

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Ibn Khaldoun–Tiaret  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de la nature et de la vie



Mémoire de fin d'études

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 par :

ABDELLI Setti Karima

BEDIAR Imene

BEDRI Kamelia

Thème

Effet antibactérien du miel utilisé seul et additionné aux  
antibiotiques sur *Pseudomonas aeruginosa*

Soutenu publiquement le 27 / 06/ 2019

Jury:

Président: Mme. Meliani Samia

Encadreur: Mme. Bourabah Akila

Co-encadreur: /

Examineur : Mme. Makhloufi Chahra

Grade

MCA Université de Tiaret

MCA Université de Tiaret

MCA Université de Tiaret

Année universitaire 2018-2019

## *Remerciements*

Le présent manuscrit est le résultat d'un long travail réalisé grâce à de nombreuses personnes qui y ont contribué de près ou de loin et que nous tenons tout particulièrement à remercier.

En premier lieu, nous adressons toutes notre reconnaissance à notre promotrice **Dr.Bourabeh Akila**, qui nous a accueillis et a dirigé notre travail, nous aimerions lui présenter nos sincères remerciements pour sa simplicité, sa collaboration, sa disponibilité, ses précieux conseils et pour nous avoir donné les moyens et l'assistance nécessaires à réaliser ce modeste travail.

Nous remercions les techniciens de laboratoire de microbiologie à l'institut des sciences vétérinaire et de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie que nous avons rejoint cette année pour leurs soutiens, leurs conseils et leurs encouragements.

Nous adressons nos sincères remerciements aux membres du jury pour l'honneur qu'ils nous ont fait en acceptant de juger et d'évaluer notre travail malgré leurs nombreuses obligations.

Nous présentons nos sincères remerciements aux enseignants de l'université d'Ibn Khaldoun pour nous avoir formés et pour tout le savoir qu'ils ont su nous transmettre durant ces cinq dernières années.

Enfin, nous remercions tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la concrétisation de ce travail. Qu'ils trouvent tous ici l'expression de notre gratitude et notre profonde considération.

# *Dédicaces*

Je dédie ce modeste travail

A **ma mère**, qui a attendu avec impatience le fruit de son éducation et ses efforts  
... Aucun terme et aucune langue ne peut exprimer mon amour et mes  
sentiments car elle est ma raison de vivre, la lanterne qui éclaire mon chemin et  
illumine de douceur et d'amour.

A **mon père** en signe d'amour, de gratitude et de reconnaissance pour le soutien  
dont il a fait preuve à mon égard.

A ma sœurs **Salima et Khadîdja et sa famille** qui m'ont donné le courage et qui  
m'ont inspiré .Que dieu tout puissant, vous donne santé et bonheur.je t'aime très  
fort...,,

A mes frères **Yacine et Sofiane**, qui m'ont aidés et qui n'ont cessé d'être là pour  
moi, l'exemple de persévérance, de courage et de générosité.

A mon frère **Kamel et sa famille**, qui m'ont encouragé et cru en moi.

A mes chers amis spécialement **Houda** en témoignage de l'amitié sincère qui  
nous a réunis et des bons moments passés ensemble. Je te souhaite une vie  
pleine de bonheur, de prospérité et beaucoup de succès.

A mes deux camarades **Kamelia et Karima**.

Je remercie tous mes proches A tous ceux qui m'aidé et m'ont donné la force et  
la volantè pour réaliser ce travail et d'aller en avant, et à tous ceux que j'aime et  
qui m'aiment.

***IMENE***

## **Je dédie ce modeste travail**

### **A ma mère,**

**Chère mère**, nul mot ne parviendra jamais à exprimer tout l'amour que je te porte. Tu as consacré ta vie à nous élever. Ton amour, ta patience, ton encouragement et tes prières ont été pour moi le gage de la réussite. J'espère que je réalise aujourd'hui un de tes rêves et que ce travail soit à tes yeux le fruit de tes efforts et un témoignage de ma profonde affection. Qu'ALLAH te bénisse et t'alloue bonne santé, bonheur et longue vie afin que je puisse à mon tour te combler.

Comme je dédie aussi ce travail **a tous mes sœurs : Bouchra, Rania, Nihed** et  
mon cher frère **Abde Raouf**

Aux personnes qui m'ont toujours aidé et encouragé, qui étaient toujours à mes côtés, qui m'ont accompagné durant mon chemin d'études supérieures, mes aimables amis et collègues d'étude

A mes camarades **Imene et Karima**

A tous ceux qui m'ont aidé et m'ont donné la force et la volonté pour réaliser ce travail et d'aller en avant, et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment

**KAMELIA**

## **Dédicaces**

*Avant tout je remercie mon Dieu qui m'a donnée la volonté de continuer mes études  
J'ai l'honneur et l'immense plaisir de dédier ce travail :*

*A la mémoire de mon chère papa qui reste toujours mon premier maître dans la vie, en témoignage de votre affection, vos sacrifices et vos précieux conseils qui mon conduit à la réussite dans tous ce que je fais ; Je te tiens particulièrement un grand remerciement que dieu accueille son âmes dans son vaste paradis.*

*A la plus belle perle du monde...ma mère, L'étoile de ma vie qui fait briller mes jours la plus pur, la plus honnête et l'ange Gardien de ma vie qui m'a tout donné sans rien recevoir en parallèle, qui réchauffe mon cœur quand il fait froid. Mon respect et ma reconnaissance pour tous ce que tu as sacrifié pour ma formation, ma réussite et mon bien être que dieu te garde pour moi.*

*« Papa, Mama J'espère que je suis la bonne fille que vous avez rêvée d'avoir. »*

*A mon très cher frère **HOUARI**, merci pour ta patience, ton soutien et tes conseils d'or .Je te souhaite tout le succès et tout le bonheur. J'espère que je serai une source de fierté pour toi.*

*A ma très chère petite sœur **HAYET** l'âme de la famille, la flamme qui éclaircie ma vie, mon adorable ange merci pour ton soutien moral, ta compréhension et ton encouragement. Je t'adore ma chérie et Je te souhaite plein de succès et de bonheur dans ta vie. Que dieu te protège Inchaàlah.*

*A mon cher grand frère **BOUAZZA** et A ma très chère sœur **DJAMILA** et leur familles merci pour votre soutien et vos encouragements.*

*A tous mes frères et sœur : **AHMED ; YOUSEF ; ABED ; LARBI ; GENNOUNA ; HOURIA ; KHADIJA ; KHALIDA** et leur familles.*

*A ma tante **NADIA** et sa famille : merci pour tous vos encouragements.*

*A mes oncles : **ABDELKADER ; MOHAMED ; KHALED ; ABDE RAHMANE ; ABOU BAKER** et leur familles.*

*A mes cousines **MALIKA** et **IKRAME**.*

*A mes cousins : **HADJ** et sa femme **LILA** et sa petite fille **Halima Chahed ; ABD EL MADJID ; KHALED ; ABD ELKADER ; MOHEMMED**.*

*A mes deux camarades **Kamelia** et **Imane***

*Je remercie également le reste de ma famille pour leur soutien et pour l'attention qu'ils m'ont apporté tout au long de mes études. Merci d'avoir toujours été là pour moi.*

**Setti Karima**

## *Liste des abréviations*

**AMOX** : Amoxicilline

**AMP** : Ampicilline

**ADN** : Acide **D**ésoxyribo **N**ucléique

**ARN** : Acide **R**ibo **N**ucléique

**ARN m** : Acide **R**ibo **N**ucléique **M**essenger

**ATB** : Antibiotique

**AUG** : Augmentin

°C : Degré Celsius

**CEF** : Céfazoline

**Cm** : Centimètre

**Cm<sup>3</sup>** : Centimètre au cube

**CMB** : Concentration **M**inimale **B**actéricide.

**CMI** : Concentration **M**inimale **I**nhibitrice

D.O : **D**ensité **O**ptique

**E** : Euphorbe

**EXT**: Extencilline

**FIC**: The fractional inhibitory concentration

**H** : Heure

**HMF** : Hydroxy-methyl-furfural

**g** : Gramme

**Kg** : kilo gramme

**KCL** : Chlorure de Potassium

**L** : litre

**LPS** : Lipopolysaccharide

**Meq** : Milliéquivalents

**M.F** : Multi Florale

**M.H** : Muller Hinton

**ml** : Millilitre

**mn** : Minute

**ms** : Milli Siemens

**MS** : la matière sèche

**mm** : Milli Mettre

**NaOH** : Hydroxyde de Sodium

**N/9** : 1 Newton / 9 = 0,111111111 Newton

**Nm** : Nano Mettre

**O<sub>2</sub>** : Oxygène.

**P** : Poids

***P. aeruginosa* / *Pseudomonas. a* / *P.a*** : *Pseudomonas aeruginosa*

**pH** : Potentiel d'hydrogène.

**PBP** : Penicillin-Binding Proteins

**T** : Thym

**TE** : Teneur en eau

**V** : Volume

**µm** : Micromètre

**%** : Pourcentage

**+** : Positif

**-** : Négatif

**>** : Supérieur

**<** : Inférieur

## ***Liste des tableaux***

<b>Tableau n° 1 :</b> Taxonomie de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
<b>Tableau n° 2 :</b> Pigments de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	5
<b>Tableau n° 3:</b> les pathologies causées par <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et populations à risques associées.....	7
<b>Tableau n° 4 :</b> Certains capitaux facteurs de virulence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> avec leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques.....	7
<b>Tableau n° 5 :</b> .Les principales différences entre le miel de miellat et le de nectar.....	11
<b>Tableau n° 6 :</b> Caractéristiques de quelques miels mono floraux .....	13
<b>Tableau n° 7:</b> Les proportions des différents sucres du miel.....	15
<b>Tableau n° 8 :</b> Les différentes couleurs des miels en fonction de leur origine florale.....	18
<b>Tableau n° 9 :</b> Les différentes propriétés du miel et ses définitions.....	21
<b>Tableau n° 10 :</b> Spectre d'action de quelques antibiotiques et d'autres médicaments antimicrobiens.....	26
<b>Tableau n° 11 :</b> Les différents sites d'action de quelques groupes d'antibiotique .....	27
<b>Tableau n° 12 :</b> Les différents niveaux de sensibilité et leurs concentrations minimales inhibitrices.....	30
<b>Tableau n° 13 :</b> Etude des différents types de résistances et leurs intérêts.....	32
<b>Tableau n° 14 :</b> Renseignement général sur les trois substances testées.....	34
<b>Tableau n° 15 :</b> Les différents matériels utilisés pour la réalisation de travail.....	37
<b>Tableau n° 16 :</b> les paramètres du dosage de la densité de trois variétés du miel.....	40
<b>Tableau n°17 :</b> Les différentes masses de la matière sèche (MS) de trois variétés du miel.....	42
<b>Tableau n° 18 :</b> les paramètres du calcul de la teneur en eau de trois variété du miel.....	43

<b>Tableau n° 19</b> : Les différents volumes de NaOH versé.....	44
<b>Tableau n°20</b> : Les différentes concentrations de chaque variété de miel.....	45
<b>Tableau n°21</b> : Résultat des analyses physico-chimiques pour les trois échantillons du miel.....	49
<b>Tableau n°22</b> : Concentration minimale inhibitrice du miel Euphorbe vis-à-vis <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat Humain et chauve-souris.....	53
<b>Tableur n°23</b> : Concentration minimale inhibitrice du miel Multi floral en Muller Hinton vis-à-vis <i>Pseudomona aeruginosa</i> .....	54
<b>Tableur n°24</b> : Concentration minimale inhibitrice du miel thym en Muller Hinton vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	55
<b>Tableau n°25</b> : Concentration minimale inhibitrice de trois variétés de miel vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	55
<b>Tableau n°26</b> : Standardisation <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en bouillon Muller -Hinton.....	56
<b>Tableau n°27</b> : La densité optique des cinq antibiotiques.....	57
<b>Tableau n°28</b> : L'effet antibactérien des différentes concentrations du miel d'Euphorbe combiné avec des concentrations d'antibiotique. ....	58
<b>Tableau n°29</b> : L'effet antibactérien des différentes concentrations du miel de Thym combiné avec des concentrations d'antibiotique.....	59

## *Liste des Figures*

<b>Figure n° 1:</b> <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	3
<b>Figure n° 2 :</b> composition du nectar et du miel.....	10
<b>Figure n° 3 :</b> Stockage du miel dans les alvéoles.....	12
<b>Figure n°4 :</b> la Composition moyenne du miel.....	14
<b>Figure n°5 :</b> Brûlure du 2 <sup>ème</sup> degré avant et après traitement par le miel.....	20
<b>Figure n° 6:</b> Miel fermenté.....	23
<b>Figure n°7 :</b> les différents sites d'action des antibiotiques.....	26
<b>Figure n°8 :</b> Miel d'Euphorbe d'Elbaydh .....	35
<b>Figure n°9:</b> Miel Multi florale de Tiaret.....	35
<b>Figure n°10 :</b> Miel du Thym de Tissemsilt.....	35
<b>Figure n°11 :</b> Isolat Humain de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	35
<b>Figure n°12 :</b> Les différents antibiotiques utilisés.....	37
<b>Figure n° 13 :</b> Protocole expérimentale .....	39
<b>Figure n° 14:</b> protocole de combinaison entre miel / les antibiotique.....	49
<b>Figure n°15 :</b> Répartition de la densité des miels Euphorbe, Multi floral et Thym.....	50
<b>Figure n°16 :</b> Distribution de la conductivité électrique des miels Euphorbe, Multi floral et Thym.....	50
<b>Figure n°17 :</b> Répartition de la teneur en eau des miels Euphorbe, Multi floral et Thym.....	51
<b>Figure n°18 :</b> Distribution des valeurs de l'acidité des miels Euphorbe, Multi floral et Thym.....	51
<b>Figure n°19 :</b> Coloration de Gram de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> .....	52.
<b>Figure n°20 :</b> Concentration minimale inhibitrice du miel Euphorbe vis-à-vis aux deux Souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat Humain et chauve-souris.....	53
<b>Figure n°21 :</b> Concentration minimale inhibitrice du miel Multi floral vis-à-vis aux deux souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat Humain et chauve-souris.....	54

<b>Figure n°22</b> : Concentration minimale inhibitrice du miel Thym vis-à-vis aux deux souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat Humain et chauve-souris.....	55
<b>Figure n°23</b> : Concentration minimale inhibitrice de trois variétés de miel pure et dilués à 90% vis-à-vis de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> isolat Humain et chauve-souris.....	56
<b>Figure n°24</b> : Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations du miel d'Euphorbe combinée avec des concentrations d'AUG.....	58
<b>Figure n°25</b> : Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations de Thym combinée avec des concentrations d'AMOX.....	59
<b>Figure n°26</b> : Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations de Thym combinée avec des concentrations d'AMP et AUG.....	60

## *Liste des Annexe*

<b>Annexe n° 1</b> : norme du codex alimentaire de la qualité de miel naturel.....	69
<b>Annexe n°2</b> : Composition de milieu de culture .....	69
<b>Annexe n° 3</b> : les dilutions du miel. ....	71
<b>Annexe n° 4</b> : quelques dilutions des miels combinées avec quelques antibiotiques..... .....	72
<b>Annexe n°5</b> : les résultats de l'association du miel de Thym avec les quatre antibiotiques ..... .....	73
<b>Annexe n° 6</b> : les résultats de l'association du miel d'Euphorbe avec les quatre antibiotiques.....	74
<b>Annexe n°7</b> : quelques appareillages du laboratoire utilisé pour la réalisation de notre étude.....	75

# Introduction

### INTRODUCTION

La découverte des antibiotiques a fait naître l'espoir qu'il serait un jour possible de juguler l'ensemble des maladies infectieuses. Le phénomène de résistance bactérienne aux antibiotiques a mis fin à cette "fatale illusion". L'utilisation tous azimuts d'antibiotiques génère l'émergence de souches bactériennes résistantes aux médicaments existants (MANGIN, 2016). Parmi ces bactéries *Pseudomonas aeruginosa*, s'est imposé comme un pathogène hospitalier très important du fait du nombre et de la gravité des pathologies causées(ELMESKINI, 2011).

Cette souche peut provoquer des infections sévères chez les sujets aux défenses diminuées comme les malades atteints de mucoviscidose, les brûlés, les cancéreux ayant reçu de la chimiothérapie cytotoxique et les malades intubés en réanimation(ANDREMONT et RUIMY, 2004) , ces infections nosocomiales ont été rapportées partout dans le monde, avec une émergence rapide et croissante de souches multi résistantes, la plupart du temps dans des unités de soins intensifs ,de ce fait elle était classé comme le deuxième germe responsable de pneumonies nosocomiales et le troisième germe responsable d'infections urinaires nosocomiales(GAYNES ET EDWARDS, 2005 ; ELMESKINI, 2011).

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. (DAS et al., 2015).L'effet bactériostatique du miel est qualifié "d'effet inhibiteur". Différentes raisons expliquent cette propriété antimicrobienne du miel(YAHYA et OKTAR, 2012).

Il est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle (BOGDANOV et al., 2008), car les médecins employaient le miel en applications locales pour ses propriétés cicatrisantes et antiseptiques avant l'apparition des antibiotiques (GOUT,2008). Plusieurs vertus sont attribuées au miel grâce à leur propriétés thérapeutique et antimicrobienne, cicatrisantes et antioxydantes, qui sont utiles pour le traitement des brûlures, des blessures, des troubles gastro-intestinaux, des ulcères et autres (LOBREAU-CALLEN et al., 2000 ; AL-MAMARY et al., 2002). Il a été rapporté que leur propriété intrinsèque affecte la croissance et la survie des microorganismes par des actions bactéricides ou bactériostatiques (MANZOOR et al., 2013) .

Cependant, certains chercheurs indiquent que le peroxyde d'hydrogène produit par l'action de la glucose-oxydase est le premier aspect lié à l'activité antimicrobienne des miels (EI -BANNA *et al.*, 2014).

De la diversité de la flore mellifique, il y a différents miels qui se distinguent par leur composition, directement dépendante de l'origine du nectar et du miellat, le climat, les conditions environnementales et la compétence des apiculteurs [(GHELDOLF et ENGESTH ,2002) ;(KÜÇÜK *etal.*, 2007)].

En raison de sa forte concentration en sucre et de son pH acide, le miel est indéniablement un milieu hyperosmotique inhibant la croissance d'agents pathogènes (KONE, 2016).

De ce fait, le potentiel thérapeutique du miel, a fait l'objet durant ces dernières décennies de plusieurs recherches (CUSHNIE et LAMB, 2005).Aujourd'hui, l'effet antibiotique du miel est exploité pour résoudre les problèmes de la sur utilisation des antibiotiques, vis à vis des bactéries qui deviennent progressivement résistantes (HALIMI, 2018).

Pour une meilleure connaissance des activités biologiques, notre travail est mené en vue d'étudier la qualité physico-chimique et les activités antibactériennes de trois échantillons de miels Algériens (Euphorbe, Multi florale, Thym) de provenances différentes.

Pour cela, nos objectifs sont comme suit :

- ❖ Estimer l'effet antimicrobien des trois variétés de miels sans et avec l'antibiotique vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.
- ❖ Evaluer quelques paramètres physico-chimiques de trois variétés du miel Algérien.
- ❖ Déterminer l'effet additif entre miels et antibiotiques.

# Etude bibliographique

# ***Chapitre I***

**Généralité sur *Pseudomonas*  
*aeruginosa***

## I.1 Présentation de *Pseudomonas aeruginosa*

Selon ELMESKINI (2011), *Pseudomonas aeruginosa* fut découverte par GESSARD (1850-1925) mais en 1882 il a réussi l'isolement de cette dernière. Il est autrement connu sous le nom de bacille pyocyanique est une bactérie ubiquiste à Gram négative. (CAMILLE, 2007). Cette bactérie est largement répandue dans la nature. (KAYSER et al., 2008).



**Figure 1:** *Pseudomonas aeruginosa* (BARAKAT, 2012)

### I.1.1 Nomenclature

La nomenclature de bacilles pyocyaniques vient du grec poui =pus et kuanos = bleu foncé qui est désigné sous le nom de *Pseudomonas aeruginosa* du latin aeruginosus =couvert de rouille. (AVRIL et al., 1992)

### I.2 Taxonomie

Il s'agit d'une bactérie qu'on peut la classifiée de façon conventionnelle comme indiquer dans le tableau 1

**Tableau 1 :** taxonomie de *Pseudomonas aeruginosa* (BENABID, 2009).

Règne	<i>Bacteria</i>
Embranchement	<i>Prokaryota</i>
Division	<i>Proteobacteria</i>
Classe	<i>Gammaproteobacteria</i>

Ordre	<i>Pseudomonadales</i>
Famille	<i>Pseudomonadaceae</i>
Genre	<i>Pseudomonas</i>
Espèce	<i>Aeruginosa</i>

### I.3 Caractéristique

*Pseudomonas aeruginosa* se montre sous la forme de bâtonnets droits, mesure 1 à 3  $\mu\text{m}$  de long et de 0,5 à 1  $\mu\text{m}$  de large. Il s'agit d'un bacille Gram négatif, non sporulé et rendu mobile grâce à la présence d'un flagelle polaire généralement unique ; il dégage une odeur aromatique caractéristique de seringa qui est causé par la production d'ortho-aminoacétophénoie (AVRIL et al., 1992). La présence de nombreux plasmides gouvernant des divers caractères phénotypiques tel que la résistance aux antibiotiques, aux antiseptiques, modification du taux de croissance et acquisition d'activités cataboliques sur certains substrats qui peut compliquer la reconnaissance de cette bactérie (FLANDROIS, 1997).

Ce bacille est mésophile, il est capable de se développer dans des températures optimales qui se situent entre 30 et 37°C. Il est considéré comme une bactérie aérobie strict et qu'il présente un métabolisme oxydatif. Il utilise l'oxygène comme accepteur d'électrons mais en cas de l'absence de ce dernier, il peut employer les nitrates comme accepteur d'électrons (CHAKER, 2012).

### I.4 Culture

Selon KAYSER et al (2008), Dans un bouillon de culture, le germe pousse grâce à la présence d'O<sub>2</sub> libre à la surface qui forme une pellicule ; Il forme des pigments hydrosolubles colorés en jaune-vert (pyoverdine), en bleu-vert (pyocyanine).

### Production de pigments

C'est l'une des caractéristiques de *Pseudomonas aeruginosa*, cette propriété n'a pas de liaison avec la virulence, ni avec la protection dans la production de ces principaux pigments (pyoverdine et pyocyanine) (AVRIL *et al.*, 1992).

Ce dernier peut contribuer à la caractérisation de certaines espèces en particulier *Pseudomonas aeruginosa* qui est le seul capable de produire ces deux pigments comme indiquer dans le tableau 2

**Tableau2** : pigments de *Pseudomonas aeruginosa* (CAMILLE, 2007)

Nom et couleur des pigments	Pyocyanine Bleu-vert	Pyoverdine Jaune-vert fluorescent
Propriétés des pigments	Non diffusible	Diffusible
	Soluble eau et chloroforme	Soluble eau
	Pas de fluorescence sous lumière ultraviolette	Fluorescence sous lumière ultraviolette

### I.5 Habitat et distribution environnementale

*Pseudomonas aeruginosa* est énormément étendu dans l'environnement. C'est une bactérie qui vit à l'état saprophyte dans la nature : l'eau, le sol, les végétaux, les solutions antiseptiques et sur des surfaces inorganiques (CHAKER, 2012).

En outre, ce bacille est souvent omniprésent dans le milieu hospitalier avec un taux plus ou moins élevés (50% à 60%) tandis que chez les sujets en bonne santé, *P.aeruginosa* est peu présente, avec seulement 2 à 10 % de porteurs ; mais il peut être commensales dans le tube digestive de l'homme et des animaux et le plus souvent pathogène opportunistes pour les personnes immunodéprimées et il est responsable de nombreuses infections nosocomiales (11%). (CAMILLE, 2007). Selon son environnement naturel, elle vit sous forme planctonique, mobile ou à l'état sessile dans un biofilm, fixée à une surface inerte ou une source de substrat (CHAKER, 2012).

## I.6 Produits biologiquement actifs

*Pseudomonas aeruginosa* colonise le tissu localement avec une réaction inflammatoire limitée, après intronisation accidentelle dans un organe ou la contamination de la peau ou des muqueuses. Si les défenses locales sont déficientes, un stade d'invasion apparaît avec toxémie. L'exotoxine A est l'un des facteurs de pathogénicité le plus important qui diffuse dans tous les organes. Ce dernier présente un mécanisme d'action commun à celui de la toxine diphtérique (**FLANDROIS, 2000**).

Par ailleurs, ce bacille est parfois entouré d'un pseudo capsule polysaccharidique qui joue un rôle très important dans la pathogénicité de la bactérie (**FLANDROIS, 1997**).

## I.7 Pathogénicité

### I.7.1 infections par *Pseudomonas aeruginosa*

*Pseudomonas aeruginosa* est l'une des bactéries les plus difficiles à traiter cliniquement donc c'est une bactérie pathogène et opportuniste (**MAVRODI et al., 2001**).

Les catégories les plus touchés par ce bacille : les nourrissons, les personnes âgées ; les diabétiques mais surtout hématologique ou cancéreuse (**AVRIL et al., 1992**).

### I.7.2 Formes clinique

Les infections causées par ce germe peuvent atteindre n'importe quelle partie du corps :

- L'appareil respiratoire en conduisant des pneumonies.
- Le cœur avec des endocardites.
- Le système nerveux central en provoquant des méningites.
- Les oreilles par des otites.
- Les yeux au niveau de la cornée par des kératites, des conjonctivites pouvant amener jusqu'à l'exploitation complète de l'œil.
- Les infections de l'appareil urinaire sont le plus souvent causées par l'instrumentation

Dans le milieu hospitalier (**BESSE et al., 2004**)

Selon les infections causées par cette bactérie, il existe des populations plus à risques comme précisés ci- dessous (tableau 3) (ELMESKINI ,2011)

**Tableau 3:** les pathologies causées par *Pseudomonas aeruginosa* et populations à risques associées (ELMESKINI ,2011)

Pathologies	Population à risques
Endocardites	Utilisateurs d'intraveineuses
Infections respiratoires	Personnes à affections respiratoires ou du système immunitaire, cancéreux
Septicémies	Immunodéprimés, diabétiques, brûlés sévères
Infections auditives	Fréquentation de piscine
Infections oculaires	Néonatal, opérations ophtalmologiques
Infections urinaires	Hospitalisation (cathéter, ...)
Infections gastro-intestinales	Immunodéprimés
Infections de la peau et des tissus	Brûlés, trauma, dermatites, neutropénies

### I.8 Facteur de virulence

Ce pathogène opportuniste responsable à des nombreuses infections nosocomiales. L'expression des gènes de virulence au site de l'infection à un rôle important dans la physiopathologie de ces infections (ELMESKINI ,2011).

**Tableau 4 :** certains capitaux facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* avec leurs modes d'action et leurs conséquences cliniques (BEN HAJ KHALIFA et al ., 2011)

Facteurs de virulence	Mécanisme de virulence	Effet pathogène induit
Lipopolysaccharide (LPS)	-Stimulation de la production de cytokines	-Choc
Pili	-Adhésion aux cellules épithéliales respiratoires	-Pathogénicité respiratoire

<b>Flagelle</b>	-Adhésion aux mucines -Mobilité : rôle dans l'internalisation	-Diffusion bactérienne
<b>Exotoxine A</b>	-inhibition des synthèses protéiques des cellules cibles	-Mort cellulaire : nécrose tissulaire -Rôle important dans la virulence
<b>Pyocyanine + pyoverdine</b>	-Action bactéricide sur les autres bactéries -Augmentation de la libération d'élastase -Inhibition des battements des cilles Captage du fer -Induisent la synthèse de radicaux libres	-Favorise l'émergence du bacille pyocyanique -Diminution de la clairance des bacilles -Le rôle dans la survenue de vascularité d'artères pulmonaires

## I.9 Traitement

*Pseudomonas aeruginosa* est redouté pour sa multi résistance. Les pourcentages de résistances varient fortement d'un hôpital et d'un service à l'autre et donc le traitement de l'infection causée par ce bacille est difficile pour les cliniciens car elle est antibiorésistante (FLANDROIS, 1997).

# *Chapitre II*

## **Généralité sur le miel**

## **II.1 Présentation du miel**

L'origine du mot « miel » vient du latin *mel, mellis* qui indique « miel » et « douceur » apparenté au grec *meli, melitos* ainsi qu'au gothique *milith*. Le miel est aussi intimement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur (**LEQUET, 2010**).

## **II.2 Origine du miel**

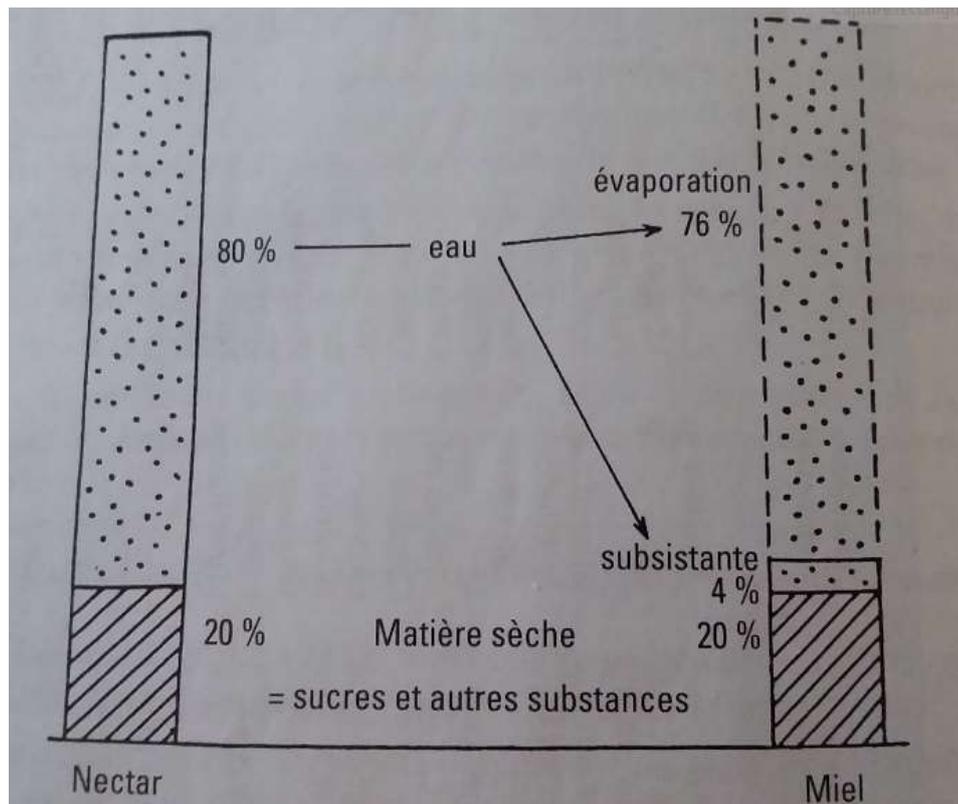
Le miel est la substance naturelle sucrée fabriqué par les abeilles domestiques (*Apis mellifera*; Famille: *Apidae*) à partir du nectar de plantes (fleurs) ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou se trouvant sur elles par les insectes butineurs (**CODEX, 2001**), que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche, cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée (**AMRI, 2010**).

### **II.2.1 Nectar**

Le nectar est un liquide sucré, plus ou moins doux, parfumé et mielleux, il est produit par des organes propres aux végétaux supérieurs appelés nectaires, qui sont des structures glandulaires de petite dimension localisé au niveau des différents positionnements (**HOYET, 2005**). Les différents degrés de densité de cette substance douce varie en fonction de l'espèce végétale et de climat. Il contient environ de 80% d'eau et de 18 à 19 % de sucre (**BIRI, 1986**).

On peut désigner trois catégories de nectar :

- ❖ Les nectaires floraux qui se situent sur les feuilles
- ❖ Des nectaires extra floraux qui se localisent au niveau des feuilles, les tiges ou les autres parties de la plante).
- ❖ Le nectar qui reste accumulé sur le nectaire ou qui passe dans un organe spécialisé.



**Figure 2** : composition du nectar et du miel (CLEMENT, 2014)

### II.2.2 Miellat

Le miellat est un liquide sucré qui recouvre les feuilles de certains arbres tel que pin, sapin. Il est produit par certain insecte piqueur suceur principalement les pucerons qui se nourrissent de la sève des arbres (EON, 2011).

D'une manière générale, les miels de miellats sont moins sucrés, riches en acides aminés, en oligo-éléments et en vitamines, aussi ces derniers sont plus foncés que les miels de nectar (DARRIGOL, 1996).

### II.3 Principales différences entre miels de nectar et de miellat

Selon ROSSANT(2010), Les miels de miellat ont une couleur plus sombre et un goût plus prononcé que du miel de nectar. Il contient également des sucres plus complexes tel que : le mélézitose ou l'écloso, il est encore plus riche en azote, acide organique et en minéraux. Cette différence entre le miel de miellat et celui de nectar sont représentées dans le tableau ci-dessous (tableau 5).

**Tableau 5:** Les principales différences entre le miel de miellat et le de nectar (ROSSANT, 2010)

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

#### II.4 Méthode de fabrication

La production de miel se fait par les abeilles butineuses qui aspirent le nectar des fleurs ou le miellat, qu'elles accumulent dans leurs jabots pendant le retour à la ruche (BALAS, 2015).

Donc la transformation du nectar commence dans le système digestif de l'abeille, il est mis un rapport avec plusieurs enzymes différentes dont l'invertase qui permet l'hydrolyse du saccharose en glucose et fructose. Par la suite le rôle de l'abeille butineuse dans la ruche est de remettre le nectar à une autre abeille qui, elle-même, l'écartera puis le ré-avalera pour le mélanger à de la salive et des sucs gastriques (CUVILLIER, 2015).

par la suite le miel est stocké dans des alvéoles où il est déshydraté par brassage à l'aide de leurs pièces buccales et grâce ventilation avec les ailes des ouvrières ventileuses, qui causent un courant d'air permettant l'évaporation de l'eau. L'évaporation est amendée par l'étalement du liquide en couches très fines dans des cellules formées de cire. Elle se fait sous la double influence de la chaleur de la ruche et de la ventilation assurée par le travail des ventileuses (BALAS, 2015).

Tant que la teneur en eau atteint un seuil inférieur à 18%, en conséquence le miel est emmagasiné dans d'autres alvéoles, dès que le remplissage de ces dernières, seront operculées. Le miel est par la suite stocké comme réserve de nourriture (**BALAS, 2015**).



**Figure 3:** Stockage du miel dans les alvéoles (**CUVILLIER, 2015**)

## **II.5 Les type de miel**

La composition des miels varie d'une ruche à l'autre du fait de la grand variété de plantes pouvant être récoltées par les butineuses (**CHANAUD, 2011**).

### **II.5.1 Les miels mono floraux**

Les abeilles fabriquent les miels mono floraux à partir de nectar ou du miellat d'une espèce végétale unique ou très largement majoritaire (plus de 75 %) (**CHANAUD, 2011**)

Ils sont assez difficiles à produire car il faut identifier précisément une variété de fleur ou de plante. En théorie, ils sont nombreux car on peut produire autant de sortes miels qu'il y a de fleurs. Ils sont également appelés les miels de crus (**EON, 2011**).

**Tableau 6** : Caractéristiques de quelques miels mono floraux (EON ,2011)

Miels	Caractéristiques
<b>Romarin</b>	-couleur jaune très pâle, presque blanche à grise une fois cristallisé. -goût discret, doux et neutre, saveur et odeur aromatique. -granulation assez prononcée, consistance onctueuse, assez pâteuse.
<b>Sapin</b>	-couleur brun très foncé, irisée de vert à plus noir, miel peu sucré. -arôme prononcé, boisé, avec une note de résine, odeur aromatique forte. -cristallisation très lente, consistance visqueuse et épaisse mais liquide.
<b>Thym</b>	-couleur assez foncée, brune, ambrée, presque orange. -odeur aromatique et saveur forte, arôme puissant, long en bouche. -consistance épaisse, cristallisation moyenne.

### II.5.2 Les miels polyfloraux

Fabriqués par les abeilles à partir de divers nectars et miellats provenant de plusieurs espèces végétales (CHANAUD, 2011). Les miels **polyfloraux** sont très répandus. L'identification de ces miels est difficile car elle revient à préciser l'origine exacte de toutes les composantes du miel. Le pollen est le seul qui donne l'origine de tel ou tel miel donc Il faudra faire des analyses plus précises pour en savoir plus sur la composition de ce dernier (EON ,2011).

### II.6 Composition du miel

Le miel est une substance biologique d'une grande complexité dont la fabrication brigue plusieurs étapes qui influent sur sa composition chimique finale (ROSSANT, 2011).

En outre, sa composition est connue depuis longtemps dans ses grandes lignes (CHAUVIN, 1968), est assujéti à des multi-facteurs très variables qui sont impossible de Contrôlés tels que : la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie. (ROSSANT, 2011), aussi elle dépend de la nature des plantes ou des miellats ingérés par les abeilles (CHAUVIN, 1968).

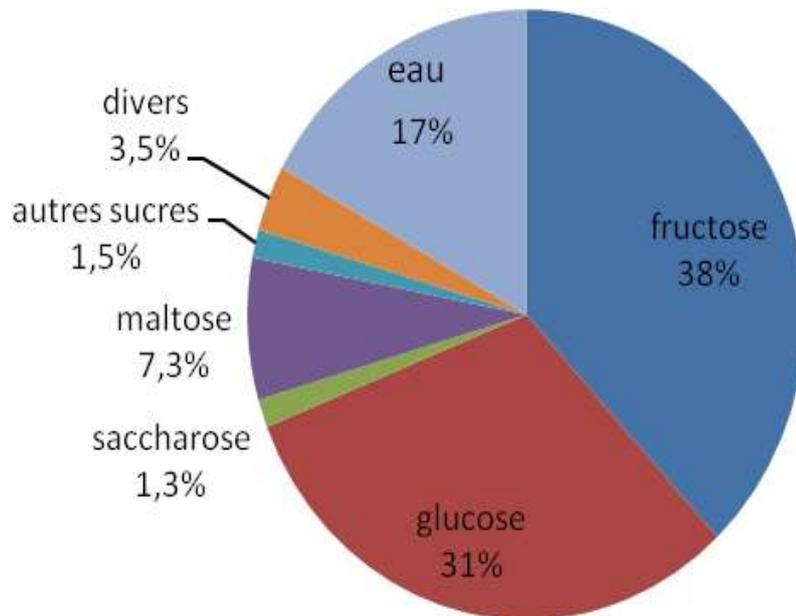


Figure 4: la Composition moyenne du miel (ROSSANT, 2011).

### II.6.1 L'eau

Le miel contient une quantité d'eau qui se situe autour de 17%, étant donné que c'est un produit biologique. Ce pourcentage peut changer (HOYET, 2005) ; selon ROSSANT(2011), la teneur en eau peut variée entre 14 et 25%.

### II.6.2 Les hydrates de carbone

Les hydrates de carbone constituent la partie la plus importante du miel. Il s'agit de fructose et de glucose qui sont les plus abondants .ces deux sucres sont des monosaccharides, viennent ensuite les disaccharides comme le maltose et le saccharose et dernièrement les sucres supérieurs, composés de plus de deux sucres simples ou autrement dit les polysaccharides qui représentent 1,5 à 8%, on peut mentionner parmi eux l'erlose et mélézintose (BALAS, 2015).

**Tableau 7:** Les proportions des différents sucres du miel (ROSSANT, 2011).

Sucres	Proportions
Le glucose	31%
Le fructose	38%
Le maltose	7,3%
Le saccharose	1,3%
Les polysaccharides	1,5 à 8%

### II.6.3 Acides

Toutes les variétés du miel ont une réaction acide. Ils sont composés des acides organiques, dont certains volatils, et des lactones qui proviennent du nectar ou du miellat, mais leur origine principale est dans les sécrétions salivaires de l'abeille et dans les processus enzymatiques et fermentatifs (CHAUVIN, 1968).

D'après HUCHET *et al* (1996), l'acide gluconique est le plus important de ces acides, qui à un rôle très important lors de la maturation du miel. La glucodase transforme le glucose en acide gluconique.

### II.6.4 Protides

Les miels sont pauvres en protéines. Ils sont présents en faible quantité seulement de 0,3% de la matière sèche, englobe les acides aminés et les protéines (albumines, peptones, globulines et nucléoprotéines) qui sont apportés par la plante (nectars, grains de pollen) ou par des sécrétions de l'abeille (LAURENT, 2014).

Tous les miels contiennent la proline, hydroxyproline, la glycine et la leucine qui proviennent de la salive de l'abeille, mais le miel ne contient jamais de tryptophane ou est présent en quantité négligeables (LAURENT, 2014).

**II.6.5 Lipides**

Ils sont présentés en faibles quantités, on trouve principalement de stérols sous forme de cholestérol libre, des esters de cholestérol, on retrouve encore des triglycérides et des acides gras libres (LAURENT, 2014).

**II.6.6 Les vitamines**

Le miel est pauvre en vitamines liposolubles (vitamines A et D), par contre on trouve des vitamines du groupe B (B1, B2, B3, B5, B6, B9) et on retrouve également de la vitamine C avec une petite quantité (CUVILLIER, 2015).

**II.6.7 Sels minéraux**

Les sels de potassium représentent la moitié de la matière minérale. Le miel très foncés et de presse, très riche en pollen atteignent des taux plus élevés (LOUVEAUX, 1985).

En dehors du potassium il existe des éléments tel que : le chlore le soufre, le calcium, le sodium, le phosphore, le magnésium, le silicium et le fer (LOUVEAUX, 1985).

En plus de ces éléments majeurs, on trouve ainsi un nombre très important d'oligo-éléments (LOUVEAUX, 1985).

**II.6.8 Enzymes**

Les enzymes de miel ont une origine double : une partie d'entre eux provient du nectar et l'autre des sécrétions salivaires des abeilles. Les plus connus sont l'invertase et l'amylase. Cependant le miel contient d'autres enzymes, spécialement une catalase, une phosphatase et une gluco-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique (LOUVEAUX, 1985).

**II.6.9 Pigment**

Les pigments sont responsables de la couleur du miel. Donc on peut citer principalement les caroténoïdes et les flavonoïdes (LOUVEAUX, 1985).

## **II.7 Les caractéristiques physico – chimiques**

### **II.7.1 Densité**

La densité du miel à 20°C est comprise entre 1,410 à 1,435 (AMRI, 2010). Les variations de densité du miel émanent surtout des variations de la teneur en eau, de ce fait on peut distinguer que ce caractère est un moyen pour connaître la teneur en eau de ce produit biologique. Pour cela, quand un miel est dense donc il est pauvre en eau (LOUVEAUX, 1985).

### **II.7.2 Viscosité**

Le terme de viscosité s'explique comme la résistance à l'écoulement d'une substance (ROSSANT, 2011) , elle est déterminé avec trois facteurs principaux qui sont la teneur en eau, la composition chimique du miel et la température (CHAUVIN, 1968). D'après PIERRE et LE CONTE (2005)., La viscosité d'un miel est diminué quand la température s'élève jusqu'à 30°C.

### **II.7.3 Chaleur spécifique**

D'après les nouvelles normes relatives aux unités de mesure, il faut convertir les données dont on dispose en unités du système international. Cette pratique n'est pas essentiel si l'on veut bien ce souvenir que la chaleur massique du miel est égale à 0,54 de celle de l'eau à 20°C lorsque le miel 17 % d'eau (LOUVEAUX, 1985).

Pour le réchauffement du miel, il demande deux fois moins de calories que le même poids d'eau, néanmoins il transmet très mal la chaleur qu'il reçoit de sorte qu'il peut être réchauffé rapidement en un point qu'il conserve tout à côté (PIERRE et LE CONTE ,2005).

### **II.7.4 pH**

En général la valeur du pH est varié entre 3,5 et 5,5 ; effectivement c'est grâce à la présence des acides organiques (BOGDANOV et al., 2004).

Les miels de nectar sont très acides, avec un pH de 3,5 à 4,5. Mais concernant les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5 (SCHWEITZER ,2005).

### II.7.5 Coloration

Les miels ont une coloration très variable car les plus claires sont presque incolores alors que les plus foncés sont pratiquement noirs. Entre ces deux extrêmes, se trouve une gamme des jaunes et des roux (LOUVEAUX, 1985).

**Tableau 8** : Les différentes couleurs des miels en fonction de leur origine florale (HOYET, 2005).

Origine florale	Couleur
Acacia	Incolore
Tournesol, Pissenlit	Jaune
Châtaignier, Bruyère	Brun
Saule, Sapin	Très foncée avec des reflets verts

### II.7.6 Conductibilité électrique

La conductivité électrique est un bon critère pour déterminer l'origine botanique du miel (AMRI, 2010), elle a une relation avec la teneur du miel en matière minérale et varie avec de forte proportion de 1 à 15 (PIERRE et LE CONTE ,2005).

Elle est importante, puisqu'elle permet de différencier facilement les miels de miellats des miels de nectar (ROSSANT, 2011).

En général les miels de fleurs ont une conductivité plus ou moins que celle du miel de miellat car il est pauvre en minéraux (AMRI, 2010), de ce fait la conductivité est plus élevée pour les miels qui sont plus riche en substance ionisables (LOUVEAUX, 1985).

### II.7.7 Acidité

Le phénomène de l'acidité est un critère de qualité intéressante tous les miels ont une réaction acide (AMRI, 2010). il est due à la présence d'acides dans le miel (PIERRE et LE CONTE ,2005), certains entre eux proviennent du nectar et les autres de miellat, mais l'origine principale de ces acides est recherchée du côté des sécrétions salivaires de l'abeille et dans les processus enzymatiques et fermentatifs (AMRI,2010) et spécialement l'acide gluconique qui dérive du glucose(PIERRE et LE CONTE ,2005).

## II.8 Les propriétés thérapeutiques du miel

Le miel est un produit sucré et naturel, ses propriétés thérapeutiques sont sous la dépendance de son origine et de son conditionnement. En effet, les miels ont une forte concentration en sucre, pH acide donc assurément un milieu hyper-osmotique inhibant la croissance des agents pathogènes (SALOMON *et al.*, 2010).

### II.8.1 Activité antimicrobienne

Le miel a un effet antimicrobien et peut partiellement être expliqué par sa teneur importante en enzyme, ce dernier reste actif depuis la transformation du nectar en miel. (MERAH *et al.*, 2010), donc le miel inhibe la croissance des agents pathogènes (les micro-organismes et les champignons). Cette activité principalement sur les bacilles gram positifs (BALAS, 2015).

D'après BALAS (2015), les composants antibactériens du miel tous n'ont pas été bien déterminés néanmoins quatre facteurs sont largement mis en avant :

- ❖ **L'effet osmotique** : Sa concentration est très élevée en sucres, en fait une solution hypertonique, cet effet va provoquer la lyse des membranes bactériennes et inhibent leur croissances et les détruire (LAURENT, 2014).
- ❖ **Le pH**: grâce à l'action du système gluconolactone/acide gluconique, le pH du miel est acide et il est actif contre les germes *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus pyogènes*, *Corynebacterium diphtheriae*, *Bacillus cereu* (BLANC, 2010).
- ❖ **Le peroxyde d'hydrogène**: ce facteur antimicrobien est très actif contre les bactéries et provient du système glucose oxydase/catalase (BLANC, 2010).
- ❖ **Les facteurs non peroxydiques** : dans ce facteur le miel est comme certains acides ou composés volatiles aussi des flavonoïdes et acides phénoliques transmis par la plante (BLANC, 2010).

### II.8.2 Activité antioxydant

Le miel a une activité antioxydant qui due par la présence de divers composants parmi lesquels on retrouve les flavonoïdes, les acides phénoliques. Il a été mis en évidence qu'une forte action existait entre l'activité antioxydant et la teneur en acides phénoliques (ORYAN *et al.* 2016).

Selon **IDIR(2012)**, L'activité antioxydant du miel est variable d'un miel à un autre. Il dépend de la source florale, de la source botanique, de la saison de récolte, des facteurs environnementaux et les nombreux facteurs que subit le miel.

### **II.8.3 Propriétés anti-inflammatoires**

Les Propriétés anti-inflammatoires sont en concentration suffisamment importante (**CUVILLIER, 2015**). Selon **RIGAL(2012)**, Les flavonoïdes sont parmi les composants du miel qui ayant des propriétés anti-inflammatoires. Ces flavonoïdes réduiraient l'état inflammatoire et permettraient ainsi de soulager les patients souffrant de brûlures par exemple.

Elle Crée par son activité antioxydant et à l'aide de neutralisation des radicaux libres par les antioxydants cités précédemment (**LAURENT, 2014**).

### **II.8.4 Propriétés anti-cicatrisantes**

Le miel est un remède efficace pour le traitement des brûlures, des blessures chirurgicales infectées et aussi pour les ulcères de décubitus (**AMRI, 2010**).

Le miel crée un milieu humide dans le but d'éviter la croissance des bactéries à cause de son activité antibactérienne (**ROSSANT, 2011**). Cet environnement humide a également un autre avantage dans la permission du bon fonctionnement des enzymes protéolytiques et dans l'élimination des croûtes, du pus et les tissus morts. Tous ces derniers mécanismes mettent de façon très favorable le phénomène de cicatrisation (**ROSSANT, 2011**).



**Figure 5** : Brûlure du 2<sup>ème</sup> degré avant et après traitement par le miel (**ROSSANT, 2011**)

## II.9 Usage du miel

Le miel est un aliment simple édulcorant naturel, mais il est incomplet ; il manque de protéines et de lipides, également c'est un produit diététique et même un médicament. (PIERRE et LE CONTE ,2005)

C'est un médicament parce qu'il a des propriétés préventives et parfois curatives à l'égard des maladies humaines et animales et aussi car il a la capacité d'entretenir, restaurer, corriger et modifier, certaines fonctions organiques (PIERRE et LE CONTE ,2005).

Il a aussi des propriétés antibiotiques et est très largement utilisé pour soigner les plaies et les brûlures (PATERSON, 2008).

### II.9.1 Vertus thérapeutiques

D'après KONE (2016), les vertus du miel sont bien connues dès l'antiquité, à cause de son pH acide. Selon OUDJET(2012), le miel est opulent en sucre simple (fructose, glucose), alors il a un pouvoir sucrant plus important que du sucre raffiné (saccharose) avec un apport calorique énormément moins important (25% calories en moins).

Ce produit biologique a un effet thérapeutique car il est incontestablement un milieu hyperosmotique qui inhibe la croissance d'agents pathogènes (KONE, 2016). Sa qualité thérapeutique, ne sont plus à démontrer, car il existe une multitude de publications sur l'apithérapie offrent en détail les spécificités de chacun de ces divins produits. Cependant et très globalement, toutes les variétés du miel ont des propriétés comme indiquées dans le tableau 9 (CHANAUD, 2011).

**Tableau 9** : les différentes propriétés du miel et ses définitions (CHANAUD, 2011).

Propriétés du miel	Définitions
Antianémiques	Qui combat l'anémie
Antiseptiques	Qui détruit les microbes et empêche leur développement
Apéritives	Qui stimule l'appétit
Béchiqes	Qui calme la toux
Digestives	Qui aide à la digestion
Diurétiques	Qui augmente la sécrétion de l'urine
Dynamogéniques	Qui provoque ou augmente la force, l'énergie

Emollientes	Qui relâche, détend, amollit
Fébrifuges	Qui combat la fièvre
Laxatives	Qui facilite l'évacuation des selles
Sédatives	Qui calme
Vicariante	Qui supplée à la déficience

## II.10 Le vieillissement du miel

Le miel est fréquemment présenté comme une denrée non périssable, de sa conservation qui est pratiquement indéfinie, commercialisable sans précautions d'une année sur l'autre. Il s'agit là de notions fausses. Cette substance sucrée doit être l'objet de soins attentifs si l'on veut qu'il conserve sa fraîcheur et toutes ses qualités gustatives et autres (LOUVEAUX, 1985).

### II.10.1 Cristallisation du miel

Dans les conditions naturelles, tous les miels finissent par cristalliser dans un laps de temps plus ou moins court, du fait de leur sursaturation en sucres. La cristallisation dépend de la composition du miel, et par conséquent de son origine florale (LEQUET, 2010).

La cristallisation du miel dépend à différents facteurs :

#### 1) Teneur en sucre

La teneur en sucres car un miel riche en fructose ne cristallise pas, à l'inverse d'un miel riche en glucose (Teneur > 28%) qui cristallise très rapidement (OUDJET, 2012).

#### 2) Température

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18°C. Une température constante de 14°C est idéale.

A basse température, la cristallisation est lente. Dans le congélateur par exemple, le miel reste plus longtemps liquide. Les miels à cristallisation rapide, tels les miels de colza, se figent sous la forme de cristaux très fins.

A température élevée (plus de 25°C), la cristallisation est également lente, mais le miel se fige en cristaux grossiers (BOGDANOV, 1999).

**3) Teneur en eau**

Les miels avec une teneur en eau de 15 à 18% ont une bonne cristallisation. Ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement. Les miels les mieux tartinables ont une teneur en eau de 17 à 18%, ceux au contenu hydrique faible deviennent durs, alors que ceux avec plus de 18% d'eau restent mous (**BOGDANOV, 1999**).

**II.10.2 Fermentation**

Tous les miels naturels, contiennent des levures qui sont responsables de sa fermentation. Si la teneur en eau du miel est suffisamment élevée ces levures peuvent se multiplier et une forte concentration en sucre ne les tue pas mais inhibe leur développement. (**LOUVEAUX, 1985**).

D'après **KAST (2014)**, les paramètres mis en cause dans la fermentation du miel :

- Teneur en eau.
- Température de stockage.
- Durée de stockage.
- Nombre et type de levures.
- Type de miel.

En général, lorsqu'on ouvre le pot de miel fermenter on distingue les caractéristiques suivantes : échappement d'un air et de petites bulles se trouvent à la surface du miel ; celui-ci diffuse alors une odeur .donc ce miel ne peut plus être commercialisé (**KAST, 2014**).



**Figure 6:**Miel fermenté (**KAST, 2014**).

### **II.11 Le miel toxique**

Il existe quelques miels toxiques à cause de leurs origines botaniques, le nectar de ses plantes, sans invoquer une toxicité pour les abeilles, peut porter atteinte à la santé humaine (**MARCHENAY, 1984**). et il est souvent contaminé par divers micro-organismes lors de la récolte et de l'emballage (**MAHANEEM et al ., 2010**).

Selon **OUJDET(2012)**, l' Hydroxy-methyl-furfural (HMF) est un très bon indice de la qualité du miel et sa dégradation car des valeurs d'HMF supérieures à 40 mg/kg sont révélatrices d'une perte de qualité ; en effet, plus la teneur en HMF est faible, plus la qualité de miel s'affirme.

# *Chapitre III*

## **Généralités sur les antibiotiques**

### **III.1 Présentation de l'antibiotique**

Les antibiotiques sont définis comme des molécules qui sont capable d'inhiber la croissance bactérienne ou même de tuer les bactéries, sans détruire ou affecter l'hôte (cellules humaines dans notre propos) (HNICH, 2017). Ils sont des agents dont la toxicité sélective est issu d'un mode d'action spécifique (MANGIN, 2016).

Ces molécules sont produites par des champignons, des bactéries ou par synthèse capable d'inhiber la réplication d'une bactérie (antibiotique bactériostatique) ou de tuer cette bactérie (antibiotique bactéricide) (LAI, 2013). Ils sont utilisés en médecine mais sont souvent modifier chimiquement à l'effet qu'ils soient plus efficace et parmi eux sont entièrement synthétisés par voie chimique (BILL, 2003).

### **III.2 Le spectre antibactérien**

Le spectre antibactérien illustre l'ensemble des bactéries sur lesquelles l'antibiotique est actif et permet de présager son potentiel aussi que ses limites (MANGIN, 2016).

Selon MANGIN (2016), on peut distinguer les différents spectres d'antibiotique :

#### **❖ Les antibiotiques à spectre large**

Ils ont une efficacité sur un grand nombre de types d'agent pathogènes, et même, l'antibiotique sera actif sur une grande catégorie de toutes les cocci et tous les bacilles. Ils sont utilisés dans le cas où la bactérie n'est pas identifiée et même quand la pathologie peut être due à différents types d'agents pathogènes.

D'après MARTIN(2012), Dans le cas de l'identification rapide d'un agent pathogène, il est possible de penser à employer un antibiotique à spectre large pour traiter la maladie dans le but de gagner un temps précieux.

#### **❖ Les antibiotiques à spectre étroit**

Dans ce cas les antibiotique ont une efficacité sur un nombre limité d'agents infectieux qui leur permettant de cibler une pathologie en particulier.

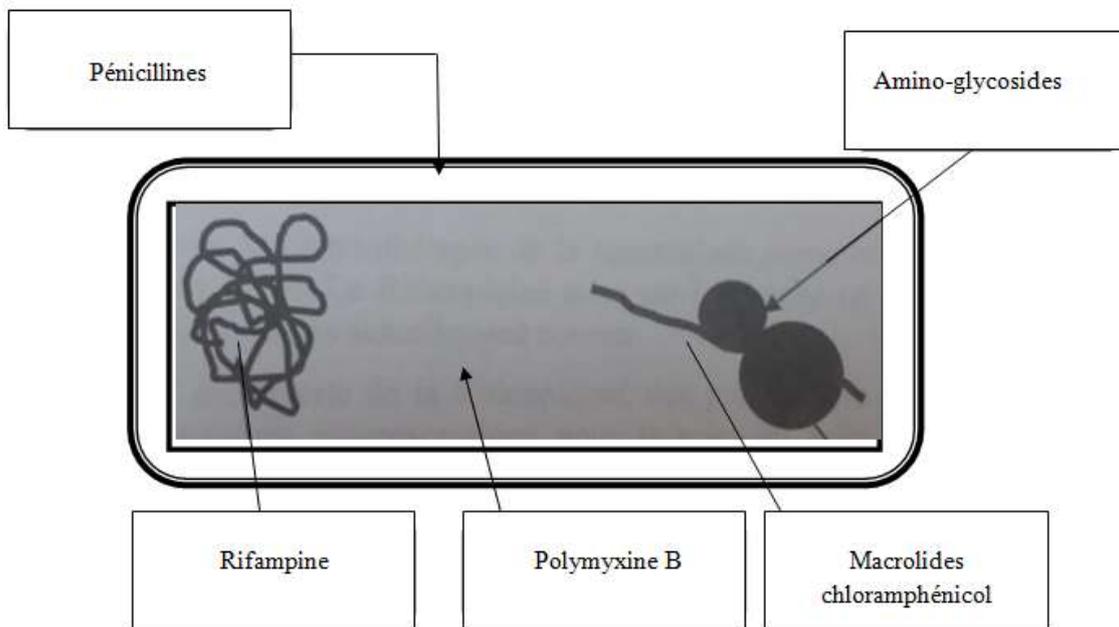
**Tableau 10** : spectre d'action de quelques antibiotiques et d'autres médicaments antimicrobiens (MARTIN, 2012)

Procaryotes			Eucaryotes			Virus
Mycobactéries	Bactérie Gram(-)	Bactérie a Gram (+)	Mycètes	Protozoaires	Helminthes	
Streptomycine	Streptomycine	Pénicilline G	Kétoconazole	Méfloquine (paludisme)	Niclosamide (cestodes)	Acyclovir
Isoniazide		Tétracycline			Praziquantel (trématodes)	

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

Selon NDELI (2009), Le mode d'action des antibiotiques se résume à bouleverser le développement bactérien ; et selon BOUGUessa *et al* (2009), cette perturbation se fait au niveau de :

- La paroi bactérienne.
- La membrane cytoplasmique.
- Le synthé des protéines.
- Le synthé des acides nucléiques.
- Et par inhibition compétitive.



**Figure 7** : les différents sites d'action des antibiotiques (BOUGUessa *et al.*, 2009).

**Tableau 11** : Les différents sites d'action de quelques groupes d'ATB (SHERWOOD et al., 2013)

Groupe d'ATB	Mécanisme d'action	Membres	Spectre
Inhibition de la synthèse de la paroi			
Pénicillines	Inhibent les enzymes de transpeptidation impliquées dans le pontage des chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane de la paroi bactérienne. activent les enzymes lytiques de la paroi	Pénicilline G, Pénicilline V	Etroit (Gram +)
		Ampicilline, Carbénicilline	Large (Gram +, quelques Gram-)
Inhibition de la synthèse protéique			
Amino-glycosides	Se fixent à la sous-unité 30S du ribosome pour inhiber directement la synthèse protéique et provoquer des erreurs de lecture de l'ARNm	Néomycine	Large (Gram-)
		Stréptomycine	Etroit (Gram -)
Inhibition de la synthèse de l'acide nucléique			
Rifampine	Inhibe l'ARN polymérase ADN dépendante	Rifacilline, Rifamycine	Infections dues à <i>Mycobacterium</i> et quelques Gram -
Inhibition de la membrane cytoplasmique			
Polymyxine B	Se fixe à la membrane cytoplasmique et perturbe sa structure et sa perméabilité	Polymyxine B	Etroit, infections dues à une mycobactérie

### III.4 Classification des antibiotiques

D'après **BOUGUessa et al (2009)**, Il existe de nombreuses modalités de classification des ATB d'utilités variables :

- Le mode d'action
- Le spectre d'activité.
- L'origine de la molécule : naturelle, synthétique ou semi synthétique.
- La structure chimique actuellement retenue pour classer les antibiotiques en familles.

Quand les antibiotiques ont une structure chimique identique, donc ils ont le même mécanisme d'action de ce fait ils sont classés dans la même famille (**NDELI, 2009**).

Selon **NDELI (2009)**, On peut distinguer seize familles distinctes :

Les béta lactamines	Les aminosides
Les macrolides	Les quinolones
Les tétracyclines	Les sulfamides
Les lincosamides	Les dérivent imidazoles
Les phénicolés	Les glycopeptides
Les streptogramines	Les rifamycines
Les nitrofuranes	Les polymyxines
Les fosfomycines	L'acide fusidique

### III.5 L'antibiorésistance

#### III.5.1 Notion de la résistance bactérienne

L'antibiorésistance n'a ni frontières, ni barrières d'espèces en tant que bactériennes ou animales (**CHRISTIAN, 2016**).

Selon **LAGHA (2015)**, Quand la concentration d'un antibiotique n'est pas suffisamment élevée au niveau du site de l'infection pour inhiber la multiplication d'une bactérie ou de la tuer, dans ce cas cette bactérie est considérée comme résistance à cet antibiotique

Il existe plusieurs causes pour lesquelles les bactéries peuvent devenir résistantes aux antibiotiques, dont le mauvais usage cela s'explique par l'utilisation de cet molécule pendant une mauvaise période ou pour une mauvaises raisons ,ce qui résulte par la favorisation de la

croissance de cette bactérie supplémentaire qui se traduit par la résistance à l'antibiotique (WALKLEY, 1999).

- ❖ On distingue deux types de résistance bactérienne. La résistance naturelle et la résistance acquise :

#### **III.5.1.1 La résistance bactérienne naturelle**

La résistance intrinsèque est un aspect qui touche toutes les bactéries de l'espèce considérée. Elle est stable et transmise à la descendance néanmoins elle n'est pas ou peu souvent transmissible sur un mode horizontal (d'une bactérie à l'autre au sein d'une même espèce ou entre espèces différentes). (HNICH, 2017).

Si ces molécules naturelles, sont synthétisées par la plupart des micro-organismes pour remplacer d'autres micro-organismes dans un environnement donné, donc les antibiotiques peuvent ne pas être actives sur tous les micro-organismes. Dans ce cas on dira que ces micro-organismes ont une résistance naturelle vis-à-vis de cette molécule. La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique donné est un caractère présent chez toutes les souches de la même espèce (MOROH, 2013).

#### **III.5.1.2 La résistance bactérienne acquise**

A côté de la résistance naturelle existe également des résistances acquises ; est l'exposition secondaire d'antibiotique qui exerce une pression de sélection. La résistance acquise est présente chez quelque souche de la même espèce ou du même genre. (COURVALIN, 2007). Le chromosome ou le plasmide de la bactérie sont les gènes muté de cette résistance. (MORELIERE, 2014).

- ❖ **La résistance chromosomique**

C'est un épiphénomène rare qui résulte par mutation ; elle est due au hasard. Il n'est pas provoqué par l'existence de l'antibiotique. Mais la substance d'antibiotique révèle la mutation en sélectionnant les bactéries mutantes résistantes .grâce à l'association d'antibiotiques On peut la combattre facilement (DURANDD, 2014) .

- ❖ **La résistance plasmatique**

L'élaboration d'enzyme plasmique est le principal mécanisme de résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactamines et aux aminosides. (NDELI, 2009) .

### III.6 Détermination de la sensibilité d'une bactérie à un antibiotique

Selon MUYLAERT (2012), Les antibiotiques ont une résistance, qui devenus un problème très complexe nécessitant une particularité de grande précaution, de ce fait on peut distinguer une bactérie sensible à un antibiotique par :

#### III .6.1 La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La CMI est habituellement utilise pour évaluer l'effet d'un antibiotique. Elle peut inhiber la croissance visible d'un germe en 24H à la plus petite concentration de la molécule d'antibiotique dans le cas où les bactéries ont une multiplication rapide(absence de l'augmentation du nombre de bactéries).donc l'effet bactériostatique est exploré par le la CMI(HNICH, 2017).

**Tableau 12** : les différents niveaux de sensibilité et leurs concentration minimale inhibitrice (PILLY, 2018)

Souche sensible	Souche intermédiaire	Souche résistante
Dans le cas où la CMI est inférieure aux concentrations de l'antibiotique obtenues dans l'organisme avec des posologies usuelles.	Lorsque la CMI voisine des concentrations de l'antibiotique obtenues dans l'organisme avec des posologies usuelles.	Si la CMI est supérieure aux concentrations de l'antibiotique obtenues dans l'organisme avec des posologies usuelles.

#### III.6.2 Concentration minimale bactéricide

La CMB est capable de tuer 99,99% des bactéries d'un inoculum prédéfini dans un milieu de croissance spécifique et en conditions de culture standardisées à la plus faible concentration. Les bactéries aérobies et aéro-anaérobies ont des conditions de culture qui sont : une incubation de 18 à 20 heures, à pression atmosphérique et à une température qui se situe entre 35 et 37°C (MUYLAERT ,2012).

### III.7 Mécanisme de résistance

Les bactéries ont la capacité de forment des mécanismes dans le but de d'empêcher l'une ou l'autre de ces étapes, elle permettre aussi l'émergence de résistances aux antibiotiques. . (ZIAI, 2014).

Ces mécanismes de résistance sont multiples, parmi ceux-ci sont forts complexes, qui ne sont que le reflet de l'évolution et de acclimatation du monde microbien envers les agresseurs que sont les antibiotiques (WIESS, 2002) .

### **1) Diminution de Perméabilité**

A l'opposé aux bactéries gram positives, dont la structure enveloppante est suffisamment simple, élaborée d'une paroi externe épaisse de peptidoglycanes que les antibiotiques traversent par simple diffusion, les bactéries gram négatives jouissent quant à elles d'une enveloppe plus complexe et très malaisément franchissable (MUYLAERT et al ., 2012).

### **2) Mécanisme d'efflux**

Parmi les systèmes de transport (problème tous dépendant d'énergie) ont la capacité de pomper vers l'extérieur, via la membrane cytoplasmique ou l'enveloppe cellulaire, des antibiotiques particuliers (SINGLETON, 2012).

### **3) Résistance par modification de la cible**

La modification de la cible d'un antibiotique se fait par plusieurs différents mécanismes. Tout d'abord, une perte d'affinité dans le complexe cible-antibiotique qui est entériné par une modification structurelle de la cible, donc l'antibiotique ne peut pas se fixer correctement à sa cible qui conduit à une action limitée (BATTRAUD, 2017).

### **4) Résistance par dégradation antibiotique :**

Un enzyme qui synthétiser par la bactérie va modifier l'antibiotique le rendant inefficace. Fréquemment il s'agit de modification entraînant une altération de conformation du médicament qui ne reconnaît plus ou ne peut alors plus se fixer sur son site d'action. (BATTRAUD, 2017).

## **III.8 Corrélation entre concentration d'antibiotiques et résistance bactériennes**

L'usage intensif des antibiotiques conduit à l'évolution de souche bactériennes résistantes aux antibiotiques (BILL, 2003) .

Selon **MULLER (2017)**, Plusieurs études ont révélé que la corrélation entre niveau de résistance et consommation antibiotique, la résistance bactérienne à un antibiotique grandissant avec la consommation de celui-ci.

Il excite plusieurs conséquences de la résistance aux antibiotiques :

- Une durée d'hospitalisation prolongée.
- Une hausse de la mortalité.
- Une augmentation des dépenses en santé.
- Un risque accru d'effets indésirables lié au recours à plusieurs et/ou anciens antibiotiques.
- Des impasses thérapeutiques (**KORPELA et al ., 2016**).

### III.9 Intérêt de l'étude de la résistance aux antibiotiques

D'après **BOUGUESSA et al (2009)**, L'intérêt de l'étude de la résistance aux ATB est multiple comme sont expliquer dans le tableau ci- dessous :

**Tableau 13** : Etude des différents types de résistances et leurs intérêts (**BOUGUESSA et al., 2009**)

Types de résistance étudiée	Intérêts
Clinique	Cette étude permet d'éviter les échecs au traitement
Microbiologique	Elle a un intérêt dans la connaissance des mécanismes de résistance aux antibiotiques guide vers un meilleur choix afin d'éviter de sélectionner des résistances.
Epidémiologique	Dans ce cas elle Permet de disposer les données statistiques sur les résistances, ce qui permettra d'adapter le traitement antibiotique à la bactérie responsable de l'infection.

### **III.10 Antibiogramme**

L'antibiogramme est une technique de travail microbiologique, employant un milieu gélose spécifique en boîte pétri et des disques imprégnés d'antibiotique à des concentrations déterminées (**EUZEBY, 2001**).

L'antibiogramme permet de déterminer la sensibilité et la résistance aux antibiotiques d'une bactérie isolée dans un prélèvement, et supposée être à l'origine d'un processus infectieux.

Ce test de sensibilité a pour but de prédire la sensibilité d'un germe à un ou plusieurs antibiotiques dans une optique essentiellement thérapeutique. (**HNICH, 2017**). Et de déterminer la concentration minimale inhibitrice d'une souche bactérienne vis-à-vis des divers antibiotiques (**EUZEBY, 2001**).

# Etude expérimentale

# **Matériel et Méthodes**

## 1. Lieu et durée du travail

Notre expérimentation s'est déroulée du 18 février au 11 avril dans les laboratoires de microbiologie à l'institut des sciences vétérinaires et au laboratoire de biochimie de la faculté des sciences de la nature et de la vie.

## 2. Objectifs de travail

- ❖ Estimer l'effet antimicrobien des trois variétés de miels sans et avec l'antibiotique vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.
- ❖ Evaluer quelques paramètres physico-chimiques de trois variétés du miel Algérien.
- ❖ Déterminer l'effet additif entre miels et antibiotiques.

## 3. Techniques et méthodes expérimentales

### 3.1 Le matériel biologique utilisé

#### 3.1.1 Le Miel

Pour réaliser ce travail, nous avons testé l'effet de trois variétés de miels, provenant de différentes origines florales et collectés de différentes régions d'Algérie, cela est illustré dans le tableau 14

**Tableau 14** : Renseignement général sur les trois substances testées.

Type des miels	Date de récolte	Origine géographique	Origine florales
Euphorbe	2018	El Bayadh	Mono floral
Multi floral	2018	Tiaret	Multi floral
Thym	2018	<i>Tissemsilt</i>	Mono floral



**Figure 8** : Miel d'Euphorbe  
d'Elbayadh



**figure 9** : Miel de Multi floral  
de Tiaret



**figure 10** : Miel du Thym  
de Tissemsilt

### 3.1.2 La souche bactérienne

La souche utilisée dans ce travail est *Pseudomonas aeruginosa* isolat d'origine humaine isolat (urinaire) identifiée et isolée au niveau du laboratoire de microbiologie des sciences vétérinaires de l'université d'Ibn khaldoun à Tiaret.



**Figure11** : Isolat Humain de *Pseudomonas aeruginosa*.

### **3.1.2.1 Identification de la bactérie**

#### **a. Prélèvement**

1-La souche a été isolée et identifiée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'institut vétérinaire de Tiaret. L'isolat à partir d'une infection urinaire chez l'être humain.

2-La souche de la chauve-souris a été isolée à partir de la matière fécale dans la zone de Tlemcen. Identifiée au laboratoire de microbiologie de Tiaret.

#### **b. Repiquage**

Le repiquage de *Pseudomonas aeruginosa* a été fait sur les milieux de culture King A et la gélose ordinaire.

#### **c. Identification macroscopique**

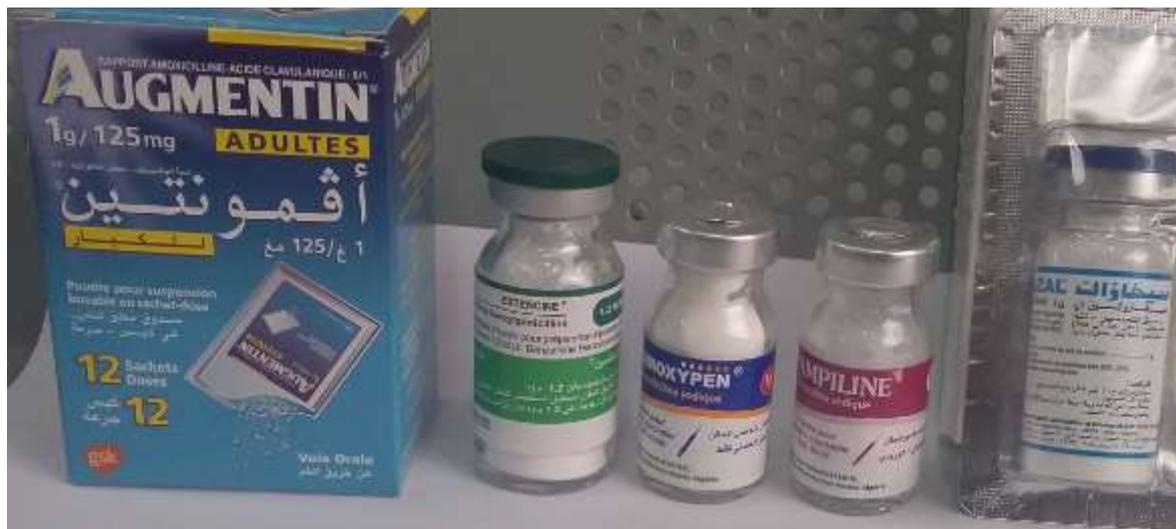
Sur le milieu de culture King A, *Pseudomonas aeruginosa* se caractérise par la production d'un pigment de couleur bleu vert (pyocyanique), l'odeur aromatique, les colonies sont très réduites avec un reflet métallique.

Sur le milieu de culture gélose nutritive les colonies sont caractéristiques par rapport au King A.

### **3.1.3 Les antibiotiques**

La sensibilité des souches a été testé sur cinq antibiotiques humains qui sont :

- Amoxicilline-Acide clavulanique (1g/125mg)(Augmentin).
- BenzathineBenzylpénicilline 1.2M.UI(Molécule/unité internationale) (Extencine).
- Amoxicilline 1g(Amoxyphen).
- Cefezoline 1g(Cefazal).
- Ampicilline 1g (Ampiline).



**Figure 12 :** Les différents antibiotiques utilisés

#### 4. Matériel utilisés

Le matériel et les produits de laboratoire de notre expérience sont indiqués dans le tableau 15.

**Tableau 15 :** Les différents matériels utilisés pour la réalisation du travail.

<b>Appareillage</b>	Conductimètre Balance analytique, électronique Agitateur magnétique PH-mètre Pycnomètre Bain marie Spectrophotomètre Vortex Micro-onde Autoclave Thermomètre Plaque chauffante Dessiccateur Etuve Bec bunsen,
---------------------	---

<b>Verrerie</b>	Burettes graduées Boîtes de pétri Tubes à essai Béchers Fioles jaugées Eprouvette graduée Creusets Cuves
<b>Autre matériel</b>	Ecouvillons Spatule Pipette de pasteur Seringue Pince
<b>Produits et réactifs</b>	L'eau distillée L'eau physiologie Phénolphthaléine Chlorure de potassium (KCL) Hydroxyde de sodium (NaOH)
<b>Milieu de culture</b>	Gélose Muller Hinton Milieu King A

## 5. Méthode

### 5.1 Protocole expérimental

Notre protocole expérimental repose sur les étapes suivantes :

- ◆ Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)
- ◆ Etude physico-chimique

Le présenté dans le diagramme suivant :

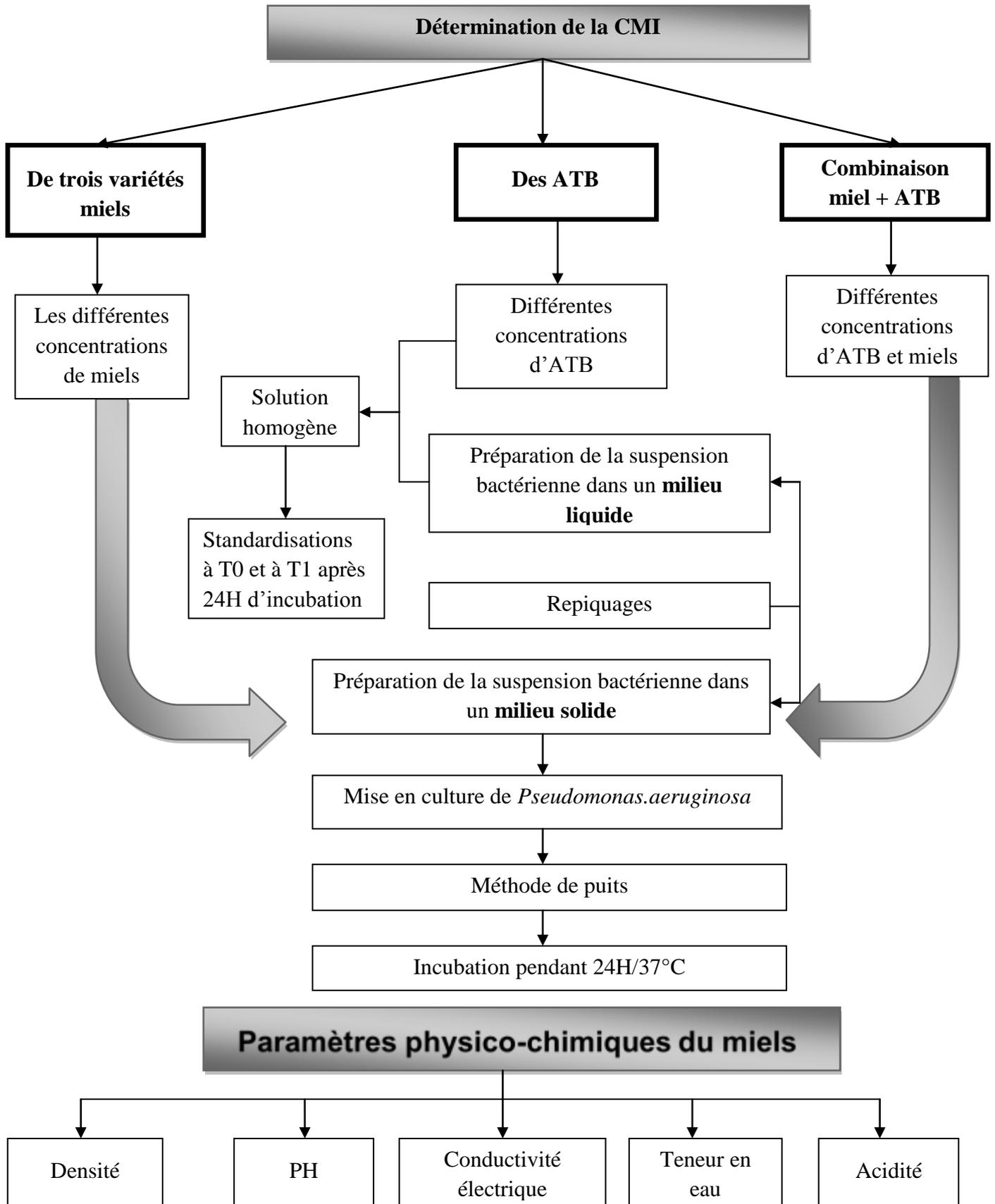


Figure 13 : protocole expérimental

## 5.2 Méthodes physico-chimiques

### 5.2.1 Détermination de la densité

La densité est déterminée selon la méthode suivante : Un pycnomètre de 10 ml est pesé vide et après avoir été rempli de miel jusqu'au trait de jauge, ainsi que pour l'eau distillée. La densité est obtenue en divisant la masse volumique du miel à celle de l'eau distillée dans les mêmes conditions (BOGDANOV *et al.*, 1995).

Elle est calculée selon la formule ci-dessous :

$$\text{Densité} = [(M1-M0) / V] / [(M2-M0) / V]$$

Où :

M2: masse de pycnomètre rempli d'eau distillée (g).

M1: masse de pycnomètre rempli de miel (g).

M0: masse de pycnomètre vide (g).

V : volume de pycnomètre (ml).

**Tableau 16 :** Tableau des paramètres du dosage de la densité de trois variétés du miel.

TYPES DE MIELS	M0 (g)	M1 (g)	M2 (g)	V (ml)
Euphorbe	26,2537	61,2696	51,5509	25
Multi florale	26,2537	62,8200	51,5509	
Thym	26,2537	62,4072	51,5509	

**5.2.2 Détermination de pH**

Le pH est mesuré à 20 °C sur une solution à 10 % (p/v) dans de l'eau distillée à l'aide d'un pH- mètre (BOGDANOV, 2002).

L'électrode a été calibrée en utilisant des solutions tampon de pH 7 et 4(Gomes et al., 2010).

**Mode opératoire**

D'après HALIMI (2018), la mesure a été réalisée selon les étapes suivantes :

- Le miel est mis en solution à 10% dans l'eau distillée.
- Par la suite, la pointe de l'électrode est plongée dans le liquide et la valeur du pH s'affiche au potentiomètre, au centième d'unité.
- Le pH mètre doit être étalonné avant son utilisation avec des solutions tampons.

**5.2.3 Détermination de la Conductivité électrique**

D'après LEO et al (2011), la Conductivité électrique a été déterminé à 20°C en utilisant un 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 prolongez par la même solution, lisez la conductivité a la température de 20°C , appliquez la formule suivante :

$$K = 11,691 \times 1/g$$

K : la constante de la cellule

g : la Conductivité électrique de la solution KCL

- La masse de miel est pesée de la manière suivante

$$M = \frac{5 \times 100}{MS}$$

MS: étant la matière sèche du miel (g)

M : étant la masse du miel (g)

**Tableau 17** : Les différentes masses de la matière sèche (MS) de trois variétés du miel.

Types de miels	MS (g)
Euphorbe	4,4621
Multi florale	4,3461
Thym	4,4473

Le miel de masse (M) a été dissous dans quelques ml d'eau distillé, puis complété a 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 par la formule suivante :

$$CE = K \times G$$

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

K : constante de la cellule

G : conductance de la cellule (ms/cm)

### 5.2.4 Détermination de la teneur en eau

#### a. Principe

La teneur en eau est mesurés en déterminant la perte de poids de l'échantillon après leur séchage dans l'étuve (**WROLSTAD et al., 2005**).

#### b. Mode opératoire

Dans des creusets préalablement pesés et taré ; 5g du produit frais ont été ajoutés puis ces creusets ont été placés dans l'étuve a 105C° .Après 3heures de séchage, les creusets ont été retirés, placés dans un dessiccateur et pesés après refroidissement. L'opération a été répété plusieurs fois jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**AOAC, 2000**).

**Tableau 18** : Les paramètres du calcul de la teneur en eau de trois variétés du miel.

Types de miels	P0 (g)	P1 (g)	P2 (g)
Euphorbe	5	96,9219	50,692
Multi florale		137,2069	70,7765
Thym		137,4487	70,9480

#### c. expression des résultats

La teneur en eau est calculée par la formule donnée par (**AOAC, 2000**)

$$TE = [P1 - P2 / P0] \times 100$$

Dont :

TE : teneur en eau (%)

P0 : poids de la pris d'essai (g)

P1 : poids du creuset plus l'échantillon avant l'étuvage (g)

P2 : poids du creuset plus l'échantillon après l'étuvage (g)

### 5.2.5 Détermination de L'acidité

#### a. 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.

#### b. Mode opératoire

- Mettre 10 ml 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.

**Tableau 19** : Les différents volumes de NaOH versé.

Types de miels	V1 (ml)
Euphorbe	0,3
Multi florale	0,3
Thym	0,25

#### c. Mode de calcul

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

$$A=10(v1 /v0)$$

Où :

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

### 5.3 Effet antibactérien de miels.

#### 5.3.1 Les dilution du miel

Pour connaître l'effet antibactérien de miels, nous avons préparé des différentes concentrations pour les trois variétés du miel, dans le but d'évaluer l'inhibition de chaque concentration de chaque miel sur la croissance de *Pseudomonas aeruginosa*. Ces séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau distillé.

**Tableau 20** : Les différentes concentrations de chaque variété de miel.

Types de miels	Concentrations (%)					
Euphorbe						
Multi florale	20	40	60	80	90	pure
Thym						

#### 5.3.2 Préparation de l'inoculum standard des souches

A partir d'une culture pure de 24h sur milieux d'isolement King A .Racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger l'anse dans 5à10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%, bien homogénéiser la suspension bactérienne, opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland ou à une densité optique de 0,08à 0,13 lue à 625 nm. L'ensemencement doit se faire dans les 15 mn qui suivent la préparation de l'inoculum (SOUSSY *et al.*, 2010).

#### 5.3.3 Méthode des puits de diffusion

##### a. Principe

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 [(PEREZ *et al.*, 1990) ; (PARENTE *et al.*, 1995)].

On outre, elle consiste à découper un tronc circulaire vertical dans la gélose et d'y verser une solution, cette dernière ce diffuse de façon radiale en donnant une zone d'inhibition claire et facilement (MEDA *et al.*, 2005).

**b. Mode opératoire**

Des puits équidistants sont creusés a l'aide d'une pipette pasteur flambée et refroidie, pour les remplir par les solutions à testés et l'un des puits est considéré comme témoin car il est rempli par l'eau distillé .

**c. La lecture**

Un produit est considéré actif, s'il donne un diamètre d'inhibition supérieur à 8 mm **(ELSHAER et GHANEN, 1996)**.

La lecture a été faite par la mesure des diamètres de la zone d'inhibitions autour des puits

Les résultats peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité de la souche vis-à-vis des extraits **(PONCE et al., 2003)**.

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

**5.3.4 Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est le paramètre le plus souvent utilisé pour évaluer l'effet d'un antibiotique. Elle correspond à la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe la croissance visible du germe en 24H pour les bactéries à multiplication rapide (absence de l'augmentation du nombre de bactéries). La CMI explore donc l'effet bactériostatique seulement, ce qui n'est pas limitatif sachant qu'en bactériologie clinique, le but le plus souvent recherché est l'inhibition de la prolifération bactérienne, dans la mesure où l'organisme, via son système inflammatoire et immunitaire, est capable de se défendre contre les bactéries **(HNICH, 2017)**.

**La détermination de la CMI se fait par deux techniques**

- **Sur un milieu solide**

Dans des boite de pétrie coulé par Muller Hinton (MH) etensemencée avec un inoculum de la souche, on met des puits à l'aide d'une pipette pasteur ; ces derniers sont remplis par des

dilutions du miel seul ou additionnées aux antibiotique. Après incubation de 24h à 37 °C on mesure la CMI.

- **Sur un milieu liquide**

- dilution des antibiotiques dans les tubes
- Préparation de l'inoculum dans un flacon de 25 ml de bouillon MH
- Ensemencement de chaque tube (solution homogène)
- Par l'appareil de spectrophotométrie réglée à 625 on met une cuve de MH seul dans la chambre, éliminé la valeur, après on met chaque solution homogène et marqué ses valeurs (T0)
- Les mêmes techniques à suivre après Incubation de 24h (T1).

### **La lecture**

La lecture des résultats se fait visuellement par l'observation de la croissance ou de l'inhibition de la croissance des bactéries.

### **6. Evaluation de l'effet antibactérien entre miel /antibiotiques**

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association miel/ATB est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par (**HALAWANI ,(2009) ; MANDAL ET AL., (2010) ; TOROGLU ,(2011).**

#### **Mode opératoire**

- Préparation des différentes dilutions de miel (Euphorbe, Thym) et d'ATB qui sont amenées par la détermination de la CMI.
  - La préparation de l'inoculum de *P.aeruginosa*.
  - La mise en culture de l'inoculum dans les boîtes de pétries coulé par le MH.
  - L'association des différentes dilutions de miels avec les concentrations des antibiotiques (AMOX, AMP, AXT, AUG, CEF).
- Dans le cas de miel d'euphorbe on a les trois concentrations : 20%,10% et 5%, on explique cette association d'Euphorbe avec un seul antibiotique qui est AMOX, présenté dans la figure15. On applique la même technique pour les restes concentration d'ATB (AMP, AUG, EXT, CEF).

- Dans le cas de miel de Thym on a obtenu ces trois concentrations : 30%,15%, 7,5%.On applique la même technique d'association pour les différentes concentrations des cinq antibiotiques

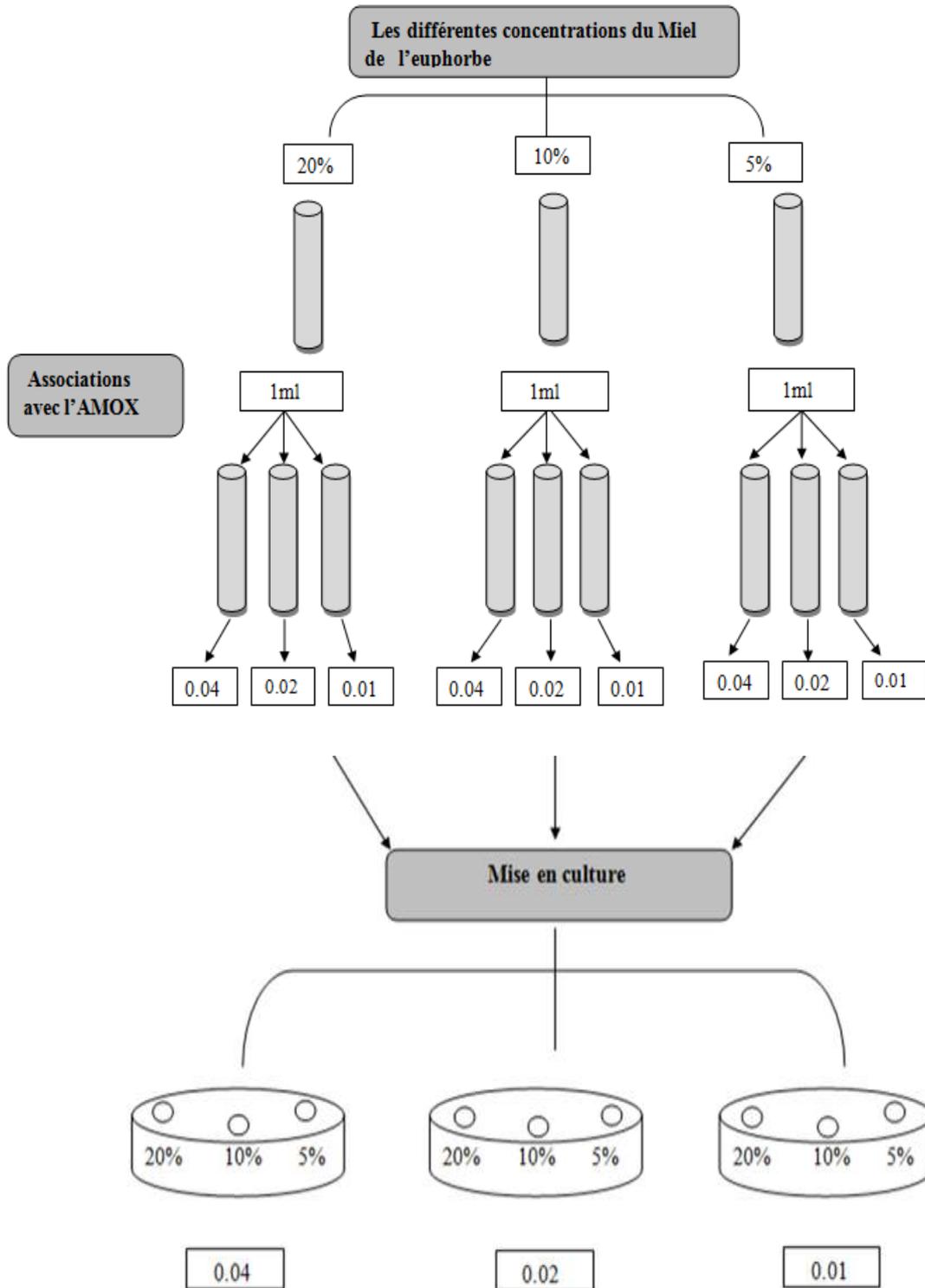


Figure 14 : protocole de combinaison entre miel/antibiotique

# Résultat et discussion

## 1. Résultats

Le miel à usage médical doit évidemment répondre aux normes de qualité physico- chimiques mais aussi à des normes de qualités bactériologiques.

### 1.1 Analyses physico-chimiques

Nous présentons dans le tableau suivant les résultats d'analyses physico-chimiques pour les trois variétés de miels :

**Tableau 21** : Résultats des analyses physico-chimiques pour les trois échantillons du miel.

Paramètres	Euphorbe	Multi florale	Thym
Densité (g/cm <sup>3</sup> )	1,38	1,44	1,42
pH	3,57	3,55	3,50
Conductivité électrique (mS/cm)	0,047	0,0752	0,0282
Teneur en eau (%)	10,76	13,08	11,05
Acidité (meq /kg)	3	3	2,5

Dans ce tableau, la densité du miel Euphorbe est la plus faible 1,38 ; le Multi floral a la plus grande valeur 1,44 suivi par le miel du thym avec une valeur de 1,42

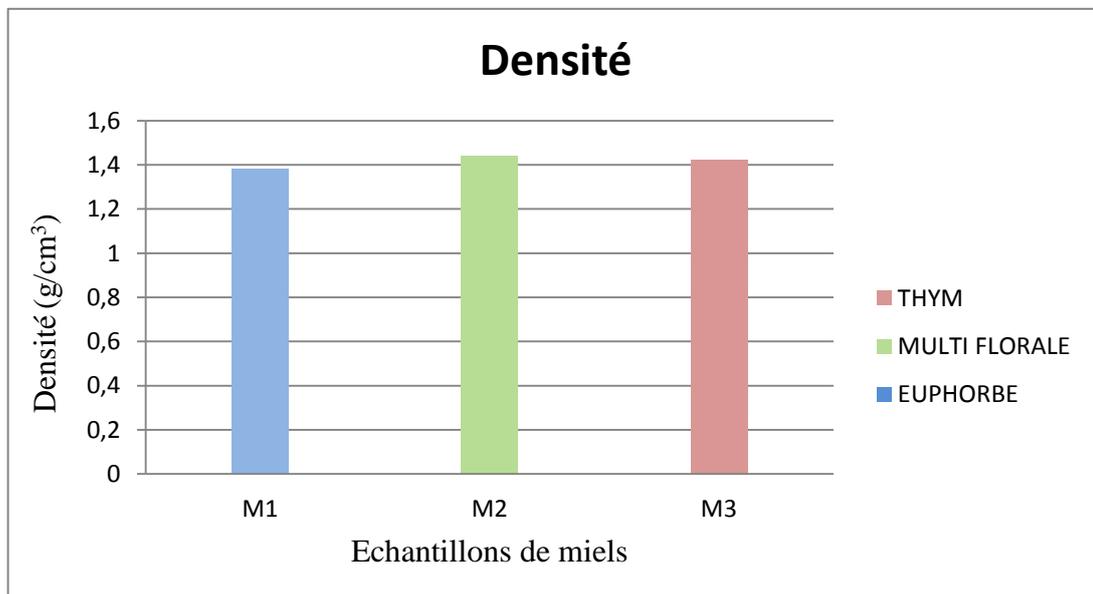
Le pH des trois variétés sont presque identique pour Euphorbe, Multi floral et le Thym 3,57 ; 3,55 ; 3,50 consécutivement.

La Conductivité électrique du miel d'Euphorbe est 0,047 ; le Multi floral est 0,0752 qui représentent la plus grande valeur et par contre la plus faible est montrée par le miel de Thym qui égale 0,0282.

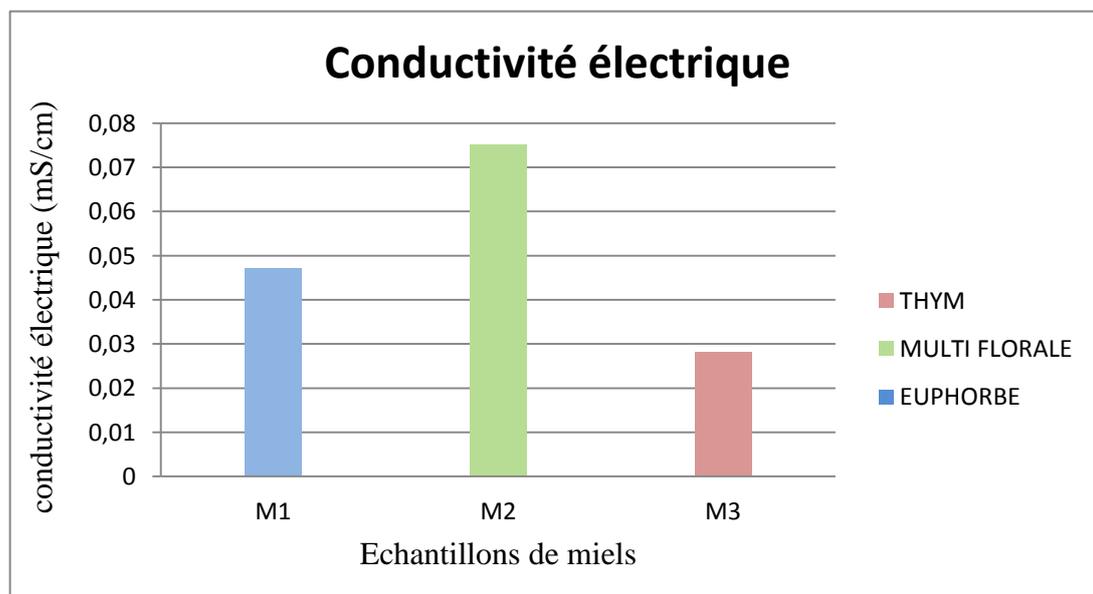
La teneur en eau du miel d'Euphorbe est la plus faible 10,76 ; le Multi floral a la plus grande valeur 13,08 et concernant le miel du Thym a une valeur de 11,05.

L'acidité du miel d'Euphorbe et Multi floral sont identiques avec une valeur de 3 par contre le miel de Thym a une valeur inférieure à celle des deux miels qui égale à 2,5

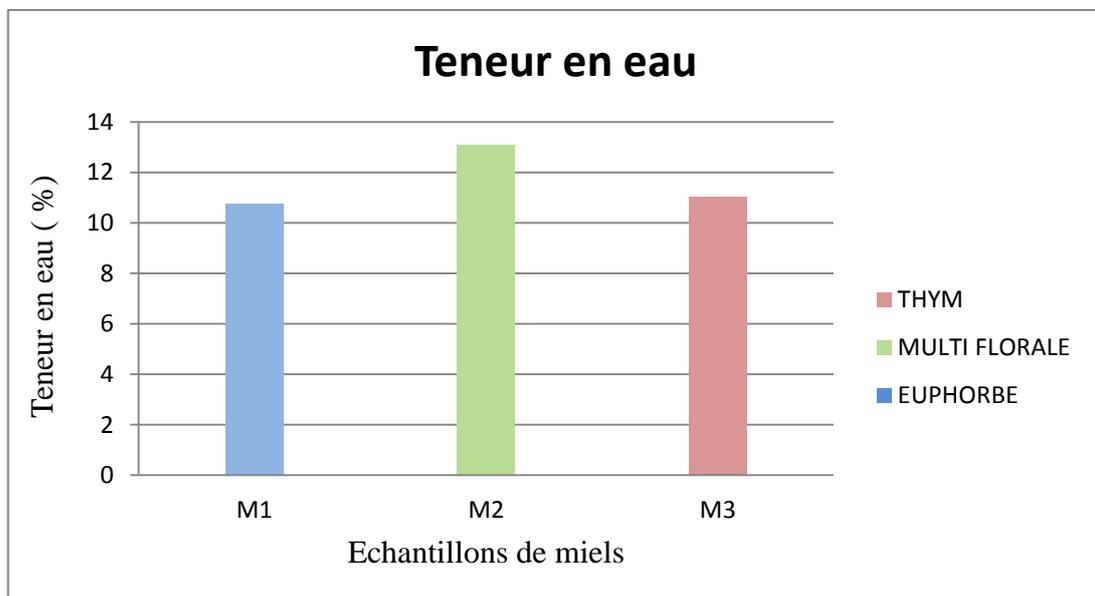
- ❖ Les résultats des paramètres physico-chimiques des trois variétés de miels analysées sont regroupés dans les figures suivantes :



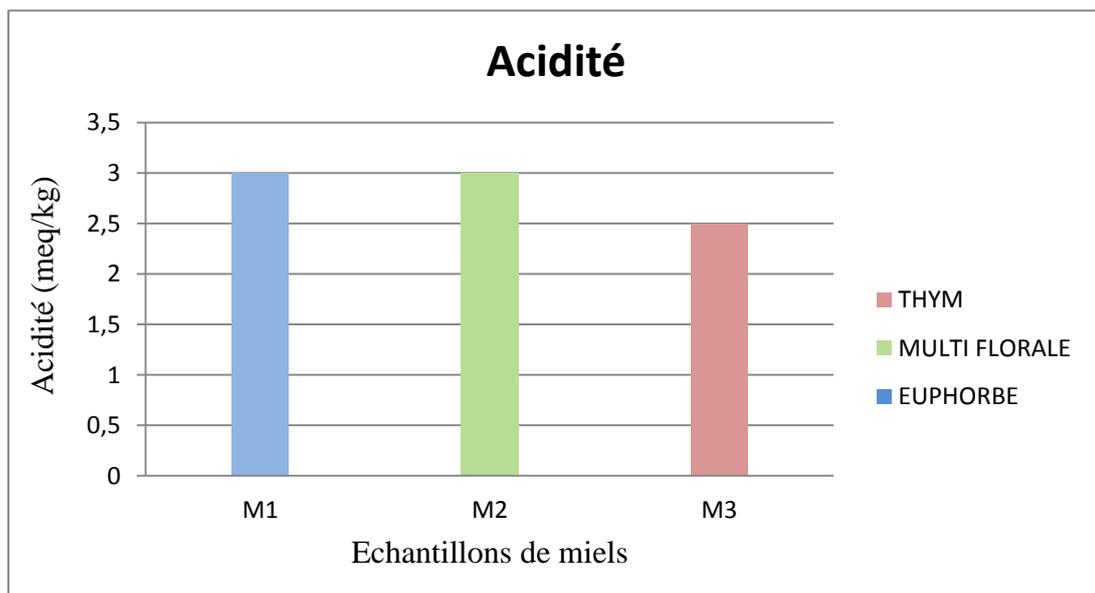
**Figure 15 :** Répartition de la densité des miels Euphorbe, Multi floral et Thym



**Figure 16 :** Distribution de la conductivité électrique des miels Euphorbe, Multi floral et Thym



**Figure 17 :** Répartition de la teneur en eau des miels Euphorbe, Multi floral et Thym



**Figure 18 :** Distribution des valeurs de l'acidité des miels Euphorbe, Multi floral et Thym

## 1.2 Identification de la souche

### a. Identification macroscopique

*Pseudomonas aeruginosa*, se caractérise par l'apparition de colonies très réduites sur milieu de King A, colorés en bleu, dégagent une odeur aromatique.

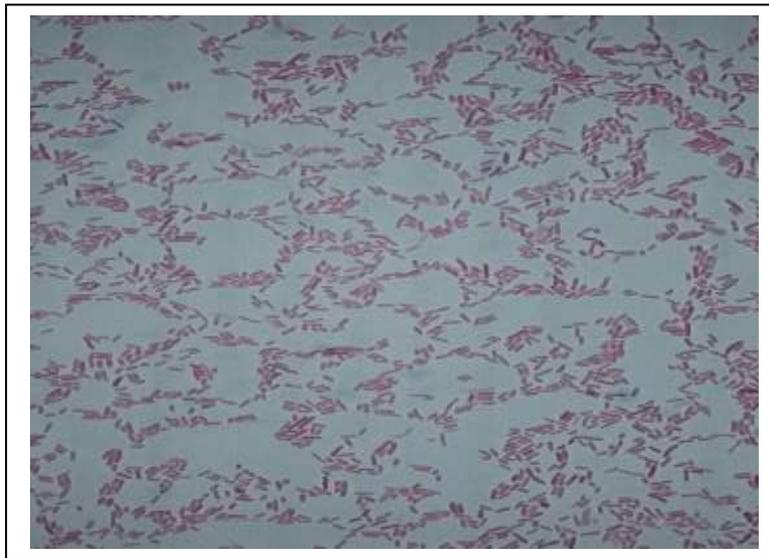
### b. Identification microscopique

#### ➤ Frottis frais :

*Pseudomonas aeruginosa* est mobile ce qui implique une bactérie pourvue de flagelles .

#### ➤ Coloration de Gram :

*Pseudomonas aeruginosa* bacille à Gram négatif, apparait sous microscope, colorés en rose, cette coloration est due à la fuschine, c'est-à-dire que le bacille n'a pas retenu le cristal violet.



**Figure 19 :** Coloration de Gram de *Pseudomonas aeruginosa*(TODAR, 2004)

### 1.3 Détermination deconcentration minimale inhibitrice

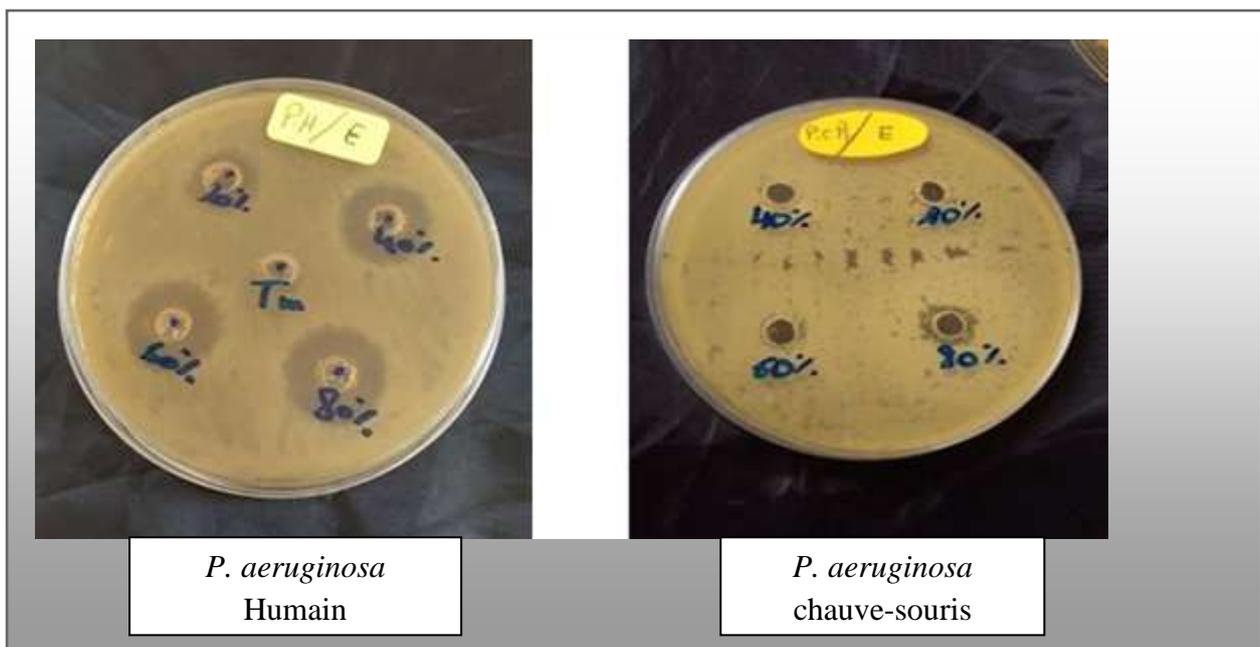
CMI correspond à la concentration en agent antimicrobien pour laquelle on n'observe pas de croissance visible (PERRY *et al.*, 2004) .

#### 1.3.1 Détermination de la CMI du miel seul

**Tableau22** : Concentration minimale inhibitrice du miel Euphorbe vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* isolat Humain et chauve-souris

Euphorbe		
Concentrations (%)	<i>P.a</i> Humain	<i>P.a</i> chauve-souris
20	8mm	N.D
40	9mm	N.D
60	10mm	N.D
80	11mm	N.D

(N.D) : non déterminé



**Figure 20** : Concentration minimale inhibitrice du miel euphorbe vis-à-vis aux deux

Souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolat Humain et chauve-souris

La concentration minimale inhibitrice du miel Euphorbe est variable vis-à-vis des souches de *Pseudomonas aeruginosa* :

- **Pour la souche humaine** : le miel donne une activité dans les quatre concentrations ;

20% = 8mm ; 40% = 9mm ; 60%=10mm ; 80%=11mm.

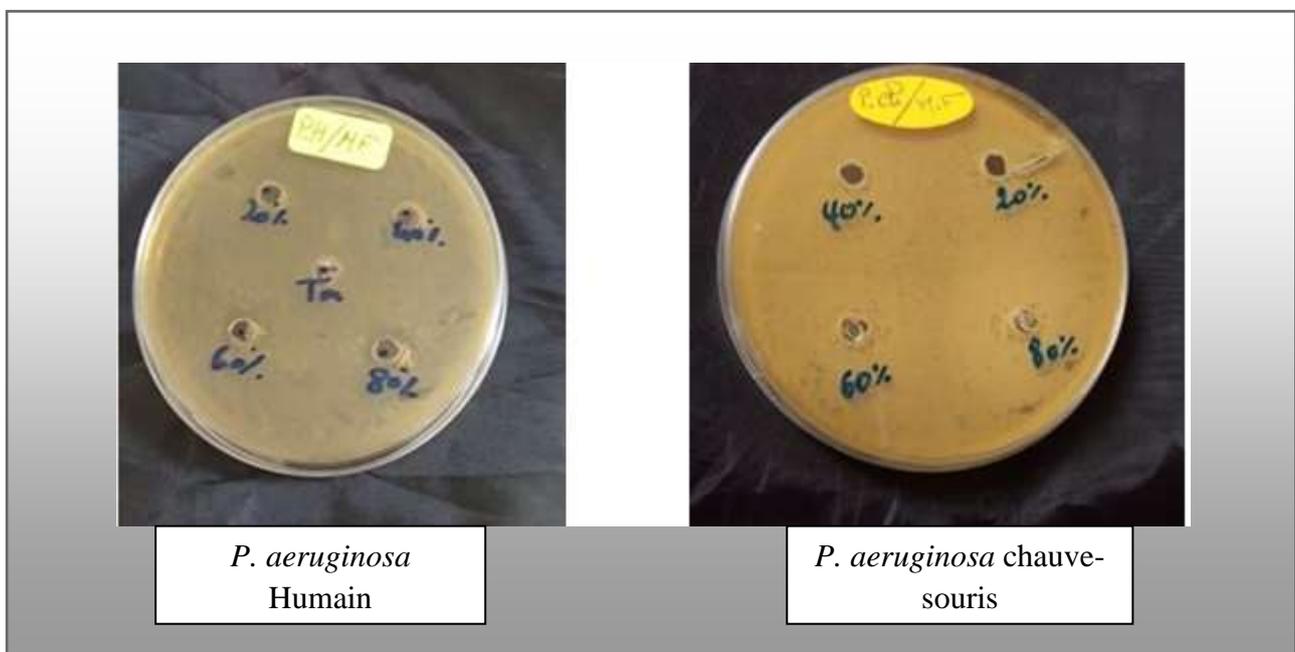
Dans ce cas la CMI est de 40%.

- **Pour la souche chauve-souris** : ce miel est inactif, ne donne aucune zone d'inhibition.

**Tableau23** : Concentration minimale inhibitrice du miel Multi floral en Muller Hinton vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

Multi floral		
Concentrations (%)	<i>P.a</i> Humain	<i>P.a</i> chauve-souris
20	N.D	N.D
40	N.D	N.D
60	N.D	N.D
80	N.D	N.D

(N.D) : non déterminé



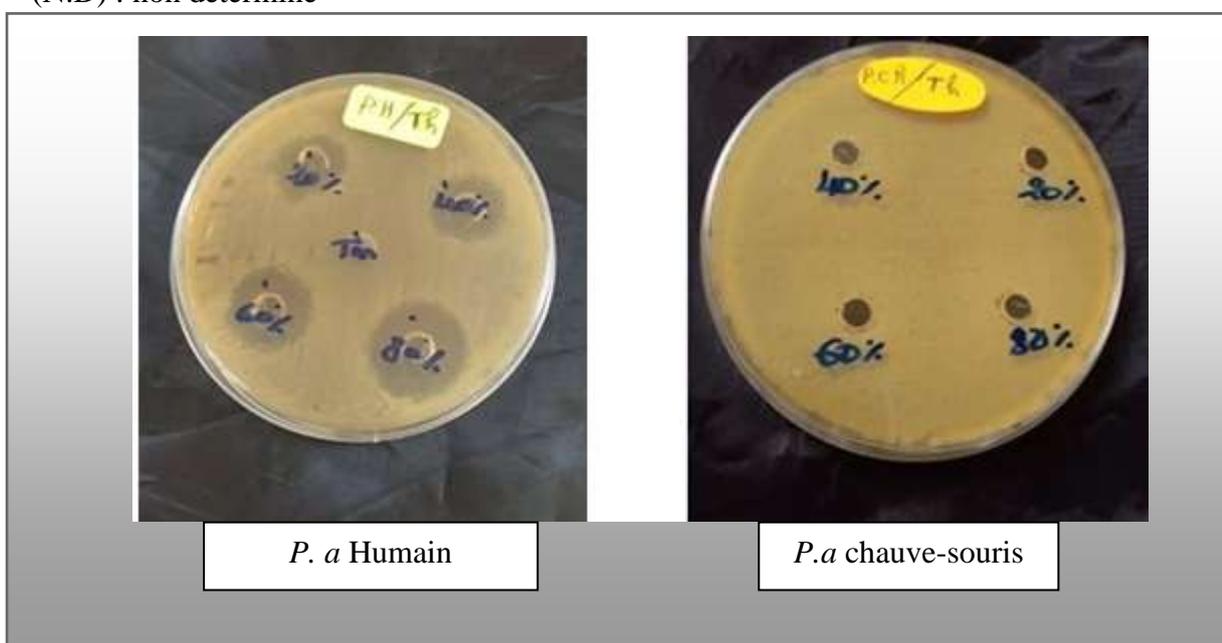
**Figure 21** : Concentration minimale inhibitrice du miel Multi floral vis-à-vis aux deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolat Humain et chauve-souris

- Ce miel est inactif, ne donne aucune zone d'inhibition envers nos souches testées.

**Tableur 24 :** Concentration minimale inhibitrice du miel Thym en Muller Hinton vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

Thym		
Concentrations (%)	<i>P.a Humain</i>	<i>P.a chauve-souris</i>
20	N.D	N.D
40	7mm	N.D
60	14mm	N.D
80	16mm	N.D

(N.D) : non déterminé



**Figure 22 :** Concentration minimale inhibitrice du miel Thym vis-à-vis aux deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* isolat Humain et chauve-souris

- **Pour la souche humaine :** le miel donne une activité dans les trois concentrations ;

40% = 7mm ; 60%=14mm ; 80%=16mm.

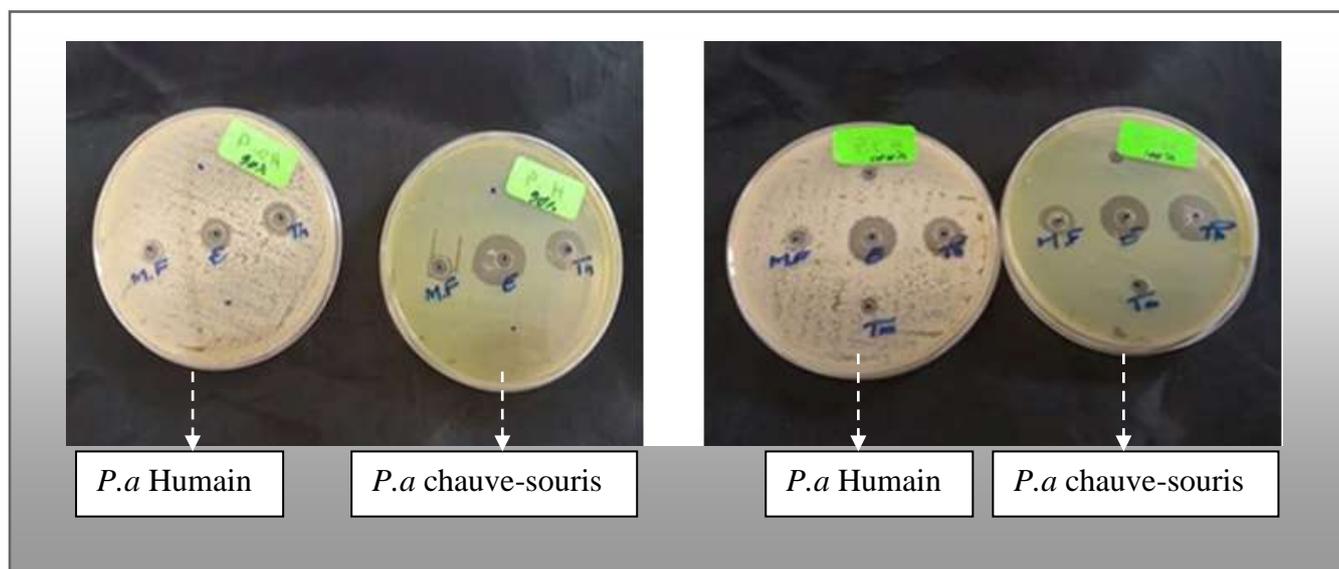
Dans ce cas la CMI est de 60%.

- **Pour la souche chauve-souris :** ce miel est inactif, ne donne aucune zone d'inhibition.

**Tableau 25 :** Concentration minimale inhibitrice de trois variétés de miel vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa*.

Type de miels	<i>P.a Humain</i>		<i>P.a chauve-souris</i>	
	90%	100%	90%	100%
Euphorbe	15mm	17 mm	12mm	16mm
Multi floral	N.D	11 mm	N.D	N.D
Thym	14mm	17mm	13mm	14mm

(N.D) : non déterminé



**Figure 23 :** Concentration minimale inhibitrice de trois variétés de miel pure et dilués à 90% vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* isolat Humain et chauve-souris

### 1.3.2 Détermination de la CMI d'antibiotique

- Evaluation de la croissance de la souche Humaine dans le bouillon nutritif Muller-Hinton par la standardisation avec une lecture :

**T0** : lecture instantanément.

**T1** : lecture après 24h d'incubation.

**Tableau 26 :** Standardisation *Pseudomonas aeruginosa* en bouillon Muller - Hinton.

Standardisation	T0	T1
<i>P.aeruginosa</i> en bouillon MH isolat Humain	0.10	1.38

- Les résultats obtenus dans le tableau 27 permettent de déterminer l'aptitude des différentes concentrations d'antibiotiques pour inhiber la croissance de *Pseudomonas aeruginosa* d'isolat Humain dans bouillon Muller- Hinton.

**Tableau 27** : La densité optique des cinq antibiotiques.

ATB	<i>P. aeruginosa</i> Humain	
	T0	T1
<b>AMOX</b> : 0.16g <u>0.08g</u> 0.04g	0.12 0.13 0.14	0.10 0.12 0.90
<b>AMP</b> : <u>0.02g</u> 0.04g 0.08g 0.16g	0.08 0.08 0.09 0.09	0.18 0.73 0.97 1.17
<b>EXT</b> : <u>0.02g</u> 0.04g 0.08g 0.16g	1.88 1.04 0.25 0.14	2.00 1.65 1.45 1.37
<b>CEF</b> : <u>0.16g</u> 0.08g 0.04g	0.13 0.14 0.14	0.12 0.57 0.82
<b>AUG</b> : 0.16g <u>0.08g</u> 0.04g	2.03 2.00 1.80	2.02 1.96 1.35

Les mesures de la densité optique nous permettent de calculé CMI de chaque antibiotiques :

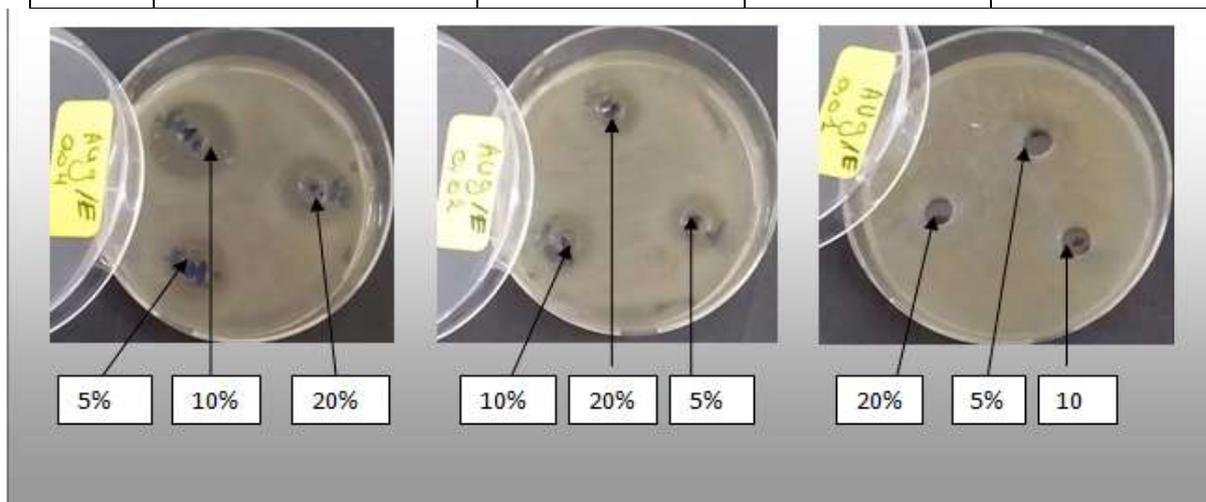
La concentration minimale inhibitrice d'Amoxicilline 1g et Augmantin 1g : (Amoxicilline-Acide clavulanique) est de 0.08 g/l

- La concentration minimale inhibitrice d'Ampicilline1g,Extencine1.2M.UI (BenzathineBenzylpénicilline) est de 0.02 g/l
- La concentration minimale inhibitrice de Cefazoline 1g est de 0.16 g/l

1.3 Détermination de la CMI du miel additionné aux antibiotiques

**Tableau 28 :** L'effet antibactérien des différentes concentrations de miel d'Euphorbe combiné avec des concentrations d'antibiotique.

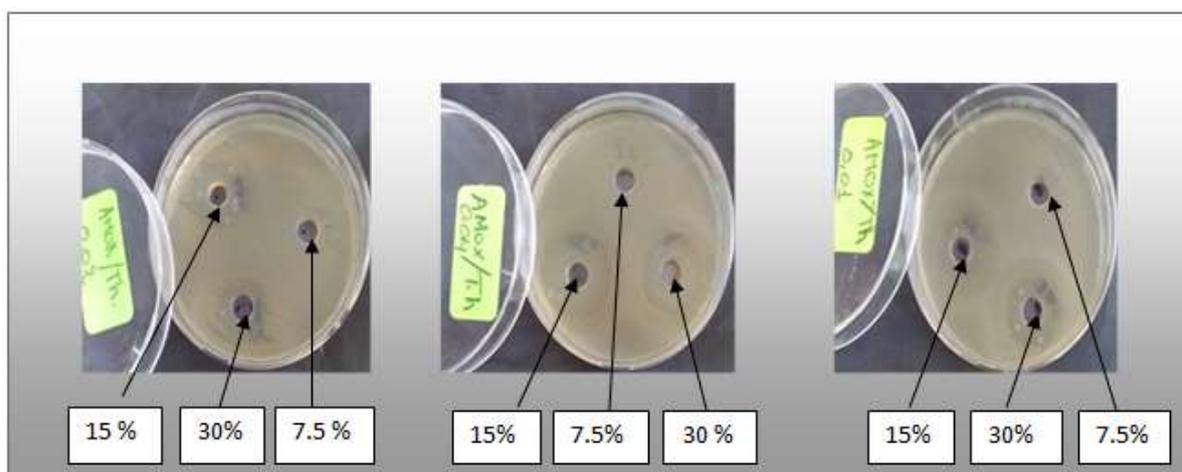
	CMI d'ATB	Euphorbe		
		CMI de miel		
		20%	10%	5%
AUG	0.04	16mm	22mm	11mm
	0.02	12mm	11mm	9 mm
	0.01	N.D	N.D	13 mm
AMP	0.01	N.D	N.D	N.D
	0.005	N.D	N.D	N.D
	0.0025	N.D	N.D	N.D
EXT	0.01	N.D	N.D	N.D
	0.005	N.D	N.D	N.D
	0.0025	N.D	N.D	N.D
CEF	0.08	N.D	N.D	N.D
	0.04	N.D	N.D	N.D
	0.02	N.D	N.D	N.D
AMOX	0.04	N.D	N.D	N.D
	0.02	N.D	N.D	N.D
	0.01	N.D	N.D	N.D



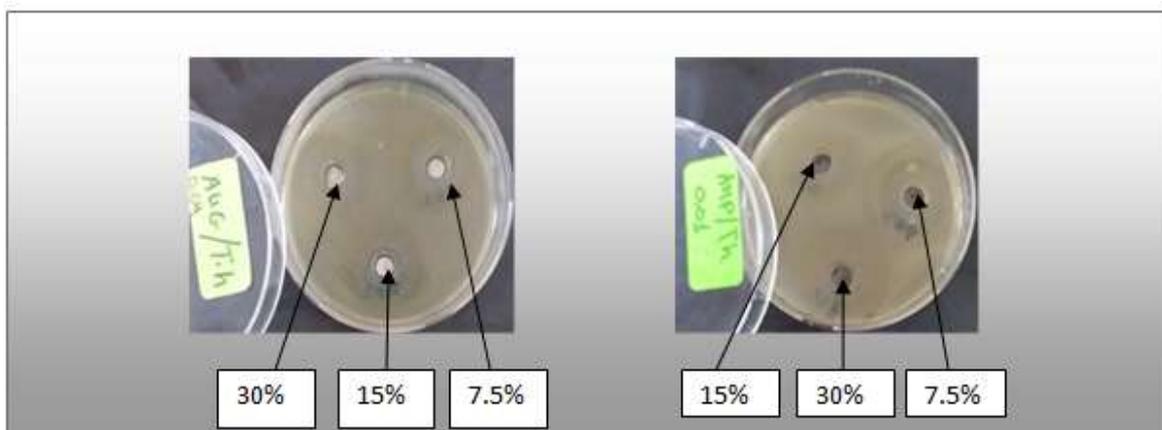
**Figure 24 :** Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations du miel d'euphorbe combinée avec des concentrations d'AUG.

**Tableau 29 :** L'effet antibactérien des différentes concentrations du miel de Thym combiné avec des concentrations d'antibiotique.

	CMI d'ATB	Thym		
		CMI de miel		
		30%	15%	7.5%
<b>AUG</b>	<b>0.04</b>	14mm	14mm	16mm
	<b>0.02</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.01</b>	N.D	N.D	N.D
<b>AMP</b>	<b>0.01</b>	N.D	19mm	N.D
	<b>0.005</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.0025</b>	N.D	N.D	N.D
<b>AMOX</b>	<b>0.04</b>	18mm	21mm	N.D
	<b>0.02</b>	15mm	17mm	N.D
	<b>0.01</b>	16mm	15mm	N.D
<b>CEF</b>	<b>0.08</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.04</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.02</b>	N.D	N.D	N.D
<b>EXT</b>	<b>0.01</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.005</b>	N.D	N.D	N.D
	<b>0.0025</b>	N.D	N.D	N.D



**Figure 25 :** Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations de thym combinée avec des concentrations d'AMOX.



**Figure 26 :** Concentration minimale inhibitrice des différentes concentrations de thym combinée avec des concentrations d'AMP et AUG.

Le FIC index est calculé selon cette formule:

FIC du miel= MIC du miel en combinaison/MIC du miel seul.

FIC d'antibiotique = MIC d'antibiotique en combinaison/ MIC d'antibiotique seul.

FIC index = FIC du miel+ FIC d'antibiotique. Quand la valeur FIC index est inférieure à 0,5 indique une synergie, 0,5–0,75 indique une synergie partielle, 0,76–1 indique un effet additif, et >2 indique un antagonisme. (WHITE *et al.* , 1996;AL-ANI *et al.* , 2015).

FIC index (Augmantin/miel Euphorbe)= 0,25.

FIC index (Augmantin/miel du thym)=0,25.

FIC index (Ampicilline /miel du Thym)=0,525.

FIC index (Amoxicilline/Miel du thym)=0,15.

Nous remarquons que le FIC index des combinaison suivantes (Augmentin/miel Euphorbe) (Augmantin/miel du thym)(amoxicilline/miel du thym) est de 0,25 ; 0,25 ;0,15 respectivement sont inférieure à ,.5 ; On dit que cette combinaison est une synergie.

Alors que, Le FIC index(Ampicilline/miel du thym) est de 0,525 ; On dit que c'est une synergie partielle.

## 2. Discussion

### 2.1 analyse physico-chimique

#### 2.1.1 Détermination de la densité

Les résultats de la densité des échantillons de miel analysés varient entre 1,38 à 1,44 g/cm<sup>3</sup> avec une moyenne de 1,41 g/cm<sup>3</sup> à 20°C.

Nos résultats sont en accord avec les normes de codex alimentarius (annexe 1), qui montrent que la densité varie de 1,39 à 1,44 ; une exception est révélée pour le miel Euphorbe qui représente la faible valeur (1,38 g/cm<sup>3</sup>), ceci peut être expliqué par sa faible teneur en eau.

Egalement nos résultats sont identiques avec 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 g/cm<sup>3</sup> sauf le cas du miel Euphorbe.

Aussi d'après (**OUCHEMOUKH, 2003; JEAN-PROST et LE CONTE, 2005**), la densité du miel est comprise entre 1,14 et 1,435 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 ; PROSTE, 1987**).

Selon **PIERRE et LE CONTE (2005)**, le poids spécifique est en fonction principalement de la teneur en eau. Un miel récolté trop tôt extrait dans un local humide ou abandonné longtemps dans un maturateur contient trop d'eau.

Un miel récolté prématurément, moins mur aura une densité plus faible (**DARRIGOL, 1979**).

**LOUVAUX (1985) et PROST (1987)**, indiquent que la variation de la densité du miel provient 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 (**MAKHLouFI, 2001**).

### 2.1.2 Détermination du pH

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu, il représente la concentration des ions  $H^+$  d'une solution (NAIR, 2014). Un pH extrême révèle une dégradation biochimique du miel, suite à de mauvaises conditions de sa récolte ou de conservation (YAICHE *et al.*, 2014).

Dans nos résultats, le pH des trois variétés de miels a été entre 3,5 et 3,57 avec une moyenne de 3,535 à 20°C. Donc tous les miels analysés se sont avérés acide, en raison de la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne (IBRAHIM *et al.*, 2012).

MBOGNING *et al.* (2011), ont montré que l'acidité du miel est due à un grand nombre d'acides organiques qu'il contient, tels que les acides gluconiques, pyruviques, maliques et citriques, et en éléments minéraux (CAVIA *et al.*, 2007).

Ces valeurs ont été confirmées par (AZEREDO *et al.*, 2003 ; SAXENA *et al.*, 2010) qui ont signalé que tous les miels Algériens étaient de nature acide, avec un pH généralement compris entre 3,5 et 5,5 (BOGDANOV *et al.*, 2004 ; ACHOURI *et al.*, 2015)

Par contre le résultat du pH de miels étudiés est en désaccord avec les résultats de DOUKANI *et al.* (2014), qui expriment que le pH du miel algérien varie entre 3,7 et 4,05 ; ceci peut être expliqué par la zone géographique, le mode de récolte et le stockage.

D'autre part, ces résultats peuvent nous donner une idée sur l'origine florale de ces échantillons, du fait que la norme indique que :

- ❖ Le pH du miel de nectar varie entre 3,5 à 4,5
- ❖ Le pH du miel de miellat varie entre 5 à 5,5 (BOGDANOV *et al.*, 2001)

Le pH du miel suffisamment bas pour inhiber la croissance de nombreuses espèces de bactéries (MALIKA *et al.*, 2005)

De nombreuses études ont mis en évidence la relation entre l'activité de la gluco-oxydase et le pH du miel ; plus la gluco-oxydase est opérationnelle (miel dilué) plus le pH du miel est faible (acide) (HOYET, 2005). L'effet antimicrobien du miel peut être dû à son acidité. Ce milieu acide est défavorable au développement de certaines bactéries pathogènes telles que *Pseudomonas aeruginosa* (KOECHLER, 2015).

### 2.1.3 Détermination de la Teneur en eau

Les valeurs de la Teneur en eau de miels dans notre expérimentation varient entre 10.76 à 13.08 ; qui sont inférieures aux résultats de l'étude menée par (**MANIKIS et THRASIVOULOU, 2001**).

La teneur en eau est un facteur hautement important car il permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur la stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours de stockage; donc elle conditionne la conservation du produit (**DE RODRIGUEZ et al., 2004; KÜÇÜK et al., 2007**).

La variation de l'humidité du miel peut s'expliquer par la composition, l'origine florale, la force des colonies d'abeille, la méthode de récolte, ainsi que les conditions hygrométriques de la ruche (**OUCHEMOUKH, 2012 ; DOUKANI et al., 2014**). Elle dépend aussi de la saison de récolte et les facteurs climatiques (**ZERROUK et al., 2011**).

Selon **CHOUIA (2014)**, explique que le miel est une solution saturée de sucre avec une faible activité de l'eau, ce qui empêche la croissance des bactéries et les levures.

Selon (**GUO et al., 2010 ; AMRI 2010**), Les risques de fermentation d'un miel sont très élevés dans le cas où sa teneur en eau est supérieure à 19%, la fermentation devient rare dans les miels ayant une teneur en eau inférieure à 19% c'est le cas de tous nos échantillons.

### 2.1.4 Détermination de la conductivité électrique

Les valeurs de nos résultats sur la conductivité électrique sont comprises entre 0.0282 et 0.0752 mS / cm avec une moyenne de 0.0517 mS / cm. Qui sont faibles par rapport aux recherches algériennes suivantes :

Dans le travail de **HALIMI (2018)** qui est mené sur 62 miels Algériens réparties sur les cinq Wilayas : Béchar, Biskra, Ghardaïa, Laghouat et Naâma a montré que les valeurs de la conductivité électrique varient de 0.25 et 0.597 mS/cm. Par contre, **REBIAI et al (2015)** ont trouvé sur les cinq miels du sud algérien des valeurs entre 0.281 et 0.972 mS/cm. Cependant **CHEFROUR (2008)** a trouvé une grande variation de la conductivité électrique des miels l'Est examinés de 0.021 à 2.72 mS/cm.

Cette différence a été soulignée aussi par **TERRAB et al (2003)**, qui peut être expliquée par le changement des conditions climatiques et le sol en Afrique du Nord.

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel. Ce paramètre est très utilisé dans la classification des miels mono floraux. En général, les miels de nectar présentent des valeurs inférieures à 0,8 mS/cm. Des valeurs plus élevées sont généralement associées aux miels de miellat ou aux mélanges de nectar et de miellat (MEKIOUS *et al.*, 2015); elle permet de mesurer l'ensemble des substances organiques et inorganiques ionisables [(PIZZA *et al.*, 1991); (SANCHO *et al.*, 1991)].

Cette mesure dépend de la teneur en minéraux du miel; plus elle est élevée, plus la conductivité électrique correspondante est élevée et il existe une relation linéaire entre ces grandeurs de mesures (ACQUARONE *et al.*, 2007).

La teneur en matières minérales (cendres) est en général faible. On y trouve dans l'ordre d'importance, du potassium, du calcium, du sodium, du magnésium, du cuivre, du manganèse, du chlore, du phosphore, du soufre et du silicium, ainsi que plus de trente oligo-éléments (BONTE *et DESMOULIERE*, 2013).

La Conductivité électrique exprime l'aptitude de la solution aqueuse à conduire un courant électrique (AMELLAL, 2008)

Les miels de saisons sèches sont plus concentrés en sel minéraux que ceux de saison de Pluies. En saison sèche la solution du sol semble être plus concentré (MBOGNING *et al.*, 2011).

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

### **2.1.5 Détermination de l'acidité**

Nos échantillons ont une acidité libre qui varie entre 2,5 et 3 meq /kg. Bien qu'il existe des différences d'un échantillon à un autre, les valeurs déterminées ne dépassent pas la limite d'acidité libre de 50 meq /kg.

En analysant les résultats expérimentaux obtenus, on peut remarquer des différences entre les échantillons. Ces différences sont déterminées tant que par la région géographique, que par l'origine florale (TERRAB *et al.*, 2002).

L'acidité est un critère de qualité important durant l'extraction et le stockage, en raison de son influence sur la texture et la stabilité du miel. Cette acidité est due à un grand nombre

d'acides organiques qu'il contient. L'acide principal est l'acide gluconique qui provient du nectar ou de miellat mais leur origine principale provient des sécrétions salivaires de l'abeille pendant l'élaboration du miel (**GOMES et al., 2010; Bogdanov et al., 2004 ; MBOGNING et al., 2011**).

Selon **OUCHEMOUKH (2012)**, elle est due également à quelques ions inorganiques comme les

Phosphates et les sulfates.

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. (**SCHWEITZER, 2004**)

La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel, bien qu'il existe une fluctuation naturelle considérable. L'ancienne norme prescrit une valeur maximale de 40 milliéquivalents/kg. Dans le projet du Codex Alimentaire, elle a été augmentée à 50 milliéquivalents/kg, étant donné qu'il existe quelques sortes de miels qui ont une teneur naturelle en acide plus élevée (**CAVIA et al., 2007**).

Selon **AJLOUNI et SUJIRAPINYOKUL (2010)**, une acidité libre élevée peut être un indice de fermentation par des levures. En effet, au cours de la fermentation, le glucose et le fructose sont convertis en alcool, ce dernier est à son tour hydrolysé en présence d'oxygène et converti en acide acétique, ce qui contribue à l'augmentation de l'acidité libre.

## **2.2 Evaluation de l'activité antibactérienne**

La méthode de puits de diffusion fournit des résultats qualitatifs interprétables, et la quantification de l'inhibition de la croissance microbienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition (**DORMAN et DEANS, 2000 ; JASON et al., 2004**).

Cette technique est intensivement employée pour étudier l'activité antibactérienne des substances naturelles. Elle est basée sur l'utilisation des puits comme réservoirs contenant la solution des substances à examiner (**GULÇIN et al., 2004**).

### **2.2.1 L'effet antibactérien du miel**

L'effet antibactérien du miel varie selon son origine géographique, sa concentration et la nature de la bactérie (**ADELEKE et al., 2006**). (**LAURINO et GELLI (1991)**), qui ont montré que le miel présente une activité antibactérienne variable selon sa concentration. La plus faible concentration de miel qui a produit une zone d'inhibition de la croissance de

l'organisme d'essai est considérée comme concentration minimale inhibitrice (AMINU, 2015).

D'après AL-HABSI ET NIRANJAN (2012), l'effet antibactérien du miel peut être expliqué par le contenu important en enzymes et les propriétés physiques du miel. De même KERKLIET (1996), qui rapporte que l'effet antibactérien du miel peut être interprété par son contenu important en enzyme glucose oxydase qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène.

➤ **L'effet du miel vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa***

L'effet du miel Multi florale dilué, par la technique des puits révèle une absence totale des zones d'inhibition indique que notre souche Humain est fortement résistante à l'action de ce miel. En revanche il présente une zone d'inhibition au cas du miel pur.

Par ailleurs, les miels mono floraux (Euphorbe, Thym) développent une bonne présence ; sauf dans le cas du miel du Thym a une réponse à une concentration de 20%.

La souche de la chauve-souris montre une résistance vis-à-vis les différentes dilutions et variété du miel à l'exception dans le cas du miel d'Euphorbe et Thym, il y a une réponse à une dilution de 90% et au miel utilisé pur.

Concernant les travaux portant sur des échantillons de miels algériens MERAH *et al.*, 2010 trouvent des zones d'inhibition allant de 11 à 30mm il y'a une activité moyenne de (11 à 15mm) et élevée (>15mm) ; AHMED *et al* (2012), à une concentration de 50% ,les zones d'inhibitions sont de 28 à 33mm ce qui traduit une excellente activité et pour le miel pur à 100% l'inhibition est de 16 à 20mm correspondant une activité élevée .

BOURABAH *et al*(2014), a trouvé une bonne réponse vis à vis le miel multi floral. Contrairement de ce qui est porté dans nos résultats.

## 2.2.2 Effet antibactérien d'ATB

*Pseudomonas aeruginosa* s'est révélée insensible à tous les antibiotiques. Cette souche est naturellement résistante à de nombreux antibiotiques, elle est capable de s'adapter à des environnements très divers en raison de sa très grande plasticité génétique (MESAROS *etal.*, 2007).

**AL-NAHARI et al., 2015** a testé la sensibilité et la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* sur milieu solide et liquide et déclare que la souche est résistante aux antibiotiques et que l'effet antibactérien s'il existe est bactériostatique.

La méthode de spectrophotométrie est une technique de diffusion en milieu liquide très sensible, simple, rapide et plus favorable à l'analyse statistique ; elle permet la détermination du pourcentage de CMI (**LAKHDAR, 2015**). Qui peut être amenée par la simple mesure de la densité optique (**PARENTE et al., 1995**). Cette technique présente plusieurs avantages : réduire la manipulation et faciliter l'automatisation (**THOMAS et al., 2005**).

D'après les résultats obtenus sur le bouillon nutritif MH présenté dans le tableau 27 il est apparu que la CMI varie en fonction de la nature et les concentrations d'antibiotiques.

Au bout de 24h on a distingué une augmentation de la D.O dans les différentes concentrations antibiotiques suivantes : AMP, EXT, à l'exception d'AMOX à 0.04g et CEF à 0.08g, 0.04g ; montrent une croissance de la bactérie.

La diminution de la D.O dans le cas d'AUG et également d'AMOX à 0.16g, 0.08g et CEF 0.16g explique une inhibition de la croissance bactérienne.

### **2.2.3 L'effet du test de combinaison miel /antibiotique**

L'effet synergique est une interaction positive créée quand l'association des deux agents, provoquent un effet inhibiteur supérieur à la somme de leurs effets individuels (**AIYEGORO et OKOH, 2009**).

D'après **WAGNER et ULRICH-MERZENICH 2009**, l'effet synergique est produit quand les constituants du mélange agissent sur des cibles différentes, alors que l'effet antagoniste et additif est observé quand les constituants exercent leurs effets sur la même cible. Dans nos résultats l'effet synergétique entre miel /antibiotique est très apparent.

conclusion

### CONCLUSION

La présente étude a été menée dans le cadre de l'évaluation de la qualité de 3 échantillons de miels récoltés en 2018 dans différentes wilayas d'Algérie (Euphorbe d'El-Bayad, Multi florale de Tiaret, Thym de Tissemsilt) en analysant quelques paramètres physico-chimiques, ainsi que leur activité antibactérienne seule et en combinaison avec les antibiotiques vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa*.

Les principaux paramètres physico chimiques étudiés sont : la Teneur en eau, pH, la conductivité électrique, la densité, et l'acidité. Il est ressorti ce qui suit :

La densité des différentes variétés étudiées allaient de 1,38 à 1,44 g / cm<sup>3</sup>, qui détermine un moyen pour connaître la teneur en eau qui varie de 10,76 à 13,08 %, avec un pH compris entre 3,50 à 3,57. Donc le miel est acide du probablement à leur richesse en matière organique.

Elles ont une conductivité électrique de 0,0282 à 0,0752 mS/cm et l'acidité varie entre, .5 à 3meq/kg, qui sont des bons critères pour déterminer l'origine botanique du miel (miel de nectar ou de miellat).

En ce qui concerne l'évaluation de l'activité antibactérienne de trois échantillons de miel contre une souche pathogène clinique *Pseudomonas aeruginosa* ; nous pouvons dire que chaque miel présente une certaine inhibition pour cette souche où on peut constater que :

La souche Humaine est sensible à l'action inhibitrice des deux miels analysés :

Le miel de Thym qui présente une faible efficacité par rapport au miel d'Euphorbe qui a une efficacité remarquable. Par contre dans le cas du miel Multi floral qui n'a pas une efficacité sur cette souche.

La souche de chauve-souris, n'a aucune sensibilité vis-à-vis les trois miels choisis sauf dans le cas de miel d'Euphorbe et Thym soit pur ou peu dilué (90%).

À partir de FIC index, les effets de la combinaison des échantillons de miel avec les antibiotiques (AMOX, AMP, EXT, CEF et AUG) sont variés entre synergique dans les cas :

**AUG / miel Euphorbe, AMP / miel du Thym et AMOX / miel du Thym est de 0.25, 0.25 ; 0.15 respectivement.**

**Tandis que, Le FIC index (AMP / miel du Thym) est de 0.525 ; qui représente une synergie partielle.**

# Référence bibliographique

A

- 1) **ACHOURI, I . , ABOUSSALEH, Y . , SBAIBI, R . , CHEMISSI, H . , BENGUEDDOUR, R. (2015)** Comparaison de la qualité physicochimique du miel de Ziziphussp (Sider) et d'Acacia sp (Samar) consommés aux Émirats Arabes Unis (UAE).*International Journal of Innovation and Applied Studies*.10: 185
- 2) **ACQUARONE, C . , BUERA, P . , ELIZALDE, B.(2006).** Pattern of pH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chemistry*.101 (2):697.
- 3) **ADELEKE.O-E . , OLAITAN.J-O . , OKPEKPE.E-L . (2006).**Comparative Antibacterial Activity of Honey and Gentamicin against *Escherichia Coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Ann Burns Fire Disasters*.19 (4):203.
- 4) **AHMED, M . , NOUREDDINE, D . , ABDELMELEK, M; & SAAD, A.2012.**Antibacterial activity of varios honey types of Algeria against Pathogenic Gram-Negative Bacilli: *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*.*Asian Pacific Journal of Tropical Disease*.2: 211-214.
- 5) **AIYEGORO, O . , OKOH, A .(2009).** Use of bioactive plant products in combination with standard antibiotics: Implications in antimicrobial chemotherapy. *Journal of Medicinal Plants Research*. 3: 1147.
- 6) **AJLOUNI, S . , SUJIRAPINYOKUL, P.(2010).**Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry* .119:1000-1005
- 7) **AL-ANI,L . ZIMMERMANN,S;REICHLING,J. , WINK,M.(2015).**  
Pharmacological synergism of bee venom and melittin with antibiotics and plant secondary metabolites against multi-drug resistant microbial pathogens.*Phytomedicine*.22:245-255.
- 8) **EL-BANNA.A-A . , ABOUBAKR.A-H . , YOUSSEF.M-M . , AL-SOHAIMY.S-A-A;GOYAL.M-S.(2014).** Antiviral effects of Lactococcus lactis on feline calicivirus, a human norovirus surrogate. *Food and environmental virology*.6:283.
- 9) **AL-HABSI .N-A . , NIRANJAN, K.(2012).** Effect of high hydrostatic pressure on. Antimicrobial activity and quality of Manuka honey. *Food chemistry* .135(3) :1448.
- 10) **AL-MAMARY, M . ,AL-MEERI, A . , AL-HABORI, M.(2002).**Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey.22:1042.
- 11) **AL-NAHARIA.A-A . , ALMASAUDI. S-B . ,EL SAYED.M-A . , BARBOUR, E . , AL JAOUNI.S-K . , HARAKEH, S.(2015).**Antimicrobial activities of Saudi honey against *Pseudomonas aeruginosa*. *Saudi journal of biological sciences*.22:521-525.
- 12) **AMELLAL, H.(2008) .** Aptitude technologique de quelques variétés communes de dates: formulation d'un yaourt naturellement sucrés et aromatisé. Thèse de doctorat.univ .M'hamed bougara.Boumerdes.164 pp.

- 13) **AMINU .I-A. (2015).** The antimicrobial activity of honey on bacterial isolates from burns wound of patients attending general hospital, Ankpq, Kogi, Nigeria. *Advances in life Science and Technology*. 38:6.
- 14) **AMRI, A.(2010).** Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique. Thèse de doctorat. Univ. Baji Mokhtar. Annaba. 170pp.
- 15) **Andremont , A. , Ruimy ,R . (2004).** Quorum-sensing chez *Pseudomonas aeruginosa*: mécanisme moléculaire, impact clinique, et inhibition. *Réanimation*. 13 : 177
- 16) **AVRIL. J-L . , DABERNAT, H . , DENIS, F . , MONTEIL, H.(1992),** Bactériologie clinique. ed. *Copyright* : Paris. P511.
- 17) **AOAC. (2000).** Official Methods of Analysis, 17ème ed. Arlington, VA. Association of Official Analytical chemists. London: 960
- 18) **AZEREDO.L-D-C. , AZEREDO.M-A-A . , SOUZA.S-R . , DUTRA.V-M-L.(2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins. *Food chemistry*. 80: 249–254.
- B**
- 19) **BALAS, F. (2015).** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature .Thèse de doctorat. Univ. Nice sophia-antipolis. Nice. 85pp.
- 20) **BARAKAT, R.(2012).** Etude des propriétés biologiques et antimicrobiennes de la pyocyanine, pigment redox-actif produit par *Pseudomonas aeruginosa*. these de doctorat .Univ. La Rochelle. France .212pp
- 21) **BATTRAUD, P. (2017).** La résistance aux antibiotiques, un mythe ou une réalité ? .Thèse de doctorat. Univ. Lille 2. France.128 pp.
- 22) **BASUALDO, C . , SGROY, V. , FINOLA.S-M . , MARIOLI.J-M .(2007).** Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology*. 124: 375-381.
- 23) **BENABID D.( 2009).** Rôle de l'élastase du neutrophile dans les infections pulmonaires à *Pseudomonas aeruginosa*, de doctorat en Immunologie. Thèse de doctorat. Univ. De Reim Champagne-Ardenne. France. P161.
- 24) **BEN HAJ KHALIFA, A . , MOISSENET, D . , THIEN. H-V . , KHEDHER, M.(2011).** Les facteurs de virulence de *Pseudomonas aeruginosa* : mécanismes et modes de régulations. *Ann Biol Clin*. 69: 395.

- 25) **BESSE, F . , DE MONPEZAT, A . , DUPUIS, C. (2004).** Evaluation et gestion des risques liés à *Pseudomonas aeruginosa* dans les établissements de thermalisme. *ENSP* : 7.
- 26) **BIRI, M. (1986),** l'élevage moderne des abeilles- Manuel pratique. ed .*Vecchi S.A* : paris .P281.
- 27) **BILL, I. (2003),** la biologie de A à Z. ed .*Dunod* : Paris. P 344.
- 28) **BLANC, M.(2010).**Propriétés et usage médical des produits de la ruche.Thèse de doctorat.Univ. Limoges. France. 142pp
- 29) **BOGDANOV, S . ,JURENDIC, T. , SIEBER, R . , GALLMANN, P.(2008).**Honey for nutrition and health. *Journal of the American college of nutrition*.27:677-689
- 30) **BOGDANOV, S .(1999).**stockage, cristallisation et liquéfaction du miel. *Centre de suisse de recherches Apicoles* : 1-2.
- 31) **BOGDANOV, S. , RUOFF, K. ,ODDO.P-L.(2004).** Physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys .*Apidologie* 35:5-17
- 32) **BOGDANOV, S. , LULLMANN, C; MARTIN, P.(2001).**Qualité du miel et norme International relative au miel. Rapport de la Commission International Du Miel. *Abeille Cie*.71 : 1-12.
- 33) **BOGDANOV S., BLUMER P. (2001).** Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Centre suisse de recherches apicoles*.98(3):107-114
- 34) **BOGDANOV,S. , BIERI,K. , FIGAR,M. , FIGUEIREDO,V. , IFF,D. ,KANZIG,A. , STOCKLI,H. , ZURCHER,K.(1995),**Miel. Définition et Directives pour l'Analyse et l'Appréciation. In Livre Suisse des Denrées Alimentaires.ed. OCFIM : paris. p426.
- 35) **BOGDANOV, S.(2002).**Harmonised methods of the international honey commission. International Honey Commission: 24.
- 36) **BONTE, F . , DESMOULIÈRE, A.(2013).** Le miel:origine et composition.*Actualités pharmaceutiques*.52(531) :21.
- 37) **BOUGUessa. N-R. , SEGHIER, M . , BELOUNI, R . , BENSLIMANI, A. (2009),** manuel de microbiologie. ed. *OPU*: Alger. p 277.

- 38) **BOURABAH, A. , AYAD, A. , HAMMOUDIS-M. , BOUKRAA, L. , BENBAREK, H.(2014).**Antimicrobial activity of Algerian honey on subclinical mastitis pathogens isolated from goat's milk. *Veterinary World, EISSN.7*: 248-252.

**C**

- 39) **CAMILLE, D.(2007),** Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire .ed.*Lavoisier* : Paris.P476.
- 40) **CAVIA, M. M., FERNANDEZ-MUIÑO, M. A., ALONSO-TORRE, S. R., HUIDOBRO, J. F., SANCHO, M. T. 2007.** Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food chemistry*, 100(4), 1728-1733.
- 41) **CELEMENT, H.(2014),** l'apiculture pour les nuls.ed.*First* : France. P376.
- 42) **CHAKER, H.(2012).** Régulation de l'adaptation de la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* à son hôte: implication des métabolites du tryptophane .Thèse de doctorat .Univ . Grenoble .France.21pp
- 43) **CHAUVIN, R.(1968).**les produits de la ruche.ed. *Masson et Cie* : France. P400.
- 44) **CHANAUD, P. (2011),** les miels Variétés, bienfaits, recettes .ed . *Edisud* : France. P 191.
- 45) **CHAOUIA, A.(2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout.Th. magistère.Univ. Mohamed Khider. Biskra.59 pp.
- 46) **CHEFROUR, A.(2009).** Miels algériens : caractérisation physico-chimique et melissopalynologique (cas des miels de l'Est de l'Algérie).Thèse de doctorat. Univ. Badjimokhtar. Annaba. 114pp
- 47) **CHRISTIAN. B-B. (2016).** Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable.*ANSM*: 1.
- 48) **CODEX ALIMENTARIUS, (2001)-** Programme Mixte Fao/Oms Sur Les Normes Alimentaires. Commission du Codex Alimentarius. *Alinorm*. 31 p.
- 49) **CUVILLIER, A. (2015).** Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse de doctorat. Univ. Lille 2. France .90 pp.
- 50) **CUSHNIE.T-T . , LAMB.A-J.(2005).**Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobien Agents* .26(5): 343

**D**

- 51) **DARRIGOL. J-L. (1996),** Le miel pour votre santé. Ed. *Dangles* : France. p 140.

- 52) **DAS,S . ,RICHARDS,S . ,AZIZ,N . ,BALE,S . ,BICK,D . ,GASTIER-FOSTER,J . ,GRODY,W.,HEGDE,M .,LYON,E .,SPECTRO,E .,VOELKERDING,K .,REHM .H-L.(2015)**. Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants: a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*,17, 405.
- 53) **DE RODRIQUEZ.G-O .,DE FERRER.B-S .,FERRER, A .,RODRIGUZA, B.(2004)**.Characterization of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*.84: 501-502.
- 54) **DOUKANI, K . , GACEM, N . , BENLARBI, H.(2014)**.Physicochemical and phytochemical characterization of some Algerian honeys types.*International Journal of Applied, Physical*.4 (6):4.
- 55) **DOUKANI, K . , TABAK, S . , DERRICHE, A . , HACINI, Z.(2014)**. Etude physicochimique et photochimique de quelques types de miels Algériens. *Ecologie-Environnement*.10:39.
- 56) **DORMAN.H-J . , DEANS.S-G. (2000)**.Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils.*Journal of Applied Microbiology*.88: 308.
- 57) **DURAND. A-L.(2014)**.Analyse des consommations antibiotiques et des résistances bactériennes dans huit établissements de santé de Haute-Normandie. Thèse de doctorat. Univ. Rouen. France. 202 pp.

#### E

- 58) **ELMESKINI. M-K.(2011)**. Etude épidémiologique des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de doctorat en pharmacie .Univ.Mohammedv. Rabat .37pp.
- 59) **EL-SHAER, E . , GHANEM, S.(1996)**.Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and fixed oils.*Pharmazie*.51 (12): 994.
- 60) **EON, N. (2011)**. De la fleur à l'abeille, de l'abeille au miel, du miel a l'homme: miel et autres produits de la ruche. Thèse de doctorat. Univ. Nantes faculté de pharmacie. Nantes. 206 pp.
- 61) **EUZEBY. J-P.(2001)**. Evaluation in vitro de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol*.1-6.

#### F

- 62) **FLANDROIS. J-P.(1997)**, bactériologie médicale .ed.*Printed* :France309.

#### G

- 63) **GAYNESS, R . , EDWARDS.J-R.( 2005)**. Overview of nosocomial infections caused by gram-negative bacilli. *Clin Infect Dis*.41: 848-854

- 64) GHELDOLF, N. ,ENGESTH.N-J.(2002).[Antioxidant Capacity of Honeys from Various Floral Sources Based on the Determination of Oxygen Radical Absorbance Capacity and Inhibition of in Vitro Lipoprotein Oxidation in Human Serum Samples](#). *Journal of agriculture and food chemistry*.50:3050.
- 65) GOMES, P. , DIAS.L-G. , MOREIRA.L-L. , RODRIGUES, P. , ESTEVINHO, L.(2010).Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal.*Food and chemical toxicology*.48:544-548.
- 66) GONNET, M.(1982). Le miel, composition, propriétés et conservation. *OPIDA*.2 :31.
- 67) GONNET, K .(2014), **Le miel**. Composition, propriété, conservation. ed. *echauffour, OPIDA* : France. p 132.
- 68) Gout, J.(2008), 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles. ed.*Gerfaut* : Paris.P216.
- 69) GUIRAUD .J-P .(1998), Microbiologie alimentaire. ed .*Dunod* : Paris. p652.
- 70) GULCIN, I. , OKTAY, M. , KIRECCI, E. , KUFREVIÖG.L-O. (2004). Screening of antioxidant and antimicrobial activities of anise (*pimpinellaanisum* L) seed extracts. *Food chemistry*.83:371
- 71) GUO, W. , XINHUA, Z . , LIU, Y . , ZHUANG, H.(2010).Sugar and water contents of honey with dielectric property sensing. *Journal of Food Engineering*. 97:277.

## H

- 72) HALIMI, H.(2018). Etudes melissopalynologique, physico-chimique et antibactérienne de quelques échantillons DE miels du sud algérien. Thèse de doctorat .Univ. Kasdimerbah. Ouargla.111 pp.
- 73) Halawani , A .(2009) . Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of *Nigella sativa* L. and Their Interaction with Some Antibiotics . *Advances in Biological Research* . 3 :151
- 74) HNICH, H.(2017).La résistance bactérienne : mécanismes et méthodes de détection au laboratoire .Thèse de doctorat. Univ. Sidi Mohamed Ben Abdellah. Royaume du Maroc.148pp.
- 75) HOYET, C.(2005). le miel : de la source à la thérapeutique. Thèse de doctorat. Univ. HENRI POINCARÉ. Nancy.106 pp.
- 76) HUCHE, E . , COUSTEL, J . , GUINOT, L.(1996).*Les constituants chimiques du Miel*.Apiservices:16.

## I

- 77) IBRAHIM.M-K. , MONIRUZZAMAN,M. , BOUKRAÂ,L. , BENHANIFIA,M. , ASIFUL.I-M . ,NAZMUL.I-M. , AMRAH.S-S. , HUA GAN,S

.(2012).Physicochemical and antioxidant properties of Algerian honey. *Molecules*. 17: 11200.

**J**

**78) 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

**K**

**79) KASKONIENE, V. , VENSKUTONIS.P-R. ,CEKSTERYTE, V.(2010).** Carbohydrate composition and electrical conductivity of different origin honeys from Lithuania. *LWT - Food Science and Technology* .43 : 806-807.

**80) KAYSER. F-H. ,BÖTTGER. E-C., ZINKERNAGEL. R-M . ,HALLER, O. , ECKERT, J . ,DEPLAZES, P.( 2008),** Manuel de poche de microbiologie médicale .ed . Flammarion: Paris. P764.

**81) KAST, C. (2014).** Comment maîtriser la teneur en eau du miel?.*Suisse d'apiculture*. 8 : 24.

**82) KOECHLER, S.** Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ?.Thèse de doctorat.univ. Lorraine.France.114pp.

**83) KORPELA,K . , SALONEN ,A . ,VIRTA .L-J . , KEKKONEN . R-A .,FORSLUND, K ; BORK, P ; DE VOS .WM . (2016).** Intestinal microbiome is related to lifetime antibiotic use in finnish pre-school children. *Nat commun* . 26: 10410

**84) KONE. S-G. ,TOURE, S. , BANA, A. , KONE, SA., DOGBA, E. (2016).** Traitement des plaies par le miel à Abidjan.*Mali medical*.3 :26.

**85) KÜÇÜK,M . ,KOLAYLI,S. , KARAOĞLU,S. , ULUSOY,E. , BALTAC,C. , CANDAN,F.(2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types of Anatolia. *Food Chemistry*.100(2) : 527-532.

**L**

**86) LAKHDAR, L. (2015).**Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : in vitro. Thèse de doctorat .Univ .Mohamed V de Rabat. Maroc. 164 pp.

**87) LAGHA, N.(2015).** etudes de la resistance aux antibiotiques des entérobacteries productrices de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Thèse de doctorat. Univ. AbouBekrBelkaïd. Tlemcen. 84 pp.

- 88) LAURENT, C.(2014). L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de doctorat. Univ. Poitiers. France.83 pp.
- 89) LAURINO .M-C. ,GELLI, D. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées *Apis mellifera* et de Méliponinées du Brésil. *Elsevier / INRA / DIB / AGIB*. 22: 70.
- 90) LEQUET, L.(2010).du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse de doctorat. Univ. Claude-Bernard. Lyon .195 pp.
- 91) LEO.P-V. ,EMMERTZ, A. ,SAVAGE.G-P.(2011).Mineral analysis of mono-floral New Zealand honey. *Food chemistry*.128:236-240.
- 92) LIA, M.(2013).Réévaluation des connaissances et représentation des parents d'enfants atteints de viroses saisonnières vis –à-vis de la prescription d'antibiotiques. Thèse de doctorat. Univ. Paris Diderot. Paris 7 .132 pp
- 93) LOBREAU-CALLEN, D . ,CLEMENT.M-C . ,MARMION, V.(2000).le miel. *Technique de l'ingénieur*.1 :1-20
- 94) LOUVEAUX, J. (1985), les abeilles et leurs élevages. ed. *Hachette* : paris .p 265.
- 95) LYNNE.M-B. , BUNTTING, C. ,MOLAN, P.(2003).The Effect of Dilution on the Rate of Hydrogen Peroxide Production in Honey and Its Implications for Wound Healing. *The journal of alternative and complementary medicine*.9:267-273.

## M

- 96) MAHANEEM, M. ,SIRAJUDEEN.K-N-S. ,SWAMY, M. ,NIK.S-Y.,SITIAMRAH, S.(2010). Studies on the Antioxidant Properties of Tualang Honey of Malaysia. *Afr J Tradit Complement Altern Med*.7 (1): 59.
- 97) MAKHLOUFI, C. (2001). étude physico- chimique et palynologique de quelque miel du nord algérien .impact du rôle de l'abeille sur l'équilibre écologique .Mémoire mag .Univ . IBN Khaldoun. Tiaret.100pp.
- 98) MALIKA, N., EL ABLOUNI, C., FAID, M.(2005). Microbiological and physico-chemical properties of Moroccan honey. *International journal of agriculture à biology*.7:774.
- 99) MANZOOR,M .,SHAH.G-H-N .,MATHIVANAM,V .,MIR.G-M. ,SELVISABHANAYAKAYAM,M.(2013).chemical analysis of honey of *Apis cerana F.* and *Apis mellifera* from plains of jammu and kashmir and tamilnadu .*Internationale de la science et de la recherche agricoles*.3 :141.
- 100) MANGIN, L.(2016).Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public .Thèse de doctorat. Univ. Lorraine.France.101 pp.
- 101) MANIKIS, I., THRASIVOULOU, A.(2001).The relation of physicochemical characteristics of honey and the crystallization sensitive parameters. *Apiacta*.36:106–112.

- 102) **MARCHENAY, P. (1984)**, l'Homme et l'abeille. ed. *Territoire (berger, levaulte)* : Paris .P236
- 103) **MARTIN, I. (2012)**, introduction à la microbiologie.ed. *Pearson* : Canada .p 624.
- 104) **MAVRODI. O-V. ,MCSPADDEN GARDENER .B-B. , MAVRODI. D-V. ,BONSALL. R-F; WELLER.D-M; THOMASHOW.L-S. (2011)**. Genetic Diversity of phlD from 2, 4-Diacetylphloroglucinol-Producing Fluorescent *Pseudomonas* spp.*Biological Control* .91: 40
- 105) **MBOGNING, E. , TCHOUMBOUE, J. , DAMESSE, F. ,SOBZE.M-S. ,CANINI, A.(2011)**.Caractéristiques physicochimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun.*Tropicultura*.29:171-172.
- 106) **MEDA, A. , LAMIEN.C-E., ROMITO, M. ,MILLOGO, J. , NACOULEMA.O-G.(2005)**. Determination of the total phenolic, flavonoid and proline contents in Burkina Fasan honey, as well as their radical scavenging activity. *Food Chemistry*.91:574.
- 107) **MEKIOUS, S. ,HOUMANI, Z. ,BRUNEAU, E. , MASSEAU, C. ,GUILLET, A ; HANCE, T.(2015)**. Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement*.19(3):221-231.
- 108) **Mandal, S. ,Deb Mandal, M. , Pal. N-K. (2010)**. Synergistic anti-Staphylococcus aureus activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* and *Nymphae odor ata* extr acts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*. 3 : 711.
- 109) **MERAH, M. , BENSACI BACHAGHA, M. , BOUDERHEM, A.(2010)**.Étude de l'effet antimicrobien de trois échenillons du miel naturel récoltes du territoire algérien.Revues. *Anales des sciences et technologie*.2 : 115-124.
- 110) **MOLAN, P. (1992)**. The antibacterial activity of honey: 2. Variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee world*. 2: 59.
- 111) **MOROH. J-C.(2013)**.Résistance bactérienne et phytomolécules antimicrobiennes issues de *Morindamorindoi* des. Thèse de doctorat. Univ. Bretagne occidentale. France. 204 pp.
- 112) **MULLER, A.(2017)**. Bon usage des antibiotiques : résultats d'actions dans différents types d'établissements de santé. Thèse de doctorat. Univ. Bourgogne Franche-Comte. France. 193 pp.
- 113) **MURAT ,K. ,KOLAYLI ,S. , KARAOGLU ,S. , ULUSOY, E. , BALTACI ,C; CANDAN ,F.(2007)**. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*.100: 526-534
- 114) **MUYLAERT, A. ,MAINIL. J-G.( 2012)**.Résistances bactériennes aux antibiotiques: les mécanismes ET leur « contagiosité ». *Ann. Méd. Vét.* 156 : 110-111.

N

113) **NDELI, L.(2009).**Etude des prescriptions d'antibiotiques gérées en milieu officinal. Thèse de doctorat.Univ.Bamako.Mali.96pp.

114) **NAIR, S.( 2013).**Identification des plantes mellifères et analyses physico chimiques des miels Algériens. Thèse de doctorat. Univ. Ahmed Ben Bella. Oran. 192 pp.

O

115) **OUCHEMOUKH, S.(2012).** caractérisations physico-chimiques profils polliniques glucidiques et phénoliques et activité antioxydants de miel algériens. Thèse de doctorat.univ. Abderrahmane mira. Bejaia.164pp.

116) **OUCHEMOUKH, S.** Caractérisation physico-chimique d'échantillons de miel d'origine locale. Th. Magistrat.Univ. Abderhmane Mira. Béjaia.52pp.

117) **OUJDET, K.(2012).**Le miel une denrée à promouvoir.*CACQE*.00:2

118) **ORYAN,A.,ALEMZADEH,E.,MOSHIRI,A.(2016).**Biological properties and therapeutic activities of honey in wound healing: à narrative review and meta-analysis *Tissue Viability*.25:98.

119) **OSHO, A. ,BELLO.O-O .(2010).**Antimicrobial effect of honey produced by on some common human pathogens. *Society of applied sciences*. 1 (4): 878.

P

120) **PATERSON.P-D.(2008)**, l'apiculture.ed.*Quae* : France. P 158.

121) **PARENTE, E .,BRIENZA, C ., MOLES, M ., RICCIARDI, A.(1995).**A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity. *Journal of Microbiological Methods*.22: 98-95

122) **PEREZ, C. ,PAUL, M. ,BAZERQUE, P.( 1990).**An Antibiotic assay by the agar well diffusion method. *Acta. Bio. Med. Exp*.15:113-115.

123) **PERRY.J-J . ,STALEY.J-T . ,LORY,S.(2004)**,Microbiologie :cours et questions de révision. ed.Dunod :France.p912 .

124) **PIAZZA.M-G. ,ACCORTI.M-L. ,PERSANO, O.(1991).** Electrical conductivity, ash, colour and specific rotatory power in Italian unifloral honeys. *Apicoltura*.5:51-63.

125) **PIERRE. J-P . ,LE CONTE, Y.(2005)**,Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher.ed. *Lavoisier* : Paris. P 698.

126) **PILLY, E.(2018).**Prescription et surveillance des anti-infectieux chez l'adulte et l'enfant. *Alinéa Plus* . 173 :275.

127) **PONCE.A-G. , FRITZ, R;. ,DEL.V-C. , ROURA.S-I.(2003).**Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LebensmittelWissenschaft und Technologie*.36 (7): 681.

128) **PROST.P-J.1987,** l'apiculture. Connaitre l'abeille. Conduire le rucher.ed.*Lavoisier* : Paris. P597.

## R

129) **REBIAI,A . ,LANEZ,T . ,CHOUIKH,A .(2015).**Physicochemical and biochemical properties of honey bee products in south Algeria. *Chemistry à chemical engineering, biotechnology, food industry*.16 (2):137

130) **RIGAL.M-L.(2012).**Miel et gelée royale: utilisations thérapeutiques dans le domaine cutané et applications en cosmétologie. Thèse de doctorat.Univ.Limoges. France. 157 pp.

131) **ROSSANT, A.(2011).**le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat .Univ. Limoges. France. 133pp

## S

132) **SALOMON, D. , BAROUTI, N. , ROSSET, C. , WHYNDHAM-WHITE, C.** (2010). Le miel : de Noé aux soins de plaies. *Médical suisse*.6:871.

133) **SAXENA, S. , GAURAM, S. , SHARMA, A.(2010).**Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Food chemistry*.118:202-203

134) **SANCHO.M-T. , MUNIATEGUI, S. ,SÁNCHEZ.M-P; HUIDOBRO.J-F. ,SIMAL, S.(1991).** Relationships between electrical conductivity and total and sulphated ash contents in Basque honeys. *Apidologie*.22:488.

135) **SCHWEITZER, P. (2005).** Encore des miels hors normes. Revue l'abeille de France.*Apiservices*.917:3.

136) **SCHWEITZER, P.(2004).**le monde des miellats. Revue l'abeille de France. *Laboratoire d'analyses et d'écologie apicole* 908 :2.

137) **SHERWOOD, P. , WOOLVERTON, W. (2013),** microbiologie.ed.*Deboeck*: Bruxelles. p1070.

138) **SINGLETON, P. (2012),** bactériologie pour la médecine, la biologie et les biotechnologies.ed. *Dunod* : paris .p542.

139) **SOUSSY.C-J . ,BONNET,R. , CAVALLO.J-D . ,CHARDOUN,H. ,CHIDIAC,C. , COURVALIN,P. , DEBRENAT,H. ,DRUGEON,H. , DUBREUIL,L. , CUERY,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>.

**T**

- 140) **TERRAB, A. , HEREDIA.F-J. , DIEZ.M-J. (2002).** Characterization of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Food chemistry*.79:375.
- 141) **TERRAB, A. , DIEZ M, M-J. ,HEREDIA, F-J. (2003)** .Palynological, physico-chimique and colour characterization of Moroccan honey: III Other unifloral honey types: III other unifloral honey types. *International journal of food science and technology*. 38: 395-402.
- 142) **THOMAS, P. ,BARRETT, J. ,BRENNAN, J. , MORAN, N. (2005).** Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey. *Journal of Microbiology Methods*. 1: 85.
- 143) **Todar, K. (2004)** Todar's Online Textbook of Bacteriology: Pseudomonas aeruginosa. Department of Bacteriology, University of Wisconsin, Madison
- 144) **TOROGLU, S.(2011).**In-vitro antimicrobial activity and synergistic/antagonistic effect of interactions between antibiotics and some spice essential oils. *Journal of Environmental Biology*.32:24

**W**

- 145) **WAGNER, H. ,ULRICH-MERZENICH, G .(2009).** Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals. *Phytomedicine*. 16: 97.
- 146) **WALKLEY, C. (1999).** L'avis du médecin : conseils à l'intention des parents et des soignants . *Paediatr Child Health* 7 : 503.
- 147) **WHITE.R-L. , BURGESS.D-S. , MANDURU, M. ,BOSSO.J-A.(1996).**Comparison of three different in vitro methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test.*Antimicrob Agents Chemother*.40:1914-1918.
- 148) **WIESS, K. (2002).** La résistance bactérienne la nouvelle guerre froide.*Le Médecin du Québec* .37 :41.
- 149) **WROLSTAD.R-E. , DURST.R-W. , LEE, J.(2005)** .Tracking color and pigment changes in anthocyanin products. *Trend in food science and technology*. 16 (9): 423-428.

**Y**

- 150) **YAICHE. A-H . ,KHALI, M. (2014).** Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique science* .10 :127.
- 151) **YAHYA, H. ,OKTAR, A.(2012),** les miracles du coran .ed .*Sana* : Paris : P503.

**Z**

- 152) **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 .*JJBS*.4: 245.
- 153) **ZIAI, S.(2014)** .La résistance bactérienne aux antibiotiques: apparition et stratégies de lutte. Thèse de doctorat. Univ.Limoges.France.147 pp.

***Annexe***

**Annexe 1 : norme du codex alimentaire de la qualité de miel naturel [(codex alimentaire, 1998) ;(BOGGANOV et al., 2003)].**

<b>Paramètre</b>	<b>Norme</b>
Teneur apparent en sucre réducteur (exprimée en sucre inverti)	Miel de nectar : au minimum 65% miel de miellat et mélange de miel 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 40 meq d'acide /kg
Acidité total	10 à meq d'acide / kg
Indice diastasique	Minimum 3
La teneur en HMF	Au maximum 80 mg / kg : 60 mg/kg (CODEX) 40 kg /kg (UE)
Densité	1.39 à 1.44 ; max. 1.52
Conductibilité électrique	Nectar <0.8 a l'exception de mélange : miel de miellat > 0.8 l'exception miel de châtaigner
Teneur en protéines	0.26 à 0.83%
Teneur en matière minérale (cendre)	Au maximum 0.6 % exceptionnel miel de miellat ou mélange de miel de miellat et de nectar. miel de châtaigner au maximum 1.2 %

## **Annexe 2**

### **Composition de milieu de culture**

#### **Milieu de King A**

Le milieu de King A (ou P) est destiné pour la mise en évidence de la pyocyanine, pigment spécifique à *Pseudomonas aeruginosa*, sa production est favorisée par la présence de certains acides aminés et d'ions inorganiques.

#### **Composition**

Sa formule (en gramme par litre d'eau distillée) est la suivante :

<b>Milieu de King A, recherche de la pyocyanine</b>	
Peptone de gélatine	20 g
Glycérol	10 g
Sulfate de potassium anhydre	10 g
Chlorure de magnésium anhydre	1,4g
Agar	15 g
Eau distillée	1000 ml
pH 7,2	

### **Préparation du milieu**

- Faire chauffer doucement en agitant fréquemment. Laisser bouillir pendant 1 à 2 minutes.
- Repartir et stériliser à l'autoclave à 120°C pendant 15 minutes.
- Laisser refroidir de manière à obtenir une pente et un petit culot.

### **Gélose de Muller – Hinton**

La **gélose Mueller-Hinton** est une gélose riche.

#### **Composition :**

- Infusion de viande de bœuf : 300,0 ml
- Peptone de caséine : 17,5 g
- Amidon de maïs : 1,5 g
- Agar : 17,0 g
- pH = 7,4

### **Préparation du milieu**

38 g par litre. Stérilisation à l'autoclave. Pour préparer ce milieu il faut peser 38g de poudre et la mélanger dans 1L d'eau. Il faut homogénéiser puis chauffer en agitant. Il faut porter à ébullition pendant environ une minute. Ensuite il faut stériliser la gélose à l'autoclave durant 15 minutes à 121,1°C.

### **Mueller-Hinton bouillon**

Composition (g) pouvant être modifiée pour 1 litre de milieu :

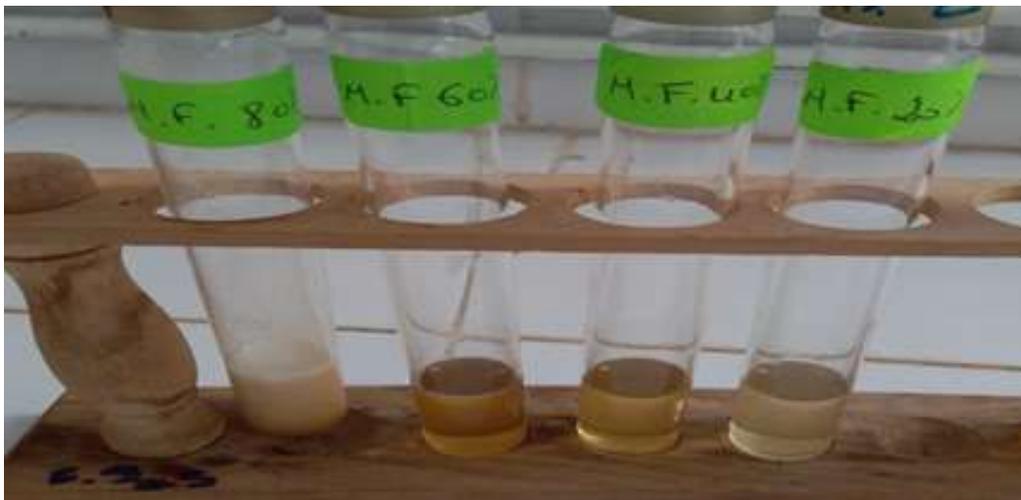
Extrait de viande : 2,0.

Hydrolysate acide de caséine : 17,5.

Amidon soluble : 1,5.

PH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,3 ± 0,2.

**Annexe 3 : les dilutions du miel.**



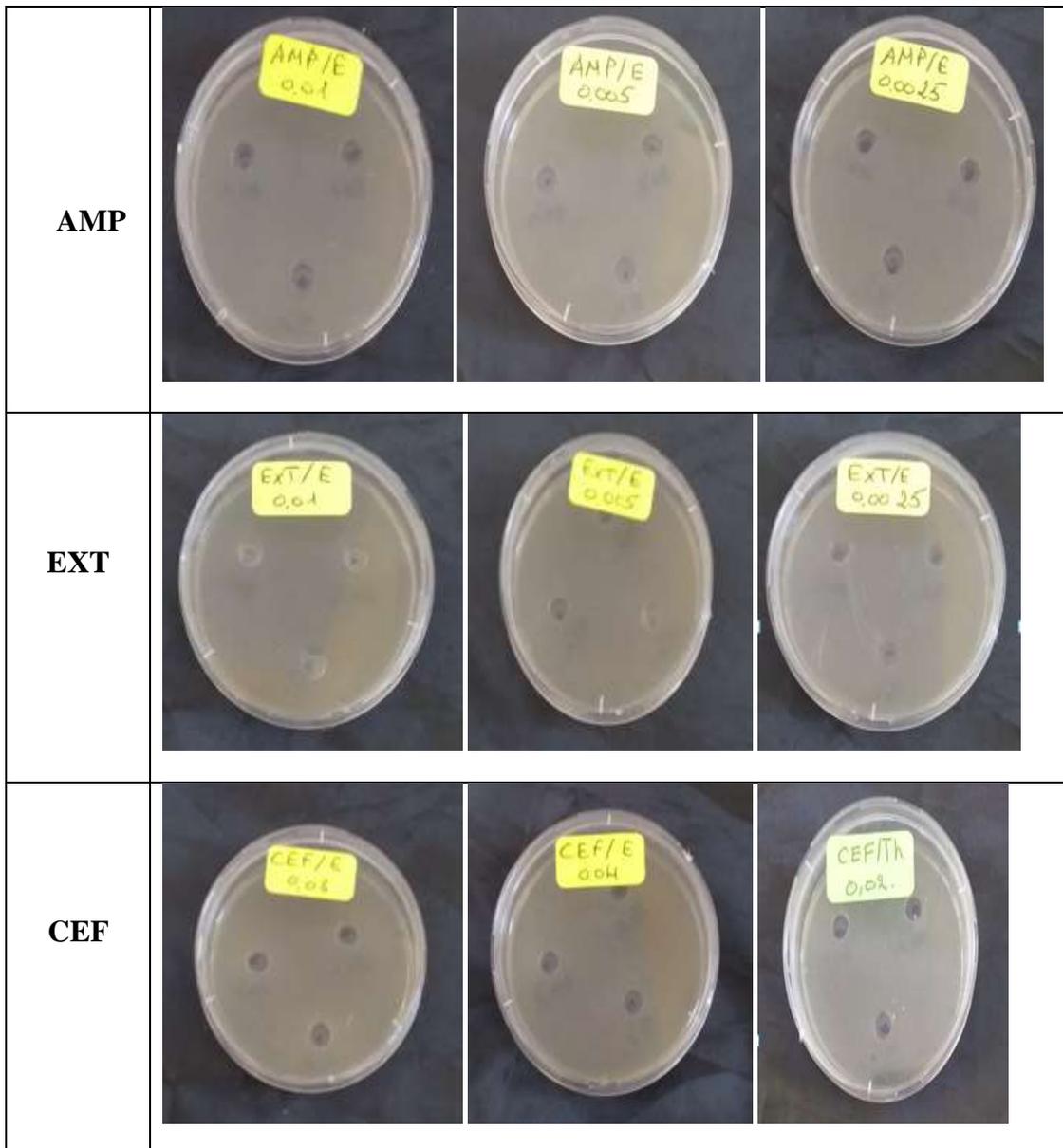
**Annexe 4 :** quelques dilutions des miels combinées avec quelques antibiotiques.



**Annexe 5** : les résultats de l'association du miel de Thym avec les quatre antibiotiques.

<b>AUG</b>	
<b>AMP</b>	
<b>CEF</b>	
<b>EXT</b>	

**Annexe 6** : les résultats de l'association du miel d'Euphorbe avec les quatre antibiotiques.



**Annexe 7** : quelques appareillages du laboratoire utilisé pour la réalisation de notre étude.



**Conductimètre**



**Vortex**



**Balance**



**Spectrophotométrie**



**Bain marie**



**Incubateur**



**Micro-onde**



**Autoclave**



**pH mètre**

## Résumé

L'objectif principal de cette étude a été déterminer les caractéristiques physico-chimiques ainsi que l'activité antibactérienne du miel seul pur et dilué (Euphorbe , Multi florale , Thym ) (20%,40%,60% 80 % ,90% ) , en suite l' associations des différents concentrations aux antibiotiques suivants (AMOXicilline , AMPicilline, AUGmantin, CEFalexine et EXTancilline ) , avec trois variétés de miels sur une souches de *Pseudomonas aeruginosa* issu d'isolats humains et de chauve-souris .

Les tests de l'activité antibactérienne des miels ont montré que la souche Humaine est sensible miels utilisés seules (l'Euphorbe avec une efficacité remarquable et le Multi floral avec une faible efficacité) et où en association avec des antibiotiques.

Par contre l'isolat de chauve-souris n'a aucun sensibilité vis à vis les concentrations basses du miel sauf à 90% et 100% Euphorbe et Thym consécutivement.

Mots clés : *Pseudomonas aeruginosa*, Antibiorésistance, Miel Multi floral, Euphorbe, Thym, Antibiotiques, CMI.

### الملخص:

الهدف الرئيسي من هذه الدراسة هو تحديد الخصائص الفيزيائية والكيميائية وكذلك النشاط المضاد للبكتيريا من العسل النقي والمخفف وحده (( اللبينة ، متعدد الأزهار ، الزعتر) (20 % ، 40 % ، 60 % ، 80 % ، 90 %) ، مزيج من تركيزات المضادات الحيوية التالية ( AMOXicillin ، AMPicillin ، AUGmantin ، CEFalexin و EXTancillin ) ، مع ثلاثة أنواع من العسل على سلالة *Pseudomonas aeruginosa* المستمدة من العزلات البشرية والخفافيش.

لقد أظهرت اختبارات النشاط المضاد للبكتيريا من العسل أظهرت أن السلالة البشرية حساسة للعسل المستخدم بمفرده (اللبينة بكفاءة ملحوظة ومتعدد الأزهار ذو كفاءة منخفضة) أو وحيثما يتم الجمع مع المضادات الحيوية.

من ناحية أخرى ، فإن عزل الخفافيش ليس لديه حساسية لتركيزات منخفضة من العسل إلا في 90 % و 100 % اللبينة والزعتر على التوالي..

الكلمات المفتاحية *Pseudomonas aeruginosa* ، مقاومة المضادات الحيوية ، عسل متعدد النباتات ، اللبينة ، الزعتر ، المضادات الحيوية ، الحد الأدنى من تركيز المثبطة.