, ont un pH compris 3.3 et 4.5 .tandis que les miels de miellat ont un PH un peu élevé (**Pesenti et al., 2008**)

**Toutefois Schweitzer (2003)** signale bien qu'un miel issu de nectar, miel de bourdaine a un pH élevé, proche de la neutralité (pH=6)

Selon **Gonnet (1982)**, le pH d'un miel est en fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale. Plus le taux des matières minérales n'est fort et plus le pH du miel se rapproche de la neutralité.

Le PH acide du miel dépend de la quantité d'acide gluconique produit par l'enzyme glucose-oxydase lors de l'oxydation du glucose. d'autre composés comprennent les acides non aromatiques et aromatiques, respectivement il a été également suggéré que les acides phénoliques sont présentés en grand quantité dans les miels sombre qui contribuent à leur acidité (**Alvarez, 2010**).

Selon **Chefrour (2008)**, la détermination du pH donne des indications très importantes sur l'origine florale du miel et de son état.

Le PH du miel est suffisamment bas pour inhibé la croissance de nombreuses espèces de bactéries (**Malika et al., 2005**). Les valeurs minimales de développement de quelques bactéries pathogènes communs sont : *E.COLI* (4.3), *P ; aeruginosa* (4.4) , *S ; pyogene* (4.5) , *Salmonella spp* (4) (*O'Grady et al., 1997*).

Selon **WHITE et al., (1962)**, cité par **BELAID (1999)**, le pH du miel varie de 3.42 à 6.10. Les résultats obtenus répondent à ces recherches. Cette variabilité serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatique et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**LOUVEAU, 1968**).

-Les résultats des analyses de l'acidité libre de nos échantillons est 3 meq/kg (Tab.12 et fig.18). Bien qu'il existe de différence d'un échantillon à un autre, les valeurs déterminées ne dépassent pas la limite d'acidité libre de 50 meq/kg.

Plusieurs recherches ont montré que le traitement thermique et les conditions de stockage ont des effets significatifs sur l'acidité du miel (**RAMIREZ, 2000**).

**SCHWEIZER (2004)**, l'acidité naturelle du miel s'accroît lorsque le miel vieillit lorsqu'il est extrait des rayons avec de la propolis et notamment lorsqu'il s'altère par fermentation.

Nos résultats correspondant aux valeurs cités par les différentes recherches.

- **Conductivité électrique :**

La conductivité électrique est l'un des meilleurs paramètres pour la distinction entre les miels de différentes origines florales (**Terrab et al., 2004**). Elle exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique (**Gonnet, 1982**).

Cette mesure permet de séparer les miels de nectar des miels de miellat. La nouvelle directive le prend en compte pour certaines appellations (**Schweitzer, 2003**). En effet selon **Bogdanov et al. (1999)**, le miel de nectar et les mélanges des miels de nectar et de miellat possèdent une conductivité ne dépassant pas 0,8 mS/cm, tandis que celle de miel de miellat supérieure à 0,8 mS/cm.

Les résultats obtenus présentés à la figure<sup>o</sup>19. Les valeurs de la conductivité des miels étudiés sont faibles par rapport aux recherches algériens, se situés entre 0.014 et 0.011 ms/cm

Les travaux **d'Ouchemoukh et al. (2007)** sur 11 miels de Bejaïa ont montré que les valeurs de la conductivité électrique varient de 0,70 à 1,61 mS/cm, valeurs élevées à celles obtenues par **Belaid (1999)** sur les miels du centre algérien qui sont comprises entre 0,25 et 0,77 mS/cm avec une moyenne de 0,45 mS/cm. Cependant Chefrour (2008) a trouvé une grande variation de la conductivité électrique des miels de l'Est examinés, allant de 0,21 à 2,72 mS/cm.

Il est à souligner que les conditions climatiques et le sol sont différents en Afrique du Nord (**Terrab et al., 2003**).

La conductivité électrique mesure l'ensemble des substances organiques et inorganiques ionisables (**Piazza et al., 1991; Sancho et al., 1991**).

**Zerrouk et al. (2011); Piazza et al. (1991)** signalent que la conductivité électrique du miel est étroitement liée à la concentration en sels minéraux, en protéines et en acidité du miel.

Ces observations concordent avec celles de **Piazza et al. (1991)** qui affirment que la conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel et qui dépend de la teneur en minéraux et d'acidité du miel, plus elles sont élevées plus la conductivité électrique correspondante est élevée et il existe une relation linéaire entre ces paramètres. Cela a été également confirmé par **Accorti et al. (1987)** cités par

**Bogdanov et al. (2004)** selon lesquels la conductivité électrique et les cendres sont corrélés, néanmoins certains de nos miels n'évoluent pas dans le sens établi par les auteurs.

Les différences dans la conductivité électrique de différents types de miel sont liées à leurs origines géographiques et botaniques différentes (**Piazza et al.,1991**).

Les miels de saison sèche sont plus concentrés en sels minéraux que ceux de saison de pluies. En saison sèche la solution du sol semble être plus concentrée en éléments solubles disponibles à la plante (**Mbogning et al., 2011**).

D'autre part elle est en rapport avec sa couleur (**Gonnet, 1984; Kaskoniené et al.,2010; Louveaux, 1980**). Les miels foncés conduisent mieux le courant électrique que les miels clairs car ils sont plus riches en matières minérales (**Gonnet, 1982**).

## 2-Effet antibactérien des miels et de la caséine :

Les tableaux n°13 et 14 représentent les valeurs de CMI des miels étudiés vis-à-vis les souches testées.

D'après les résultats obtenus (Tab.13 et 14), on constate que les miels étudiés présentent un effet antibactérien contre toutes les souches testées. Les CMI obtenues étaient situées entre 50% et 70% pour les souches Humaine pour les deux variétés de miels, et de 30% à 70% vis-à-vis aviaire et lait de vache. Un grand nombre d'études explorant l'activité antibactérienne du miel sur plus de 70 espèces ont été publiées depuis une plusieurs décennies d'années (**Molan, 1992et Cooper et al., 2009**). Les résultats de quelques-unes de ces études sont présentés dans le tableau n°19.

**Tableau n°19** : La CMI du miel de quelques recherches vis-à-vis *E .coli*.

Miel testé	CMI	Référence
Miel de toute fleur d'Emirat Arabes Unis	30%	( <b>Al-waili., 2004</b> )
Miel de tualang	22,5%	( <b>Tan et al., 2009</b> )
Miel de montagne et cèdre d'Arabie	20%	( <b>Alqurashietal.,2013</b> )

Bactérie	Saoudite		
<i>Escherichia Coli</i>	Miels tunisiens	3,1% - 12,5%	(Ayari et al., 2013)
	Cinq types de miel de Roumanie	20% - 40%	(Bobis et al., 2013)

Il est difficile de comparer nos résultats avec ceux obtenus dans ces études car ils proviennent de nombreux auteurs utilisant des miels d'origines florale et géographique variées et mettant des tests microbiologiques qui ne sont pas tous basés sur la même méthode, mais au vu de l'ensemble des résultats on peut tout de même conclure que de nombreux miels possèdent un large spectre antibactérien. Les chercheurs ont montré que c'est l'action

combinée des propriétés physico-chimiques qui confère aux miels leur activité antibactérienne. Selon **Boukraâ et al. (2013)** et selon nos résultats, la conductivité électrique est trop faible pour les variétés du miel testé.

Les résultats obtenus dans notre étude (tab. 13 et 14) montrent que les échantillons E1, E2, sont moins actifs sur la bactérie *E. coli* (gram négatif) ceci peut être dû à la nature de la paroi des bactéries Gram négatif qui est formée principalement de lipoprotéine, lipopolysaccharide et de lipide. Ces composés jouent un rôle de barrière et limitent la pénétration des agents antimicrobiens à travers de la paroi bactérienne. Ce constat est similaire à celui fait par **NedjietAyad (2014)** qui ont trouvé une forte activité antimicrobienne du miel contre les bactéries Gram positif que les bactéries Gram négatif

Ces derniers ont démontré que les bactéries Gram négatif semblaient plus sensibles que les bactéries Gram positif.

L'effet antimicrobien de miel varie selon la concentration du miel et la nature de la bactérie (**Adeleke et al. ,2006 ; Debmandal et Mandal ,2010**)

L'activité antimicrobienne du miel est due à plusieurs propriétés de ce dernier, d'abord à son effet osmotique (**Molan , 1992**), à son **PH** acide (**Deb Mandal et Mandal ,2011**) non favorable à la multiplication des germes pathogènes, sa teneur en peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (**Halliwell et cross ,1994 ; Assie ,2004**) et des substances non peroxyde comme méthylglyoxal (MGO) (**Weston RJ ,2000 ; Deb Mandal 2011**)

Ainsi qu'à la présence de composés phénoliques (**White et subers, 1963 ; Alvarez –Suarez et al . ; 2010** ) et la présence de substance phytochimiques ( **Molan et Russel , 1988 ;Yao etal ,2003** )

**Brudzynski et Sjaarda ,( 2015 )** attribuent l'activité antibactérienne du miel à des glycoprotéines qui ciblent la membrane bactérienne et provoquent par une liaison spécifique l'agglutination des bactéries ,et aussi une perméabilisation non spécifique de la membrane ,des modifications de la forme bactérienne (apparition des filaments et spheroplasts )

Selon **Molan,(1992)**,le peroxyde d'hydrogène est le facteur antimicrobien majeur et la différence de concentration de ce composant entre les différents miels contribue à la variabilité de l'effet antimicrobien du miel .De même la variation de l'activité antimicrobienne du miel dépend de son origine géographique ,

### **L'effet antibactérien de la caséine :**

La caséine est connue par son effet antibactérien, nos résultats donne une bonne réponse des souches vis-à-vis la caséine ; une inhibition de germes est importante par usage directe de la caséine poudre .

Selon **Kappeler et al, 2003**,la caséine renferme des lysozymes, lactoferrine et lactopyroxydase qui ont un effet bactericide et anti-inflammatoire .

Les études telles que les travaux de**Cayot et lorient 1998**.ont également montré l'efficacité des films à base de caséinates contenant des agents actifs contre la croissance de micro-organismes indésirables.

La casocidine-I est un peptide cationique issu de la CN-as2bovine (caséine bovine). Ce peptide inhibe la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus carnosus*(**Zuchet et al.,1995**).

### **L'effet antibactérien de la caséine et le miel:**

Pour l'essai de mélange entre la caséine et les variétés du miel, on a constaté une réponse additive pour la souche *E .coli* humaine par contre synergétique pour les autres souches et cela pour les deux variétés du miel multiflorale soit la forbe.

Des études ont montrés des réponses antibactériennes suite au mélange de la caséine avec le carvacolet cela est porté par **Aurélié MATEOS., 2008.** qui a introduit du carvacol dans des films à base de caséinate de calcium et de sodium. Ils ont utilisé avec succès ces films antimicrobiens pour inhiber la croissance d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*.

Cette étude est à titre d'essai, elle sera confirmée par des études ultérieures.

### L'antibiogramme :

La résistance bactérienne aux antibiotiques se développe rapidement dans le monde et devient un problème crucial non seulement pour la médecine humaine, mais aussi pour la médecine vétérinaire. L'émergence de cette résistance chez les animaux et leurs produits a mis en lumière l'intérêt considérable du transfert potentiel de résistance à la population humaine via la chaîne alimentaire (**Vasquez et al., 2017**).

Pour la surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques, tant au niveau humain qu'animal est important, dans le but de mettre en place une stratégie de prévention et de la dissémination des bactéries multirésistantes **DUIGKEREN et al., 2001**

En 1999, aux USA, le premier cas de résistance totale aux 12 grands familles d'antibiotiques est remarqué. La situation est particulièrement grave dans les hôpitaux nord-américains, où, selon la Food and Drug Administration, 20% des cas d'infections nosocomiales, sont dues à des bactéries multi résistantes. **Barza M, et al., 1999**). *E. COLI* représentent à eux une

En comparant nos résultats à ceux d'un pays Africain (Cameroun), on a trouvé que les antibiotiques que nous avons trouvés actifs sur *E. COLI* dans notre étude, l'étaient sensible à la CL (89.1%), CZ (89.1%), CTX (85.7%), OFX (73.9%), NA (68.3%). Cependant, les *Escherichia coli* sont sensibles à AM (85.8%) **AVRIL JL, et al., 1992**

D'après les chiffres recueillis au Canada, *Escherichia coli* sont, eux naturellement résistants aux TE et la CXT environ (40%). **Barza M, et al., 1999**

Parmi les bacilles à gram négatif, *E. COLI* avaient des taux élevés de résistance à AX (60%), excluant l'utilisation de cette molécule dans le traitement probabiliste des infections grave à *E. COLI* concernant la résistance aux C3, les fréquences trouvés étaient élevées (6 à 3%) comparativement à de nombreux pays occidentaux (< 1% en France). Ces souches étaient essentiellement responsables de bactériémies (18%) ce qui est conforme aux données de certains pays méditerranéens (Maroc, Liban, Turquie et Jordanie respectivement 16%,



22%,26% et 29%).par ailleurs, la fréquence de résistance aux fluoroquinolones était passée de 8% en 1999 à 14% en 2003. **AYQUEM A, et al., 1998**

Le taux de la résistance au chloromphénicole, obtenu dans notre étude était de 33% contrairement aux résultats obtenus par **Seck 2005** qui démontré des taux de sensibilité qui vont seulement de 20% à 25%.

Dans la présente étude, la Gentamycine et la Tobramycine ont montré une bonne activité avec des taux de sensibilité respectifs de 100% de 66%. ce qui est supérieure à ceux de **Sissoko (2006)** ,et **AitMiloud Khalid (2011)** (Gentamycine (72,2%) et (88,3%), respectivement)

Nos souches testées présentent une résistance de 100% à l'ofloxacin qui appartienne de la famille de quinolone. Ces taux de résistance obtenus sont relativement plus supérieure à ceux obtenus par certains auteurs comme **MAYRHOFER et al.**, qui ont trouvées en 2004 que 42% de résistance aux quinolones classiques par contre ces taux sont comparables à ceux obtenue par **YASHPAL et al., 2011** en France

Les résultats sont montrés que nos souches étaient sensibles aux Amikacine et cefoxitin respectivement de 66% et 100% .ces résultats concordent avec ceux de l'étude réalisée par **Sissoko (2006)** ,et **AitMiloud Khalid (2011)** ,qui ont trouvées que la sensibilité à l'Amikacine est (93%) et (96,4%), et à la Cefoxitine est (80,1%) et (91,8%).

Nos souches développées une résistance concernant la famille des aminoside qui contienne Vancamycine, Acidefusidique, respectivement de 33% et 66% qui est confirmée par les résultats de **MESKINE** et **BENABDELKADER (2016)** qui ont révélés également une résistance à ces antibiotiques

Nous souches sont sensible à 100% concernant Fosfomycine contrairement aux travaux de **MESKINE** et **BENABDELKADER (2016)**.

# CONCLUSION

Ce travail de recherche a permis d'étudier certaines propriétés physicochimiques des deux échantillons du miel, et leur effet antibactérien avec la caséine vis-à-vis quelques souches *d'E. Coli*.

L'analyse physico-chimique a porté sur: la détermination de pH, la conductivité électrique, l'acidité et la densité.

La conductivité électrique, le pH et l'acidité donnent des précieuses informations sur l'origine botanique du miel (miel de nectar ou de miellat).

Le pH des deux variétés du miel est de 4.3, donc le milieu est acide du probablement à leur richesse en matière organique.

La conductivité électrique varie entre 0.011 et 0.014 ms/cm. C'est un critère pour la détermination de l'origine botanique du miel et elle est désignée lors de contrôle de routine de miel. Ce qui concernant la résistance des souches *d'E. Coli* testés sont résistante vis-à-vis Erythromycine, Kanamycine, Acide fusidique, Lincomycine, Voncamycine, Chlorophénicol et Ofloxacin. Et sensible contre Fosfomycine, Cefoxitine, Gentamycine, Tobramycine et Amikacine

En ce qui concerne l'activité antibactérienne, Les résultats obtenus indiquent qu'il existe un potentiel antibactérien du miel et de caséine vis-à-vis les souches *d'Escherichia coli* on peut constater que toutes les souches testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés et au caséine, avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne.

D'après les résultats obtenus dans notre étude, nous pouvant dire qu'il y'a une bonne corrélation entre les analyses physico-chimiques et effet antibactérien dans les deux échantillons des miels étudiés.

*Escherichia coli* est présenté une sensibilité au miel et à son effet variable avec la caséine à des degrés différents comme le cas des antibiotiques, donc on peut le considérés comme un traitement alternatif.

Finalement, il est souhaitable que cette étude serait poursuivie sur tout le territoire national et complétée par d'autres études plus approfondies dont le but de mieux connaître les caractéristiques des miels algériens et de valoriser leur qualité thérapeutique.

# REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

### Référence bibliographiques :

- 1-Alexandra Rossant., 2011.** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse doctorat en pharmacie. Université de Limoges. Faculté de pharmacie
- 2-Al-Mamary, M. Al-Meeria , Al-Habori , M. (2002).** «Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey». Nutrition Research, vol. 22, p. 1041-1047.
- 3-Adeleke OE, Olaitan JO, Okepeke EI.** Comparative antibacterial activity of honey and Gentamicin against Escherichia coli and Pseudomonas Aeruginosa. Annals burn fire Disasters 2006 ; 19 : n 4
- 4-Ait Miloud K,** l'infection urinaire: expérience du laboratoire de microbiologie de l'hôpital des spécialités de Rabat. Pour l'obtention du doctorat en pharmacie, Université Mohammed V - Rabat, 2011.
- 6-Alqurashi A.M., Masoud E.A., Alamin M.A., 2013.** Antibacterial activity of Saudi honey against Gram negative bacteria. Journal of microbiology and Antimicrobial,5,1, 165.
- 7-Alvarez-suarez J.M ; Tulipani S ; Diaz D ; Estevez Y ; Romandini S ; Giampieri F ; Damiani E ; Astolfi P ; Bompadre S ; Batino M 2010 :** Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other Chemical Compounds. Food Chem. Toxicol, 84 (8-9) :2490-2499.
- 8-Al-Waili N.S., 2004.** Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical and conjunctiva. J Med food. 7,2, 210-222.
- 9-Amiot J., Lapointe-Vignola C., 2002.** Science et technologie du lait: transformation du lait. Presses interpolytechnique, Québec. 600.
- 10-Anchling F, (2005):** juin, sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. Revue j'abeille de France N° 915. 07p
- 11-Andrews, J. M. (2001).** «Determination of minimum inhibitory concentrations». J Antimicrob Chemother, vol.48, n° 1, p. 5-16.
- 12-Anonyme., 2010.** Afrique agriculture. N°379. PP 40-43.
- 13-Antoine Vimont., 2007** Optimisation de la recherche des Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC). Sciences du Vivant. Université Claude Bernard - Lyon I, 2007. Français. <https://tel.archives-ouvertes.fr/tel-00139179>
- 14-Ari, R.Sezonov, G. (2008).** Les organismes modèles : biologie et génétique d'E.COLI. Edition Belin ; Paris.597p.

- 15-Assegid, G. Erik, S. Lapre, I. (2004).** «Microcalometric investigation on the antimicrobial activity of honey of the stingless bee *Trigonaspis* and comparison of some parameters with those obtained with standard methods». *Thermochimica Acta*, vol. 415, n°1-2, p. 99-106.
- 16-Assie B ; Descottes .2004 :** Le miel comme agent cicatrisant. 115p. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse III.
- 17-Aurélié MATEOS., 2008.** Etude protéomique de la micro hétérogénéité des caséines  $\alpha_{s1}$  et  $\beta$  équines: identification des variants post-transcriptionnels et de phosphorylation; identification des sites phosphorylés de la caséine  $\beta$ . Doctorat en science Sciences Agronomiques. Institut National Polytechnique de Lorraine.
- 18-Avisse Isabelle, 2014.** Grand traité des miels. Editions le sureau .Coédition le sureau Apidis, Normandie.
- 19-Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H, 1992 :** Bactériologie clinique 2ième édition, Ed marketing, paris, pp9 ; 11 ;20.
- 20- Avril JL, Dabernat H, Denis F et Monteil H, 2000 :** Bactériologie clinique, 3ième édition, Elleps, pp 8-9, 170-181.
- 21-Avril JL, Denis. F, Dabernat .H., Monteil. H., 2002 :** Bactériologie clinique. Paris :Ellipses, 3eme édition ; 602p.
- 22-Ayari B., Abbassi F., Hammami M.A ., Landoulsi A., 2013.** Physicochemical and antimicrobial properties of Tunisian honeys: Honey inhibited the motility of bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 7, 32, 4138-4145.
- 23- Ayquem A, Aloue J, Mantagnie R, 1998 :** Traité de microbiologie clinique, Ed Hermann, Paris, pp85-90.
- 24-Barza M, Flandrois JP et Talyf.P, 1999 :** antibiothérapie en pratique clinique, 2ieme édition, Masson, paris, pp 95-99.
- 25-Basualdo.C, Sgroy.V, Finola .MS, Marioli.JM ;( 2007) :** Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology* 124 : 375-381.
- 26-Belaid M., 1999.** Etude physico-chimique et palynologique de quelques miels du centre d'Algérie : Etablissement des normes d'identification. Mem. Mag. Agr. INA. El Harrach.
- 27-Bellerbeck, V.G. (2000).** «Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon Nardus*(L) W. WATSON sur *Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur de substances volatiles en phase vapeur». Laboratoire de

bactériologie-virologie et microbiologie industrielle et UPRESEA3030, Pharmacophore-Redox. Faculté de pharmacie de Toulouse. France

**28-Belouni, R.(2010) :** La classification des bactéries .In Manuel de microbiologie (coordonné par Boulehbhel, F).

**29-Berche P.Louis.G.J.Simonet M ,1988 :** Bactériologie, les bactéries des infections humaines ; édition Flammarion ; médecine. Sciences, paris, pp594-567.

**30-Berche. Patrick, Gaillard. Jean-luis et SimonetT. Michel (1989) :** bactériologie ; les bactéries des infections humaines, édition médecine-science. Flammarion. Paris. Pp100-103-170, 108,267, 269,270, 274, 276, 576,601,602.

**31-Berche. P., 2002.**Qu'est ce qu'un agent pathogène ? Bactériologie générale PCEM2.

**32-BerettaA.G, Granata.P, Ferrero.M, Oriolo .M, Maffel Facino.R;(2005):** Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometric.Anal chim Acta.533 (2):185-191.

**33-Bergogne-Berezin E et Dellamonica P 1999 :** Antibiothérapie en pratique clinique, 2ème édition, Masson, paris, pp 95-99.

**34- Bergogne-Berezin E et Brogard JM ; 1999 :** Bases biologiques de l'antibiothérapie, Ed. Masson, Paris, pp158-162

**35-Bainchi V, Elanbassi, S. Duployez, N, 2013 :** Bactériologie Virologie. Groupe de Boeck Supérieurs.a. Bruxelles.127p.

**36-Biri. M ;(1986):** L'élevage moderne des abeilles –manuel pratique- Ed: VECCHI. S.A PARIS , P:101.

**37-Bobiş O., AlMărghitaş L., Dezmirean S.,Gherman B, ChirilăF. 2013.** in vitro antibacterial activity of unifloral honeys against honeybee pathogens Paenibacillus larvae and Escherichia Coli. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Iasi. 328-333.

**38-Bogdanov S., Lüllman C. et Martin P., 1997.**Harmonised methods of the European Honey Commission, Apidologie 28, extra issue, 1-59. Updated 2009 publication via International Honey Commission <http://www.bee-hexagon.net/en/network.htm> Choose Publication : Harmonised methods of European Honey Commission (accessed on 25September 2009).

**39-Bogdanov S., Martin P., Lüllmann C., 1999.** Honey quality and international regulatory standards. International Honey Commission. Bee World, 80, 61-69.

**40-Bogdanov S et Blumer P., 2001.** Propriétés antibiotiques naturelles du miel.Centre suisse de recherches apicoles.Station fédérale des recherches laitières. Liebefeld, CH-3003 Berne.1-

- 41-Bogdanov .S (2002)** Harmonized methods of the international honey commission. centre Suisse de recherches apicoles
- 42-Bogdanov S., Ruoff K., Persano L., 2004.** Physico-chemical methods for characterization of unifloral honeys : a review. *Apidologie* , 35,4-17.
- 43-Bogdanov S.(2005):**miels monoflauxsuisse .Ed.Station de recherche agro scope liebfeld.posieux ALP Forum 23:8
- 44-Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R., Gallmann P. 2008.** Honey for nutrition and health: a review. *J Am Coll Nutr.* 27(6):677-89.
- 45-Bosgiraud C., (2003),** Microbiologie générale et santé .Ed ESKA. ISBN.P272-274.
- 46- Boubezarithammedtahir., 2010.** Contribution a l'étude des caractéristiques physicochimiques et mycologiques du lait chez quelques races bovines, ovines et caprines dans quelques élevages de la région de Jijel. These de magister en médecine vétérinaire. Université de Constantine - faculté des sciences Pp 19-28. Office des publications Universitaires Ben-Aknoun .Alger.
- 47-Boukrâa L., Alzahrani H.A., Abdellah F., Bakhotmah B., Hammoudi M., 2013.** Synergistic Effect of Monofloral Honey and Essential Oils against *Pseudomonas aeruginosa*. *British Microbiology Research* . 3 ,4 ,564-573.
- 48-Boulhbal. F ;(1994) :** Microbiologie clinique, office des publications universitaires ; Alger, pp127-160.
- 49-Brudzynski.K, (2006):** Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of canadian honeys. *canadian Journal of Microbiology*, Volume 52, Numéro 12, pp : 1228-1237 (10), Ed NRC Research Press.
- 50-Brudzynski K, Sjaarda C,2015 :** honey glycoproteins containing antimicrobial Peptides, Jelleins of the major Royal Jelly Protein 1, Are responsible for the cell wall Lytic and Bactericidal Activities of honey. *Jour. PLOS ONE* 10 (4) : e0120238
- 51- Bruneau E., 2011. Chapitre IX :** Les produits de la ruche. In: Clément et al. *Le traité rustica de l'apiculture*. Rustica, Paris,354-387.
- 52-CaillasA.,1974.** la propolis-i abeille de france et l'aiculture,Mars
- 53-Callen, D. Marmion, V. Clément, M-C. (2000).** « Les miels. In techniques de l'ingénieur ». P.1-20.
- 54-Cayot P et Lorient D., 1998.** Structures et techno fonctions des protéines du lait. Ed Tec & Doc Lavoisier, Paris, 363.
- 55-Cayot, P ; Lorient, D., 1998.** Structures et techno fonctions des protéines du lait. Arilait. Recherche, Lavoisier, paris



- 56-Ceyhan N., ugur A. 2001.** Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey, Riv Biol.
- 57-Chanaud P., 2011.** Les miels: variétés, bienfaits, recettes. Edisud, France
- 58-Chauvin R (1968):** Les produits de la ruche. tome 3 : traité de biologie de l'abeille : édition MASSON et Cie ; PARIS P.397
- 59-Chefrou A., 2008.** Miels Algériens : Caractérisation physico-chimique et melissopalynologique (Cas des miels de l'Est de l'Algérie).Thèse de doctorat d'état de sciences, Université d'Annaba
- 60-Cohen HA., Rozen J., Kristal H., Laks Y., Berkovitch M., Uziel Y., Kozer E., Pomeranz A., Efrat H. 2012.** Effect of honey on nocturnal cough and sleep quality: a double blind, randomized, placebo-controlled study. Pediatrics. 130(3):465-71.
- 61-Cooper R.A.,Jenkins L.,2009.**A comparison between medical grade honey and table honeys in relation to antimicrobial efficacy. Wounds Compend Clin Res Pract.21,2, 29-36.
- 62-Cosentino, S. Tuberoso, C.I. Pisano, B. Satta , M. Mascia ,V. Arzedi, E. Palmas ,F.( 1999).** «In vitro antimicrobialactivity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils». LettApplMicrobiol, vol. 29, n°2, p. 130-5Cosentino, S. Tuberoso, C.I. Pisano, B. Satta , M. Mascia ,V. Arzedi, E. Palmas ,F.( 1999). «In vitro antimicrobialactivity and chemical composition of Sardinian Thymus essential oils». LettApplMicrobiol, vol. 29, n°2, p. 130-5
- 63- Dagleish D.G., Spagnuolo P.A., and Goff H.D., 2004.** A possible structure of the caseine micelle based on high resolution field-emission scanning electron microscopy. International Dairy Journal: 14, 1025–1031.
- 64-Darrigol J.L., 1979.**Le miel pour votre santé, Dangles , France.
- 65-Dearras C, 2007 :** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire Edition Tec s doc, Lavoisier, paris
- 66-Dellaras. C (2007) :** Microbiologie pratique pour le laboratoire édition TEC &DOC, Lavoisier, paris, pp339-342, 447-449.
- 67- DelphineDufour ., 2008.** Recherche et caractérisation de déterminants génétiques permettant l'adaptation d'une souche d'Escherichia coli à la mamelle bovine. Unité de Recherche sur l'Animal et les Fonctionnalités des Produits Animaux. Ecole Nationale Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires. Thèse doctorat
- 68-Dho moulin Maryvonne.,Fairbrother J.M., 1999 :** aviaire pathogène d'Escherichia coli (APEC).Vet . Res., 30, 299-316
- 69-Donadieu .Y.:(1978):** le miel thérapeutique naturel.Ed:MALOINE S.A.20p.

- 70-Donadieu Y., 2003.** Chapitre 1: Qu'est-ce que le miel ?. Faculté de médecine de paris, 07p.
- 71- Doukani K., Gacem N., Benlarbi H., 2014.** Physicochemical and phytochemical characterization of some algerian honeys types. International Journal of Applied, Physical and Bio-Chemistry Research,4, 6,1-16.
- 72-Dromigny,E. (2012) :** Les critères microbiologiques des denrées alimentaires LAVOISIER. Paris 141p.
- 73-Duigkeren EV, Wannet WGB, Houwers DG, Pelt WV, 2001 :** sensibilité aux antimicrobiens de salmonella souche isolée chez l'homme, les bovins et les porcs, les poulets et aux pays-Bas de 1984 à 200. JCLIN microbiologie 41 : 3574-3578.
- 74-El-Shaer.E, Ghanem .S;(1996):**Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils. Pharmazie 51 :993-995.
- 75-Euzeby.JP ;( 2001) :** Evaluation in vitro de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques In Dictionnaire de bactériologie vétérinaire, France .pp1-6.
- 76- Férial Aziza Benyahal A., 2013.**Extraction de la pepsine et utilisation dans la coagulation du lait en vue d'une valorisation des proventricules de volailles au profit de la filière lait en Algérie. Thèse Doctorat en sciences. Sciences Alimentaires. Institut de la nutrition, de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires I.N.A.T.A-A.
- 77-Flandrois, Jean- Pierre (1997) :** Bactériologie médicale .Edition Presses universitaires de Lyon. Pp73-75, 111,107-10, 174-180. **33**
- 78-Gaillard JL, Berche P, Simonet M, 1989 :** Les bactéries des infections humaines, Edition Flammarion Médecine-Science – Paris : 236.
- 79-Gonnet M., 1982.** Le miel. Composition, propriétés, conservation. Echauffour, OPIDA, France. P 132.
- 80-Gonnet M., 1982.** Le miel. Composition, propriétés, conservation. Edition INRA station expérimentale d'apiculture :31
- 81-Gonnet M., 1984.** un miel de soleils. Rev. Fr. Apic , 434, 483-485.
- 82-Gout.J.(1998):** Le monde du miel et des abeilles ,édition des lacheux et Niestlé. S.A Lausanne (SWITZERLAND) Paris : 41-91
- 83-Grimont, P.A.D., 1987.** Taxonomie des Escherichia. Médecine Mal. Infect. 17, 6–10. doi:10.1016/S0399-077X(87)80308-6
- 84-Guerriat, H. (2000).** « Etre performant en Apiculture». Édition Rucher du Tilleul. 415p.
- 85-Guiraud.J.P ;(1988) :** Microbiologie Alimentaire, Dunod, Paris, pp 80-83.

- 86-Guiraud J-P, 1998** : Microbiologie alimentaire, Ed Dunod, paris, pp40-48, 80-89, 277-282.
- 87-Hamidi Mohamed ., 2014.** Etudes des propriétés fonctionnelles et des aptitudes à la coagulation du lait de dromadaire par la couche de kaolin du gésier des poules. Thèse Doctorat en Sciences Agronomiques. Université mohamedkhider- biskra.
- 88-Halliwell B ; Cross C.E.1994** : Oxygen-Derived species : their relation to human disease and environmental stress. *Eviron. Health Perspect*, 102 (10) : 5-1.
- 89-Hamze M., Dabboussi F., Izard D., :** sensibilité des Entérobactéries aux antibiotiques : Etude sur quatre ans (1998-2001) dans le nord du Liban. *Santé : Montrouge*, 2003, Vol. 13, n°2, pp107-112.
- 90-Holt C. and Sawyer L.(1988)** : Primary and predicted secondary structures of the caséins in relation to their biological functions .*proteins Engineering*, 2 , 251-295.
- 91-Huchet E., Coustel J., Guinot L., 1996.** Les constituants chimiques du miel. Méthodes d'analyses chimiques. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France P01-09;p 5;P 11.
- 92-James B. Kaper, James P.Nataro et Harry L. T.Mobley;(2004):** pathogenic *Escherichia coli*. *Nature reviewsmicrobiology* ,V 2 ,pp 123-144.
- 93-Jason H.D., Esther R.A., 2004.** Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica. *Apidologie* , 35,411–417.
- 94-Jerome J. Perry, James T, Staley et Stphen Lory, 2004** : Microbiologie, Dunod, Paris, pp164-165.
- 95-Jessica, Y- Y. (2015).** «Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de Docteur en chirurgie dentaire .Université de Bordeaux.
- 96-Joffin C, Joffin J N,1999** : Microbiologie alimentaire, 5ième édition, Ed Saint Denis, pp45.
- 97-Jolliet T.P, Fontaine . M, Chambraud. E (2000)** : Pharmacologie, édition Masson, Paris, p57.
- 98-Kaper, 2004** : Maladie infectieuses, pp322-327.
- 99- Kappeler S, (1998).** Composition and structural analysis of camel milk protéins with emphasis ou protective proteins. Thèse de doctorat, Swiss federal institute of technology , Zurich.

- 100-Katzzing BG et Lagier G, 2000** : Pharmacologie fondamentale et clinique 7<sup>ème</sup> édition, Italie, pp 741-854.
- 101-Kaskoniené V., Venskutonis P.R., Ceksteryté V., 2010.** Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. LWT-Food Science and Technology, 43, 5, 801-807.
- 102-Koechler, S. (2015).** « Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? ». Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Lorraine.
- 103-Koeck J. L.,Carvallo J.D., Fabre R., Meyran M., Roue R** : sensibilité aux antibiotiques des bacilles gram négatif aérobies isolés d'infections sévères. En 1992 : Résultats d'une étude multicentrique française La presse médicale : 1996 ; Vol.25, n°30, pp1363-1366.
- 104- Korhonen H. &Pihlanto A. (2006).** Bioactive peptides: Production and functionality. International Dairy Journal, 16, 945-960.
- 105-Larpent JP et Gourgaud ML,1985** : Manuel pratique de microbiologie, Ed Hermann Paris, pp47-48, 193-197
- 106-Laarpent .J.P, Larpent-Gourgaud .M ; (1997)** : Memento Technique de Microbiologie, perfectionnement scientifique et Industriel, Lavoisier Tec & Doc, Paris, pp 79-350.
- 107-Liazid (2012):** Etude de la résistance aux antibiotiques des bactéries à gram negative non fermentantes au niveau du CHU de Tlemsane . Memoires. Faculté des sciences de la nature et de la vie et sciences de la terre et de lunivers p95.
- 108-Lecler H, Buttiaux R, Guillaume J et Wattre P, 1983** :Microbiologie appliquée, Ed Paris, pp 45-48 ;62-63 ;193-196.
- 109-Leminor. L. Veron.M ; 1989** : Bactériologie médicale. 2<sup>ème</sup> éditionMédecine science Flammarion ; pp-575-790.
- 110- Leminor. L. Veron M, 1990** : Bactériologie médicale 2<sup>ième</sup> Ed, Flammarion et Cie, France,pp395-406.
- 111-Lenoir J., Remeuf F. et Schneid N (1997).** L'aptitude du lait à la coagulation par la présure, In « Le fromage », Eck, A., et Gillis J.C. (coordonnateurs), pp : 229-256,3<sup>ème</sup> édition, Lavoisier Tec.& Doc. 891 p
- 112-Louveaux (1968)** composition de technologie du miel traité de la biologie de l'abeille, tome : les produits de ruche, (d) Ed. Masson et CIE, paris pp: 277-318.
- 113-Louveaux. J., 1980.** Les abeilles et leur élevage. Hachette, paris.

- 114-Louveaux J., 1985.** Les produits du rucher. In «Les abeilles et leur élevage».Opida,Paris.
- 115-Madigan .M et Martinko.J ;( 2007) :** Biologie des micro-organismes, 11<sup>e</sup> édition, Ed Pearson éducation France, Paris, p695.
- 116- Mainil. J., 2004 :** Bactériologie général
- 117-Mainil. J., 2005 :** Avianpathogenic Escherichia coli. University of Liege, Belgium.
- 118-Makhloufi CH (2001) :** Etude physico chimique et paléogéologiques de quelques miels du nord algérien impact du rôle de l'abeille sur l'équilibre écologique.
- 119-Makhloufi C., Kerkvliet D., Ricciardelli D'albore G., Choukri A., Samra R., 2010.** Characterization of Algerian honeys by palynological and physicochemical methods . Apidologie
- 120-Malika N ; Faid M, and El adlouni C, 2005 :** microbiological and physico-chemical properties of Moroccan honey . international journal of Agriculture & Biology Vol.7 NO 5 ; 773-776.
- 121-Manisha Deb Mandal, Shyamapada Mandal, honey :** its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pac J Trop Biomed 2011 ; 1(2) : 54-160.
- 122-Manzoor M., Mathivanan V., Nabi shah GH., Mir G. M., Selvisabhanayakam M., 2013.**Physico-chemical Analysis of Honey of Apis Cerana indica and Apis Mellifera from different regions of Anantnag district, Jammu & Kashmir. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences,5,3, 635-638.
- 123- Mathieu.J. (1998).** Initiation à la physicochimie du lait, Ed, Tec et Doc, Lavoisier,Paris, p220.
- 124-Mathew.AG, Upchurch WG, Chattin SE (1998) :** incidence de la résistance aux antibiotiques dans les matières fécales d'Escherichia coli isolées de fermes porcines commerciale J Anisci : 76 : 429-434.
- 125-Maude Panouillé., 2004.** Agrégation et gélyfication des submicelles de caséine. Thèse doctorat en chimie et physico-chimie des polymères. Université NANSY.
- 126-Mbogning E., Tchoumboue J., Damesse F., Sanou Sobze M., Canini A., 2011.**Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun . TROPICULTURA, 29, 3, 168-175.
- 127-Mehaia M.A; HablasM.A ;Abdelrahman K.M ; EL-mougy S. A, (1995).** Milk composition of mayahemwadah and hamra camels in Saudi Arabia . Food chemistry,5,115-122.

- 128-Melissa,A.Mundo,M. Padilla-zakour,O.I. worobo,R.W. (2004).** Growth inhibition of foodborne pathogens and foodspoilage organisms by select raw honey. International journal of food Microbial, vol. 97, n°1, p.1-8.
- 129-Meskine A ; Benabdkader L.2016 :** Etude de la résistance et de la multirésistance aux antibiotiques des souches isolées du milieu hospitalier. Mémoire .Université Mentouri Constantine.53p.
- 130-Miraglio.AM, Beuchat .JR, Coulston .A.M ,Carl.IK, Nataro.JP et Speckmann .EW; (2003):** Honey health and therapeutic qualities.The national honey board; pp:1-28.
- 131-Mohammedi. D ; (2001) :** Classification et mode d'action des antibiotiques, pp 1-6.
- 132-Molan P.C. Russell K.M 1988 :** Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. Journal of Apiculture Research, 27(1) : 62-67.
- 133-Molan P., 1992.** The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. Bee World, 73, 2, 59-76 ; 5-28.
- 134-Mundo, M. Padilla-Zakour, O.I. Worobo, R.W. (2004).** «Growth inhibition of foodborne pathogens and foodspoilage organisms by select raw honey. Int. J. Food.Microbial, vol.97, p. 1-8.
- 135-Mayrhofer S, P Paulsen, Smulders FJM, Hilbert (2004) :** profil de résistance aux antimicrobiens F. de 5 principaux agents pathogènes d'origine alimentaire isolée de bœuf, de porc et de volaille. Int J alimentaire microbiol 97 : p 23-29.
- 136-Nauciel C, 2000 :** Bactériologie médicale, Ed Masson, Paris, pp122-131.
- 137-Nanda V, Sarkar B.C; Sharma H, K et Bawa A, S (2003) :** physico – chemical properties and estimation of mineral content in honey produced from different plants in northern India" journal of food composition from analysis. Vol:18 pp:52-58
- 138-Nedji N., Ayad W.L.,2014.** Antimicrobial Effects of Algerian Honey on Pathogenic Food Related Bacteria. Advance Journal of Food Science and Technology .6,11, 1194-1200.
- 139-Nicklin.J, Graeme-Cook.K, Paget. et Killington .R ; (2000) :** L'essentiel en microbiologie, BERTI édition, paris, pp191-192
- 140-Noel J., Leyvral G., 2001.** Microbiologie technique –Dictionnaire des Techniques 3èmes éditions du centre Régional de Documentation Pédagogique d'Aquitaine. 213-219.
- 141-Ou chemoukh S; Louaileche H. et Schwettzer P (2007):** "physico – chemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys " food LOULAILECHE.P

- 142-Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P., 2007.** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honey. *Food control*, 18, 52-58.
- 143-Osho, A. Bello,O.O. (2010).** «Antimicrobialeffect of honeyproduced by *Apis mellifera* on somecommonhumanpathogens». *Asianjournal.EXP.BIOL.SCI*, vol.1, n°4, p.875-880.
- 144- Parente, E. Brienza, C. Moles, M. Ricciardi, A. (1995).** «A comparison of methods for the measurement of bacteriocinactivity». *Journal of MicrobiologicalMethods*, vol.22, p.95– 108.
- 145- Payens T. A. and VREEMAN H. J. 1982.** Casein micelles and micelles of  $\alpha$  and  $\beta$  casein, in «Solution behavior of surfactants: theoretical and applied aspects», K. L. Mittal and E. J. Fendler, eds. Plenum Press, New York.
- 146- Perez, C. Paul, M. Bazerque, P. (1990).** «An Antibioticassay by the agar well diffusion method». *Acta. Bio. Med. Exp.*vol, 15, p. 113-115.
- 147- Perlemuter L, Calbast C, Quevanvier.J, Perlemuter G et Aubert .L ,2000 :** Pharmacologie, éditionMasson, Paris ; pp56-68.
- 148-Perry.JJ, Staley.JT et Lory.S ; (2004) :** Microbiologie, Edition DUNOD, paris, PP162-713.
- 149-Pesenti Marion E ; Spinelli silvia, Pezirard Valérie, Briand Loïc , Pernollet Jean Claud, Tegoni Mariella, Cambillau Christian 2008.** Structural Basis oh the honey Bee PBP Pheromone and PH-induced Conformational Change. *Jornal of molecular Biology* , volume 380 issu 1, page 158-169.
- 150-Phillipe M. (1984):** l'homme et l'abeille ed.berger-levault paris : 174-197,209-291.specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura*, 7, 51–63.
- 151-Piazza MG., Accorti M., Persano Oddo L., 1991.** Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura*, 7, 51–63.
- 152-Pilet CH, Bourdon JL, Toma B et Marchal N, 1975 :** Bactéries médicales et vétérinaires, systématiques bactériennes, Edition Doin, Paris, pp 30-40 ; 108-114.
- 153-Polus.P;(2001):** récolte et conditionnement du miel.Revue abeille de France
- 154- Ponce A.G, Fritz R, Del valle . C et Roura S.I ;(2003) :** Antimicrobial activity of essentiel oils on the native microflora of organicSwisschard. *Libensmittelwissenchaftundtechnology*. Pp500-508.
- 155-Post . J (1984):** l'apiculture, connaitre l'abeille, conduire la ruche. ED : y. b, Bailliére Paris P 479.

- 156-Prost P.J., 1987.** l'apiculture. Connaître l'abeille. Conduire le rucher. Lavoisier, Paris. P 597.
- 157-Prost P.J et Le conte Y. a .:, 2005.** Apiculture, connaître l'abeille-conduire le rucher. Lavoisier,Paris. P 698.
- 158-Prost P.J et Le conte Y. b:, 2005.** Apiculture, connaître l'abeille,conduire le rucher.Ed:TEC et DOC Lavoisier,Paris 7ème édition Pp382-385-387-682.
- 159-Ramirez Cervantes M.A. Gonzales Nouvelos .A et Saurtduche (2000):** Les effets du traitement thermique sur la qualité du miel pendant l'entreposage
- 160- Ribadeau Dumas B., 1991.** Physicochimie et biochimie des protéines de lait. Données récentes ; Lait 71 : 133-139.
- 161-Ricard M ., 2010.** Je fais mon miel. Hachette pratique, Paris.
- 162-Rossant, A. (2011).** «Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Limoges. En français.132
- 163-Sancho M.T., Muniategui S., Sánchez M.P., Huidobro J.F., Simal J., 1991.** Relationships between electrical conductivity and total and sulphated ash contents in Basque honeys, Apidologie,22, 487-494.
- 164-Schweitzer P., 2003.** Sur les sentiers des miels de France. L'analyse physico-chimique des miels. Abeille de France, n° 891.
- 165-Schweitzer P., 2004.** La cristallisation des miels. Abeille de France n° 901. 149-157.
- 166- Schweitzer. P a;(2004):** nectar, miellat, pollen et environnement Revue l'abeille de france.
- 167-Schweitzer. P b;(2004):**le miel d'Amazonie Revue abeille de france.
- 168-Schwettzer .P (2004):** sur les sentiers des miels de france in abeille N° 906 et 908 P08.
- 169-Scientific Report ; (1998)** Honey. Office Of ComplementaryMedicines
- 170-Seck Rose, 2005 :** Résistance des souches d'Escherichia coli et de Klebsiella pneumoniae isolées d'infections urinaires, thèse de pharmacie, université Cheik AnataDiop de Dakar.p73.
- 171-Simon Pet Menier R, 1970 :** Microbiologieindustrielle et génie biochimique, Masson, Paris pp567.
- 172-Singleton p, 1999 :** Bactériologie, 4ième, Ed Dunod, Paris, Pp 240-247
- 173- Somaie Shafiei , Ashraf Kariminik et Zahra Hasanabadi ;(2013) :** Antimicrobialactivity of methanolextract of Opuntia stricta F. Vol, 7 (12): 907-910.



- 174-Soussy C.J., Bonnet R., Cavallo J.D., Chardon H., Chidiac C., Courvalin P., Dabernat H., Drugeon H., Dubreuil L., Guery B., Jarlier V., Jehl F., Lambert T., Leclercq R., Nicolas-chanoine M.H., Plesiat P., Quentin C., Rouveix B., Varon E., Weber P., 2010.** Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (Recommandations 2010). <http://www.sfm.asso.fr>.
- 175-T.A. Payens.** Les propriétés physico-chimiques des caseines alpha s1, beta et kappa. Le Lait, INRA Editions, 1982, 62, pp.306-320.
- 176-Tan H.T., Rahman R.A., Gan S.H., Halim A.S., Hassan S.A., Sulaiman S.A., 2009.** The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to Manuka honey. BMC Complement Altern Med. 9,34.
- 177-Tetrapak processing system (1995).** Dairy processing hand book, Suède, 436 p.
- 178-Terrab A., Diez M.J., Heredia F.J., 2003.** Palynological, Physico-chemical and colour characterization of Moroccan honeys: III. Other unifloral honey types. International Journal of Food Science and Technology, 38, 395-402.
- 179-Terrab A., Recamales A. F., Hernanz D., Heredia F.J., 2004.** Characterization of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. Food Chem, 88, 537-542.
- 180-Threlfall EG, 2002 :** la résistance aux antimicrobiens de la drogue dans salmonella : problèmes et perspectives dans les aliments ou les infections transmises par l'eau. FEMS MICROBIOLE REV ; 26 : 141-148.
- 181-Tomczak C., 2010.** Les substances antibiotiques dans la colonie d'abeilles
- 182-Tomczak C., 2010.** Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon. P 185.
- 183-Toutou, Y (2000) :** Pharmacologie, Diplôme d'état d'infirmière professionnels, 9ème édition Masson, Paris, pp83-90.
- 184-Toutou Sissoko M, Infections Urinaires A Bamako,** Aspects Epidémiologiques, Bactériologiques Et Cliniques, Thèse De Pharmacie Faculté De Médecine De Pharmacie Et D'odontostomatologie, université de BAMAKO, 2006
- 185-Tourneret E.** Le peuple des abeilles. Disponible sur : <http://www.thehoneygatherers.com/> (page consultée le 16/01/2015)
- 186-Vannier P., 1999.** L'ABC du miel. Flammarion, Paris.
- 187-Vásquez-J L, Ramírez N. F, Akineden Ö et Fernández-S. J.A.(2017).** Presence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producing Enterobacteriaceae in bulk-tank milk of bovine dairy farms in Antioquia, Colombia. Rev Colomb Cienc Pecu. 30, 85-100.

- 188-Vecchis.A.(1999):**le grand livre des abeilles,l'apiculture moderne;édition de vecchis.a paris:124-154
- 189-Vierling E., 1999.** Aliments et boissons, filières et produits CRDP d'Aquitaine,édition DOIN, p 270.
- 190-Weston RJ.** The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey :a Review. Food chemistry 2000 ; 71 : 235-239.
- 191-Widmer.F et Beffa.R ; (2004) :**Aide-mémoire de biochimie et biologie moléculaire, 3eme édition, LAVOISIER, Paris, pp24-25
- 192-Yao, L. ; Datta, N ; Tomas-Barberan ,F.A ; Ferreres , F ; Martos, I;& Singanusong, R, 2003 :** flavonoïd phenolic acids and abscisic acid in Australian and New zealand Leptospermum honeys. Food chemistry, 81(2), 159-168.
- 193-Yashpal S. Mlik.Yogeshchnder, Karen Olsen et Sagar M. Goyal ( 2011) :** la résistance aux antimicrobiens dans les pathogènes entériques isolé du minnesota porcs 1995-2004 can J Vet Res. 75 (2) :117-121.
- 194-Zerrouk S.H., Fallico B.G., Arena E.N., Ballistreri G.F., Boughediri L.A., 2011.** Quality evaluation of some honey from the central region of Algeria. Jordan Journal of Biological Sciences, 4, 4, 243-248.
- 195- Zucht H.-D., Raida M., Adermann K., Magert H.-J. & Forssmann W.-G (1995).**Casocidin-I: A casein- $\alpha$ 2derived peptide exhibits antibacterial activity. FEBS Letters, 372, 185-188.

# ANNEXES

## Annexe n° 01 :

Normes du Codex Alimentaire de la qualité de miel naturel (**Codex Alimentaire; 1998, Bogdanov et al. 1995; 2003**).

Paramètre	Norme
Teneur apparente en Sucre réducteur (exprimée en sucre inverti)	Miel de nectar : au minimum 65% Miel de miellat et mélange de miel de nectar et de miellat au minimum 60%(UE) et 40%(CODEX)
Teneur en eau	Au maximum 21% . exception miel de bryère et de trèfle maximum 23%
Teneur en saccharose	Au maximum 5% ; exception miel de miellat : mélange de miel de miellat et de nectar, de robinier, de lavande, d'agrumes, de luzerne, d'eucalyptus (10% au maximum)
Ph	Nectar : 3.5-4.5 Miellat: 4.5-5.5
Acidité libre	Au maximum 40meq d'acide/kg
Acidité total	10 à meq d'acide/kg
Indice diastasique	minimum 3
Teneur en H.M.F	Au maximum 80 mg/kg: 60 mg/kg (CODEX) 40 mg/kg (UE)
Densité	1,39 à 1,44 ;max. 1,52
Conductibilité" électrique	Nectar<0,8 a l'exception de mélange : miel demiellat>0,8 a l'exception miel de châtaigner
Teneur en protéines	0,26 a 0,83%
Teneur en matière minérale (cendre)	Au maximum 0,6% exceptionnelle miel de miella ou mélange de miel de miella et de nectar. miel de châtaigner au maximum 1,2%

Annexe n°2 :

Normes des composants physico-chimiques (Programme) Mixte **FAO/OMS sur les normes alimentaires; 2006**).

<b>Caractéristiques mesurées</b>	<b>Normes</b>
Teneur réel en eau (humidité)	$\leq 21\%$
teneur en sucre totaux	$\geq 6\%$
Ph	De 3.91 à 4.80
Acidité	$\leq 50$ meq /kg
Teneur en matière minérale (cendre)	Au max . 06% miel naturel $\leq 1.2\%$ pour les autre miel
Densité	1.12 à 1.52 miels fins $>1.5\%$ miel cristallisé
Indice de réfraction	
Conductivité électrique	
	$\leq 0.8$ ms/cm

## Annexe n°03

## -Les disques d'antibiotiques

Dénomination commune internationale (DCI)	La charge
Erythromycin	E15
Kanamycin	K30
Fosfomycin	Fo200
Vancomycin	VA30
Tobramycin	Tob 10
Fusidicacid	Fc 10
Lincomycin	L2
Ofloxacin	OF5
Cefoxitin	Cx 30
Amikacin	AK30
Chloramphenicol	C30
Gentamycin	GEN50
Spiramycin	SR100

-Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (**Ponce et al., 2003**).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre < 8mm.
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm.
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm.
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20mm

Annexe n°04 :Matériel du laboratoire utilisé dans notre étude.



Conductimètre



PH mètre



La balance



Bain marie



Agitateur magnétique

### Résumé

L'émergence de la résistance bactérienne *d'Escherichia coli* aux antibiotiques constitue un enjeu de santé publique. L'épidémiologie variable de cette résistance bactérienne aux antibiotiques impose la mise en place d'une surveillance continue et régulière de l'écologie microbienne et des BMR isolées en milieu hospitalier. A cette raison la profession médicale a redécouvert le miel comme alternative grâce à son action antibactérienne contre un large éventail de bactéries. Cette action est due principalement à ses propriétés médicinales, préventives, curatives, antiseptiques qui ont été longtemps utilisées empiriquement.

Nos souches ont développé une résistance vis-à-vis de l'Erythromycine, Kanamycin, Acide fusidique, et Lincomycin avec pourcentage de 66%, et à Vancomycin et chloramphénicol à 33% et sont résistance à 100% contre Ofloxacin. Comme ils ont développé une sensibilité contre Fosfomycin, Cefoxitin et Gentamycin à 100%, et à Tobramycin et Amikacin avec un pourcentage de 66%.

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antibactérien de la caséine et de deux échantillons du miel récoltés du territoire Algérien. Les échantillons des miels sont de différentes sources florale et géographiques il s'agit de : Tiaret : Multyfloral; de Tissemsilt: Forbe. La caséine et les deux échantillons sont testés sur trois souches *d'Escherichia coli* à caractère pathogène d'origine : Bovine, Aviaire et humaine.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'effet antibactérien de la caséine et de deux variétés du miels purs et dilués, seul ou mélangés à des concentrations différentes (70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 10%, 5%) par la technique de puits de diffusion, La CMI du multi floral pour la souche aviaire est de 30%, bovine est de 30%, humaine de 50%.

Pour la CMI de la forbe sont les même pour tout les souches bactériennes.

**Les mots clés:** *Escherichia coli*, Résistance, Miel multifloral, forbe, Caséine, CMI.



### Abstract

The emergence of bacterial resistance of *Escherichia coli* to antibiotics is a public health issue. The variable epidemiology of this bacterial resistance to antibiotics requires the implementation of continuous and regular monitoring of microbial ecology and isolated BMRs in hospitals. For this reason the medical profession has rediscovered honey as an alternative to its antibacterial action against a wide range of bacteria. This action is mainly due to its medicinal, preventive, curative, antiseptic properties which have long been used empirically.

Our strains are developed a resistance to Erythromycin, Kanamycin, Fusidic Acid, and Lincomycin with percentage of 66%, and to Vancomycin and chloramphenicol at 33% and are 100% resistance to Ofloxacin. As they are developed a sensitivity against Fosfomycin, Cefoxitin and Gentamycin to 100%, and to Tobramycin and Amikacin with a percentage of 66%.

The present work is a contribution to the evaluation of the antibacterial effect of casein and two samples of honey harvested from the Algerian territory. The samples of honey are from different floral and geographical sources: Tiaret: Multyfloral; Tissemsilt: Forbe. The casein and the two samples are tested on three pathogenic stais of *Escherichia coli* strains: (Bovine, Avian and human).

Our work is based on the evaluation of the antibacterial effect of casein and two pure and diluted dumiel varieties, alone or mixed at different concentrations (70%, 50%, 40%, 30%, 20%, 15%, 10%, 5%) by the diffusion well technique, The CMI of multifloral for the avian strain is 30%, bovine is 30% And human is 50%.

For the minimal inhibitory concentration of forbe are the same for all bacterial strains.

**Keywords:** *Escherichia coli*, Resistance, Miel multifloral, forbe, Casein, CMI.

### الملخص

ظهور المقاومة البكتيرية من الإشريكية القولونية للمضادات الحيوية هي قضية الصحة العامة. تفرض الوبائيات المتغيرة لهذه المقاومة البكتيرية للمضادات الحيوية إنشاء مراقبة مستمرة ومنتظمة للبيئة الميكروبية و BMR المعزولة في المستشفيات لهذا السبب ، اكتشفت مهنة الطب العسل كبديل بفضله عملها المضاد للبكتيريا ضد مجموعة كبيرة من البكتيريا ويرجع هذا الإجراء أساسا إلى خصائصه الطبية والوقائية والعلاجية والمطهرة التي استخدمت لفترة طويلة تجريبيا. سلالاتنا مقاومة للإريثروميسين ، كاناميسين ، حمض الفوسيديك ، ولينكوميسين بنسبة 66 % ، فانكوميسين و Chloramphenicol بنسبة 33 % ومقاومة 100 % لأفلوكساسين. كما يتم تطوير حساسية ضد Fosfomycin ، Cefoxitin و Gentamycin 100 % ، و Tobramycin و Amikacin بنسبة 66 %.

العمل الحالي هو مساهمة في تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للكازين وعينتين من العسل المحصودة من الأراضي الجزائرية ، وعينات العسل من مصادر زهرية وجغرافية مختلفة هي: Multyfloral : Tiaret من تيسمسيلت: فوري. يتم اختبار الكازين والعينتين على ثلاث طبقات من الإشريكية القولونية من أصل المنشأ الممرض: الأبقار والبشر والإنسان.

يعتمد عملنا على تقييم التأثير المضاد للبكتيريا للكازين واثنين من أنواع نباتات مالا الخالصة والمخففة ، بمفردها أو مختلطة بتركيزات مختلفة (70% ، 50% ، 40% ، 30% ، 20% ، 15% ، 10% ، 5%) بواسطة تقنية البئر ، و MIC من الأزهار المتعددة لسلالة الطيور هو 30 % ، والبقرى 30 % والإنسان 50 %.

لنسبة لـ MIC of the forb هي نفسها لجميع السلالات البكتيرية.

**الكلمات الرئيسية:** الإشريكية القولونية مقاومة ، عسل متعدد الأزهار اللبينة، الكازين ، الحد الأدنى التثبيتي