

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 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 :

- M^{me} BENKERMA Souad.

- M^{elle} KHATTAB Tamani.

- M^{elle} SARIDJ Amina Nour El Yakout.

Thème

**Effet antibactérien de la propolis et du miel sur
Escherichia coli aviaire pathogène**

Soutenu publiquement Le 04/07/2019

Jury:

Président: Mr. ABDELHADI Si Ameer.

Encadreur: Mr. HAMMOUDI Abdelhamid.

Co-encadreur: Mr. ISMAIL Nasereddine Arbi.

Examineur : Mr. HOUCINE Laredj.

Grade :

Professeur

Professeur

MCB

MAA

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

On tient tout d'abord à remercier ALLAH le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce modeste travail.

Nos remerciements vont également à nos parents, qui nous ont toujours soutenus au cours de nos études et nous ont permis d'arriver jusque-là.

*A notre promoteur **Pr. HAMMOUDI. ABDELHAMID** On a eu le privilège de travailler parmi votre équipe et d'apprécier vos qualités et vos valeurs.*

Votre sérieux, votre compétence et votre sens du devoir nous ont énormément marqués. Veuillez trouver ici l'expression de notre respectueuse considération et notre profonde admiration pour toutes vos qualités scientifiques et humaines. Ce travail est pour nous l'occasion de vous témoigner notre profonde gratitude.

*Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury **Mr. ABDELHADI Si Aneur** Et **Mr. HOCINE Laredj** Pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre mémoire en acceptant de présider et d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions.*

A Mr. BENAÏSSA TOUFIK,

Il s'est toujours montré à l'écoute et très disponible, ainsi pour l'inspiration et le temps qu'il a bien voulu nous consacrer, .Veuillez croire Monsieur à l'assurance de nos respects et de nos reconnaissances,

*Avec tout notre respect on tient à remercier **Mr. BOUDRA ABDELATIF** pour son aide, ses orientations judicieuse, ses qualités d'ordre et d'efficacité*

*Un merci particulier à notre chef de spécialité **Dr.DOUKANI KOULA** de nous avoir formé, dirigé et encouragé.*

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

*Merci à l'équipe du laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret et à l'équipe du laboratoire de technologie alimentaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ibn Khaldoun Tiaret. Ainsi que **Abdelmadjid** qui a travaillé avec nous au laboratoire.*

*Au corps administratif du département de **Sciences de la nature et de la vie.***

Enfin, on adresse nos plus sincères remerciements à tous nos proches et amis, qui nous ont toujours soutenue et encouragé au cours de la réalisation de ce mémoire. Ainsi que tous ceux qui nous sont chers et dont on n'a pas pu citer les noms trouvent ici toute notre gratitude.

♥À MES CHERS PARENTS♥

Aucune dédicace ne saurait exprimer mon respect, mon amour éternel et ma considération pour les sacrifices que vous avez consenti pour mon instruction et mon bien être.

Je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère que votre bénédiction m'accompagne toujours.

Que ce modeste travail soit l'exaucement de vos vœux tant formulés, le fruit de vos innombrables sacrifices, bien que je ne vous en acquitterai jamais assez.

Puisse Dieu, le Très Haut, vous accorder santé, bonheur et longue vie et faire en sorte que jamais je ne vous déçoive.

♥A MON CHER EPOUX OUSSAMA ♥

Mon mari, mon amour, mon conseiller, et ami fidèle, qui m'a assisté dans les moments difficiles et m'a pris doucement par la main pour traverser ensemble des épreuves pénibles....,

Je te suis très reconnaissant, et je ne te remercierai jamais assez pour ton amabilité, ta générosité, ton aide précieuse.

♥A MES CHERS ET ADORABLE FRERES ET SOEURS♥

Ahlem, la prunelle de mes yeux, *Nadia*, la douce, au cœur si grand, *Abdelmalek* le généreux, *Imene* ma petite sœur que j'adore. **Abdrahmane et Khaled**, En témoignage de mon affection fraternelle, de ma profonde tendresse et reconnaissance, je vous souhaite une vie pleine de bonheur et de succès et que Dieu, le tout puissant, vous protège et vous garde.

♥A MES CHERS NEVEUX♥

Achwak , Abdeljalil, Rayan et ♥♥

♥À MA DEUXIEME FAMILLE ; HAMRELAINE ♥

♥À MES CHERS ONCLES, TANTES, LEURS EPOUX ET ÉPOUSES♥

♥A MES CHERS COUSINS ET COUSINES♥

♥A MES BELLES SOEURS♥

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

♥À MES AMIS DE TOUJOURS♥; AYA, Fafa , AMINA , TAMANI , HAYATE

♥À TOUTE LA PROMOTION DE 5^{eme} INFECTIOLOGIE♥

En souvenir de notre sincère et profonde amitié et des moments agréables que nous avons passés ensemble.

Veillez trouver dans ce travail l'expression de mon respect le plus profond et mon affection la plus sincère.

♥À TOUTES LES PERSONNES QUI ONT PARTICIPÉ A

L'ÉLABORATION DE CE TRAVAIL À TOUS CEUX QUE J'AI OMIS DE CITER♥

Benkerma Souad

Je dédie ce travail à :

*Ma source de joie et de bonheur, une lumière adorable qui a animé mon regard, ma chère
maman Yamina*

Mon cher père Mohammed

Mes aimables sœurs, Fatima, Wassila et son mari Khalil et ma nièce Hanaa

Ma chère tante Fatiha et son mari Ahmed qui sont toujours à mes cotés

Mes frères, Mohamed et Younes

*Mes chères amies avec qui j'ai passé les meilleurs moments dans ma vie, Imen, Soraya et
Hadjer*

*Mes chères copines, Souad et Amina je suis chanceuse de travailler avec ces deux personnes
je vous souhaite que du bonheur et de la réussite*

Toute la famille khattab et la famille Sebah

Toute la promotion de deuxième année Master Infectiologie 2018/2019

Et en fin à tous qui m'ont aidé de près ou de loin

Khattab Tamani

♥*Merci à Dieu, à qui je dois tout, d'avoir guidé mes pas et de m'avoir donné la volonté pour accomplir ce travail.*♥

♥ *C'est avec profonde gratitude et sincères mots que je dédie ce modeste travail :*

♥*Tout d'abord et spécialement à ma chère mère Fatiha qui n'a jamais cessé de ménager ses efforts pour que j'atteigne ce niveau. Ni sacrifices, ni privations ne l'ont empêché d'accomplir son devoir de mère soucieuse de l'avenir de ses enfants.*♥

♥*A mon chère père Djillali, qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort* ♥

♥*A ma grand-mère Khadoudj, pour toutes les souffrances qu'elle a endurées. Que Dieu te garde et t'accorde longue vie. A la mémoire de mon grand-père Khaled et ma tante Soraya*♥

♥*A ma tendre Sœur Zineb et chers frères Mohamed, et Abdelilleh auxquels je souhaite beaucoup de réussite et tout le bonheur du monde.* ♥

♥*A tous mes oncles, tantes particulièrement Karim, Mohamed et Zineb*♥

♥*A toutes mes cousines Ismahen, Narimen, Farida et ma meilleure Amina et tous mes cousins. Merci pour votre gentillesse*♥

♥*A toute la famille Saridj, Boudraoui et Mechraoui* ♥

♥ *A ma meilleure Fafa, qui m'as soutenu sur tous les plans, je la remercie pour le sourire qu'elle a su toujours dessiner sur mon visage. Ainsi que son époux Djalil pour sa disponibilité et ses encouragements* ♥

♥*A mon amie d'enfance Sihem que j'aime énormément* ♥

♥ *A tous mes chers amis en particulier Fatima, Souad, Fatma, Sabrina, Sarah, Madjid, Kader, Taher*♥

♥ *A mon intime Souadune trinôme rêvée, souvent patiente, toujours disponible. Je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble. Ainsi que son époux Oussama pour sa présence, son aide, et ses encouragements tout au long de mon cursus* ♥

♥A mon trinôme Tamani, qui m'a supporté selon mon état de fatigue, tout au long de ce projet ♥

♥A toute la promotion Infectiologie 2018-2019 ♥

♥A tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ♥

♥ Amina Nour El Yakout

LISTE DES ABREVIATIONS

AMC : Amoxicilline +Acide clavulanique.

AMP : Ampicilline.

APEC: Avian Pathogenic *Escherichia coli*.

AOAC:Association of Official Analysis Chemists.

C : Chloramphénicol.

C₂OH₁₄O₄ : Phénophtaléine.

CE : Conductivité électrique du miel exprimée (mS.cm-1).

CN : Gentamicine.

CLSI :Clinical and Laboratory Standards Institue.

COT : Triméthoprime+ Sulfaméthoxazole.

CT : Colistine.

DAEC :*Escherichia coli* à adhésion diffuse.

DI : Diamètre d'inhibition.

E. coli : *Escherichia coli*.

EEPA : Extrait éthanolique de la propolis algérienne.

EHEC :Entérohémorragique*Escherichia coli*.

EIEC :Entéroinvasif*Escherichia coli*.

ENR :Enrofloxacine.

EPEC :Entéropathologene*Escherichia coli*.

ETEC :Entérotoxinogene*Escherichia coli*.

F1 :*E. coli*prélevé à partir dufoi de poule.

G : Conductance de la solution (mS/cm).

H% :Humidité.

IN : Interprétation.

K :Kanamycine.

Kcl: Chlorure de potassium.

M :Prise d'essais en gramme.

M : Masse du miel en gramme.

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche après l'étuvage.

m1 : Masse de la capsule vide.

M2 : Masse de l'ensemble avant l'étuvage.

m2 : Masse de la capsule après incinération.

MC : Miel de jujubier /cèdre.

ML : Miel d'euphorbe / loubaina.

Mm : Matière minérale.

MS : Matière sèche du miel.

N :Normalité de NaOH.

NA : Acide nalidixique.

NaOH : Hydroxyde de sodium.

P : Pollen.

P10 : Propolis 10.

P6 :Propolis6.

R1 : *E. coli* prélevé à partir de la rate de poule.

R16 :*E. coli* prélevé à partir de la rate de poule.

R4 :*E. coli* prélevé à partir de la rate de poule.

TE : Tétracyclines.

V : Volume en millilitres d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le pH du point équivalent E lors de la neutralisation du miel.

I. LISTE DES TABLEAUX

Tableau N°01 : Matériel et consommables utilisés pour les différentes méthodes des analyses physicochimiques, la confirmation des souches et l'activité antibactérienne	19
Tableau N°02 : Les quatre isolats étudiés	25
Tableau N°03 : Antibiotiques utilisés	28
Tableau N°04 : Préparation des concentrations du miel Tableau	31
N°05 : Préparation des concentrations de la propolis	31
Tableau N°06 : La confirmation des isolats	36
Tableau N°07 : Résultats des paramètres physico-chimiques des miels (ML, MC).....	39
Tableau N°08 : Diamètre d'inhibition de la propolis P6 sur les quatre isolats	52
Tableau N°09 : Diamètre inhibition du pollen seul et additionné au miel sur les quatre isolats	55

II. LISTE DES FIGURES

Figure N°01 : Grille en plastique souple où sera récoltée la propolis.....	4
Figure N°02 : Les différentes analyses physicochimiques du miel	20
Figure N°03 : Détermination de la teneur en eau (photo personnelle 2019).....	21
Figure N°04 : Détermination de la teneur en matière minérale (photo personnelle 2019) .	22
Figure N°05 : Protocole expérimental de la confirmation des isolats et antibiogramme	24
Figure N° 06 : Schéma du Protocole expérimental.....	30
Figure N°07 : Concentration du miel (ML, MC) (photo personnelle 2019).....	31
Figure N°08 : Concentration de la propolis (P10) (photo personnelle 2019)	32
Figure N°09 : Préparation du pollen seul et additionné au miel (photo personnelle 2019)	32
Figure N°10 : Réactivation des isolats (photo personnelle 2019).....	33
Figure N°11 : Détermination de l'effet antibactérien du miel pollen et propolis (photo personnelle 2019)	34
Figure N°12 : Diagramme des antibiorésistances des quatre isolats.....	36
Figure N°13 : Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019)	42
Figure N°14 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat F1 CH (en mm)...	42
Figure N°15 : Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019)	43
Figure N°16 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7pc16	43
Figure N°17 : Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019)	44
Figure N°18 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc1	44
Figure N°19 : Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019)	45

Figure N°20 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc4.....	45
Figure N°21 : Evaluation de l'effet antibactérien de la propolis (p10) (photo personnelle 2019).....	49
Figure N°22 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat F1 CH	50
Figure N°23 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc16.....	50
Figure N°24 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc1.....	51
Figure N°25 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc4.....	51
Figure N°26 : Evaluation de l'effet antibactérien de la propolis (P6) sur les quatre isolats (photo personnelle 2019).....	52
Figure N°27 : Evaluation de l'effet antibactérien du pollen seul et additionné au miel sur les quatre isolats (photo personnelle 2019)	55

TABLE DES MATIERES

- I. LISTE DES ABREVIATIONS
- II. LISTE DES TABLEAUX
- III. LISTE DES FIGURES

Introduction 1

PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I.

LA PROPOLIS

1.1. Définition..... 3

1.2. La Récolte 3

1.3. Composition moyenne de la propolis 4

1.4. Les différents chémotypes de propolis 5

1.5. Les propriétés thérapeutiques de la propolis 5

1.5.1. Propriétés antibactériennes..... 5

1.5.2. Propriétés antivirales 6

1.5.3. Propriétés anti-inflammatoires 6

1.5.4. Propriétés antifongiques 6

1.5.5. Propriétés antiparasitaires..... 6

1.5.6. Propriétés antioxydantes 6

1.5.7. Propriétés cicatrisantes..... 6

CHAPITRE II

LE MIEL

2.1. Définition..... 11

2.2. Origine du miel 11

2.2.1. Le miellat 11

2.2.2. Le nectar..... 11

2.2.2.1 Miels mono floraux	11
2.2.2.2 Miels multi floraux	12
2.3. Récolte et conservation.....	12
2.3.1. Récolte.....	12
2.3.2. Conservation	12
2.4. Composition	12
2.5. Effet antibactérien.....	13

CHAPITRE III.

LE POLLEN

3.1. Définition.....	10
3.2. Structure et forme du pollen.....	10
3.3. Origine et pollinisation	11
3.3.1. Origine	11
3.3.2. La pollinisation	11
3.4. La Récolte	11
3.4.1. Par l'abeille	11
3.4.2. Par l'homme	11
3.5. Conservation	12
3.5.1. Le séchage	12
3.5.2. Le triage.....	12
3.5.3. Le stockage	12
3.6. Composition	12
3.7. Propriétés thérapeutiques	13
3.7.1. Action antibactérienne du pollen.....	13
3.7.2. Action tonifiante, stimulante et métabolique du pollen.....	13
3.7.3. Action dépurative et anti-oxydante	13
3.7.4. Action digestive et anti-inflammatoire du pollen	14
3.7.5. Action cardio-vasculaire du pollen.....	14

3.7.6. Action sur le système neuropsychique	14
3.7.7. Action sur L'appareil génito-urinaire.....	14

CHAPITRE IV.

GENERALITES SUR E. COLI

4.1. Définition.....	15
4.2. Classification.....	15
4.3. Morphologie.....	15
4.4. Structure antigénique	15
4.5. Habitat.....	15
4.6. Caractères cultureux et biochimiques.....	16
4.7. Pouvoir pathogène	16
4.8. Facteurs de virulence	16
4.9. Résistance aux antibiotiques.....	17

II.PARTIE EXPERIMENTALE

CHAPITRE I.

MATERIEL ET METHODES

1.1. Matériel et méthodes.....	18
1.1.1. Lieu et période de travail	18
1.1.2. Matériel.....	18
1.1.2.1. Matériel végétal	18
1.1.2.2. Matériel biologique	18
1.1.2.3. Matériel et consommables de laboratoire.....	19
1.2. Méthodes	20
1.2.1 Protocol expérimental.....	20
1.3. Analyses physicochimiques	21
1.3.1. Humidité.....	21
1.3.2. Taux de cendres	21
1.3.3. Conductivité électrique	22

1.3.4. Détermination du pH.....	22
1.3.5. L'acidité libre	23
1.4. Analyses microbiologiques.....	24
1.4.1. Confirmation des souches.....	25
1.4.1.1. Observation microscopique (coloration de Gram).....	25
1.4.1.2. Test d'Oxydase	26
1.4.1.2.1. Technique	26
1.4.1.2.2. Lecture.....	26
1.4.1.3. Identification biochimique par galerie Api 20 E	26
1.4.1.3.1. Préparation de la Galerie API 20 E	26
1.4.1.3.2.. Préparation de l'inoculum	27
1.4.1.3.4. Inoculation de la Galerie	27
1.4.1.3.5. Lecture de la Galerie	27
1.4.1.4. AntibioGramme	27
1.4.1.4.1. Technique.....	28
1.4.1.4.2. Lecture.....	29
1.5. Activite antibacterienne	30
1.5.1. Préparation des échantillons.....	31
1.5.1.1. Préparation des concentrations du miel.....	31
1.5.1.2. Préparation des concentrations de la propolis	31
1.5.1.3. Préparation du pollen.....	32
1.5.1.4. Réactivation des isolats.....	33
1.5.2. La recherche de l'effet antibactérien du miel pollen et propolis.....	34

CHAPITRE II.

RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et AntibioGramme

2.1. Confirmation des isolats.....	36
2.2. AntibioGramme.....	37

2ème volet : les paramètres physicochimiques du miel

2.3.1. Taux d'humidité (La teneur en eau).....	39
2.3.2 La conductivité électrique.....	40
2.3.3. La teneur en cendres.....	40
2.3.4. L'acidité libre.....	40
2.3.5. Détermination du pH.....	41

3ème volet : l'étude de l'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.4. L'effet antibactérien du miel (MC-ML).....	42
2.4.1. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur F1.....	42
2.4.2. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R16.....	43
2.4.3. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R1.....	44
2.4.4. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R4.....	45
2.5. L'effet antibactérien de la propolis (p6 et p10).....	49
2.5.1. L'effet antibactérien de la propolis (p10).....	49
2.5.2. L'Effet antibactérien de la propolis p6.....	52
2.6. L'effet antibactérien du pollen.....	55
2.7. Comparaison entre l'effet du miel, de la propolis et des antibiotiques.....	57
CONCLUSION.....	58
REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	73
ANNEXES.....	76

INTRODUCTION

Introduction

Après un demi-siècle d'utilisation d'antibiotiques, l'émergence et la dissémination de la résistance bactérienne à cette classe thérapeutique posent un problème de santé publique important et préoccupent les spécialistes en médecine humaine et vétérinaire (**Athmani et al.,2018**). De cette optique les *Escherichia coli* aviaires, bien qu'ils soient considérés par beaucoup comme pathogène secondaires, elles affectent tous les systèmes de production et engendrent de lourdes pertes économiques dans le secteur avicole (**Barnes et al., 2008**).

Le développement de nouveaux agents thérapeutiques et le retour à la médecine naturelle s'avère très nécessaire pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne (**Goldmann etHuskins, 1997**). En effet, les produits de la ruche (miel, propolis, pollen) s'inscrivent dans cette tendance, grâce à leurs activités thérapeutiques et surtout antibactériennes (**Foudil, 2017**).

Le miel est l'un des aliments les plus complexes de la ruche (**Codex Alimentarius, 2001**). Il possède des caractéristiques physico-chimiques très variables dues aux conditions climatiques et environnementales et à la diversité des origines des plantes à partir desquelles elles sont récoltées (**Cimpoi., et al, 2012**).

La propolis est la substance aseptisante de la ruche grâce à ces mécanismes antimicrobiens à large spectre, Elle est pourvue d'une très forte activité antibactérienne étant riche en flavonoïde et en acides phénolique (**Mickaël, 2010**).

Le pollen renferme de façon très complète tous les éléments indispensables à la vie des organismes du règne animal et végétal, comme étant un élément protecteur s'opposant au développement de certaines variétés microbiennes, et agissant en harmonie naturel et en synergie (**Dextreit R, 1963**).

L'étude scientifique des produits de la ruche, utilisés à des fins médicales ne s'est développée que récemment. Le Pr. Descottes, pionnier de l'utilisation du miel dans les pansements, a permis de crédibiliser les produits du rucher aux yeux de la communauté scientifique. Médecine naturelle ne veut pas dire médecine approximative, sans bases ni fondements ; et les produits de la ruche, sources illimitées de remèdes, méritent toute notre attention. (**Assie, 2004**).

Nous aborderons tout d'abord une approche générale des produits de la ruche ; miel, propolis et pollen. Ainsi que des généralités sur *E-Coli*. Par la suite, une étude plus approfondie nous mènera à découvrir la composition du miel; analyse physicochimique (la teneur en eau, la conductivité électrique, le pH, l'acidité libre, et la teneur en cendres) d'une part, et l'évaluation des niveaux de résistance de cette bactérie aux antibiotiques selon les normes CLSI d'autre part. Enfin, une troisième et dernière partie qui s'articule autour de l'estimation de l'effet antibactérien des produits de la ruche ; miel, propolis et pollen récoltés de quelques régions de notre pays sur *E-coli* aviaire les plus résistantes (N=4).

L'exploitation de ces produits est une piste prometteuse pour remédier au phénomène de l'antibio-résistance et l'élaboration des perspectives d'un traitement alternatif vis-à-vis *E-Coli* Aviaire pathogène.

I. PARTIE
BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I.

LA PROPOLIS



1.1. Définition

Le mot propolis est d'origine grecque ("pro" - devant et "polis" - cité), en référence aux observations des apiculteurs qui avaient mis en évidence cette résine à l'entrée de la ruche (Cayet, 2007)

La propolis est une substance généralement brune mais qui peut être également de couleur rouge, verte, voir même jaune. Elle est de saveur pimentée et brûlante. Elle est produite par les abeilles à partir de la récupération de résine de végétaux, principalement des conifères mais aussi sur les bourgeons des peupliers, des saules et des aulnes. Les ouvrières recueillent ces résines avec leurs mandibules puis la transportent dans les corbeilles de leurs pattes arrière (sacs à pollens). Ces pelotes de propolis sont immédiatement retravaillées par les maçonnes qui y apportent de la cire et leurs sécrétions salivaires.

Au sein de la ruche, la propolis a un double intérêt, architectural et sanitaire :

- a. **un intérêt architectural** : les abeilles l'utilisent comme un véritable mortier qui permet le colmatage des fissures ou interstices et donc l'étanchéité. Par ailleurs il est aussi utilisé pour le renforcement des rayons ou parties endommagées de la ruche ce qui permet d'assurer la protection de la colonie en réduisant les possibilités d'entrée dans la ruche ;
- b. **un intérêt sanitaire**: la propolis est la substance aseptisante de la ruche de par ses propriétés anti-infectieuses (antibactérienne et antifongique). Une fine couche y est déposée dans les alvéoles où les reines pondent les œufs afin d'éviter la prolifération de bactéries telle que le *paenibacilluslarvae* (loque américaine). Elle sert également à momifier les animaux intrus morts (souris par exemple), trop imposants pour être évacués de la ruche par les abeilles elles-mêmes, ce qui évite leur décomposition (Donadiou, 2008).

1.2.La Récolte

L'apiculteur possède deux moyens principaux de récolter la propolis, par raclage et grattage ou par des grilles (Waring et Waring, 2012)

- La méthode par raclage et grattage des cadres et parois de la ruche est réalisée à l'aide d'un couteau. Si cette méthode est utilisée, elle se passe la plupart du temps l'hiver. En effet c'est la saison idéale pour cette mission car la propolis est plus dure et plus friable et de ce fait se



Les produits de la ruche : Propolis, Miel, Pollen

Chapitre I .La Propolis

décollera plus facilement de ses supports. L'inconvénient de cette méthode est qu'il y a beaucoup d'impuretés telles que des débris de bois, des petits clous, des fragments d'abeilles et autres qui devront être éliminés après la récolte. De ce fait cette méthode n'est pas très utilisée ;

- La seconde méthode consiste à placer des grilles en plastique souple au-dessus des cadres. Etant donné que les abeilles ne supportent pas les trous, elles s'empressent de les boucher avec de la propolis. L'avantage de cette méthode est la récolte de propolis avec très peu d'impuretés. Les grilles sont ensuite mises au congélateur afin que la résine soit cassante et donc plus facile à récolter.



Figure N°01 : Grille en plastique souple où sera récoltée la propolis

Source : <http://www.aloemagazine.com/propolis-abeille/> (consulté le 16/03/2019)

1.3. Composition moyenne de la propolis

Les composés sont répartis de la manière suivante :

- 50% de résine et de baumes
- 30% de cire végétale ou d'abeille
- 10% d'huiles essentielles
- 5% de pollen
- 5% de substances organique et minérale (Xu et al., 2009).

Les composés aromatiques sont les composés les plus représentés dans la propolis, de par leur nombre mais aussi par leurs qualités biochimiques. Parmi ces composés il y a : l'acide benzoïque le benzaldéhyde et ses dérivés, l'acide et l'alcool cinnamique et leurs dérivés, les



Les produits de la ruche : **Propolis**, Miel, Pollen

Chapitre I .La Propolis

flavonoïdes des composés terpéniques, d'acides aminés d'acides gras les vitamines (Cardinault et *al.*, 2012).

1.4. Les différents chémotypes de propolis

Selon la région où la propolis est récoltée, elle n'aura pas la même couleur ni tout à fait les mêmes concentrations en composés. Les différentes propolis qui existent sont les propolis verte, rouge et brune :

- **La propolis brune** ou européenne est issue la plupart du temps des peupliers.
- **la propolis verte**, vient du Brésil et est issue de *Baccharis dracunculifolia*.
- **La propolis rouge**, provient essentiellement de Cuba, du Mexique, du Brésil et est issue de *Dallergiaecastophyllum*.

1.5. Les propriétés thérapeutiques de la propolis

La propolis est surtout reconnue pour ses propriétés antivirales, antibactériennes, antifongiques, antioxydantes et antiparasitaires.

1.5.1. Propriétés antibactériennes

Les propriétés antibactériennes de la propolis sont les plus connues et les plus documentées. Ainsi les Egyptiens l'utilisaient pour embaumer les morts et ainsi éviter la putréfaction.

Les principaux agents antibactériens identifiés dans la propolis sont les flavonoïdes avec la quercétine, la galangine et la pinocembrine. D'autres agents ont également été identifiés comme l'acide caféique, l'acide benzoïque, l'acide cinnamique. Ces derniers agiraient plutôt sur la membrane cellulaire ce qui expliquerait que l'activité bactéricide a été démontrée avec une plus grande efficacité sur les bactéries Gram+ que sur les Gram-, et laisse fortement supposer une action directe sur le peptidoglycane.

Le spectre antibactérien de la propolis est large avec une activité antibactérienne démontrée sur de nombreux germes : *Staphylococcus aureus et mutans*, *Streptococcus sanguinis et mutans*, *Bacillus Creus et subtilis*, *Proteus vulgaris et mirabilis*, *Pseudomonas*, *Listeria*, *Salmonelles*, *Clostridium*, *Escherichia Coli et faecalis* et *Helicobacter pylori* (liste non exhaustive) (Banskota, 2006 ; Choi, 2006 ; Baltas et *al.*, 2016).



Les mécanismes antibactériens de la propolis sont multifactoriels : blocage de la division cellulaire, désorganisation du cytoplasme, inhibition de la synthèse protéique ou encore inhibition du processus d'adhésion de la bactérie (**Scazzocchio et al., 2006**).

1.5.2. Propriétés antivirales

l'inhibition par la propolis du virus de la mosaïque du concombre, du virus des taches du tabac (**Nolkemper et al., 2010 ; Schnitzler et al., 2010**).

1.5.3. Propriétés anti-inflammatoires

Deux mécanismes anti-inflammatoires de la propolis ont été identifiés :

- **Le premier mécanisme** consiste en une inhibition de l'interleukine 6 (IL-6).
- **Le second mécanisme** implique le CAPE, qui intervient comme un puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique (**Rossi et al., 2002**).

1.5.4. Propriétés antifongiques

Les propriétés antifongiques de la propolis sont fortement suspectées par le fait qu'il ne soit pas retrouvé de moisissures sur les cadavres de petits animaux dans la ruche (**Ozcan, 2004**).

1.5.5. Propriétés antiparasitaires

Une action antiparasitaire a été démontrée in vitro sur de nombreux parasites : Trypanosoma, Leishmanias, Giardia lamblia, Giardaintestinalis, Ascaris lumbricoides, Enterobiusvermicularis, Trichocephalusdispar, Trichomonas vaginalis (liste non exhaustive) (**Abd el-Fattah et Nada, 2007**).

1.5.6. Propriétés antioxydantes

Les propriétés antioxydantes de la propolis sont dues aux très nombreux flavonoïdes qu'elle contient (**Shigenori et al., 2004**).

1.5.7. Propriétés cicatrisantes

La propolis est utilisée pour favoriser les processus de cicatrisation notamment lors de brûlure.

CHAPITRE II.

LE MIEL

2.1. Définition

Le miel est une substance alimentaire naturelle. La directive européenne 2001/110/CE et le Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 le définissent comme suit : « Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. (Donadieu, 1978).

2.2. Origine du miel

Jean -Prost (1987) affirme que le miel peut être soit d'origine florale (nectar des fleurs), soit d'origine animale (excréments d'insectes).

2.2.1. Le miellat

Un terme générique définissant les rejets métaboliques des homoptères, déposés sur les feuilles et au pied de la plante hôte. Cette excrétion contient des sucres, 90 à 95 % de la matière sèche (**Wackers, 2000 ; Yao et Akimoto., 2001**), des minéraux, des vitamines, des lipides, des acides aminés libres et des acides organiques (**Way, 1963 ; Buckley, 1987a ; 1987b**).

2.2.2. Le nectar

C'est une solution diluée de sucres variés, il constitue la matière première de la majorité des miels. Le nectar est recueilli dans les fleurs au niveau des petites glandes végétales dites les nectaires. Sa production dépend de l'âge, de la taille, de la position de la fleur, de l'humidité relative de l'air, de la durée de la floraison, du sexe des fleurs, de l'espèce (**Sanz et al., 2005**).

🚩 Selon **Sanz et al., (2005)**, les miels à base de nectar sont divisés en deux groupes :

2.2.2.1 Miels mono floraux

Ce sont des miels provenant d'une plante déterminée et présentent une dominance d'une seule variété de pollen (**Louveaux, 1980 ; Hamadane, 1988**).

2.2.2.2 Miels multi floraux

Ce sont des miels produits par plusieurs espèces végétales et présentent une grande variété de pollen sans dominance.

2.3. Récolte et conservation

2.3.1. Récolte

La récolte de miel s'effectue lorsque les cadres de la ruche sont remplis et que la floraison est terminée. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, l'apiculteur retire les cadres de miel situés en hauteur, puis il les transporte dans la miellerie et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer. Les cadres sont ensuite placés dans un extracteur qui permet, grâce à la force centrifuge, de faire couler le miel dans la cuve. Le produit obtenu est ensuite filtré pour éliminer les impuretés ou les restes de cire (**Cuvillier, 2015**).

2.3.2. Conservation

Le miel doit être conservé à 15°C, à l'abri de la lumière, de l'air et de l'humidité et doit être préférentiellement consommé dans l'année qui suit sa récolte (**Clément, 2004**).

2.4. Composition

Le miel contient :

- Un certain pourcentage d'eau qui varie en moyenne de 16 à 20% (**Bogdanov et al., 2006**) ;
- Des glucides (sucres) qui représentent de 75 à plus de 79% (**Delphine, 2010**)
- Des protides (moins de 1 %)(**Domerego et al., 2009**) ;
- Des acides organiques et des lactones pour 0,3 % ;
- Des substances minérales et des oligo-éléments (0,2 environ) (**Domerego et al., 2009**) ;
- Des vitamines : (Vitamine B1, B2, B3, B5, B6, B8, B9) (**Domerego et al., 2009**) ;
- Des enzymes : (la saccharase et l'amylase) (**Domerego et al., 2009**) ;

D'autres substances diverses telles que :

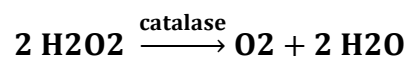
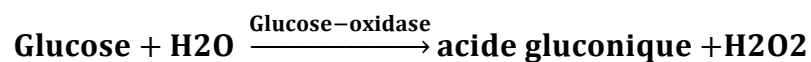
Des substances aromatiques, un principe cholinergique proche de l'acétylcholine, un principe œstrogène, des grains de pollen, des colloïdes (protéines, pigments, etc.) et Plusieurs facteurs antibiotiques (**Donadieu, 1978**).

2.5. Effet antibactérien

Le miel inhibe la croissance d'un grand nombre de bactérie, y compris les bactéries pathogènes (**Bogdanov, 1997**), l'activité est la plus importante quand le miel est administré de façon topique, directement sur les zones contaminées. Le miel est bactériostatique et bactéricide. L'activité antibactérienne est due à plusieurs facteurs :

- **L'effet osmotique** : le miel est une solution sursaturée de sucre (hypertonique). L'hypertonie provoque la lyse des bactéries par déshydratation et inhibe la croissance des bactéries avant d'induire leurs morts.
- **Le pH faible** : un pH acide est un milieu défavorable au développement de la plupart des germes.
- **Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂** : L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène (**Brudzynski, 2006**).

L'enzyme glucose-oxydase (sécrétée par les glandes hypo pharyngiennes de l'abeille) forme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (aux propriétés antiseptiques) par oxydation de glucose et la catalase scinde le peroxyde en eau et dioxygène comme suit (**Bogdanov et Blumer, 2001**).



- **Les facteurs non peroxydes** : On trouve le méthylglyoxal, la bee-defesin, composés polyphénoliques, des flavonoïdes.

CHAPITRE III.

LE POLLEN



3.1. Définition

Le terme pollen dérive du grec : «palé», qui désignait à la fois la farine et la poussière pollinique. Il constitue chez les végétaux supérieurs l'élément mobile mâle des plantes à fleurs que l'on peut définir d'une manière imagée comme une sorte de « sperme végétal ». Le grain de pollen produit les gamètes mâles : c'est donc le gamétophyte mâle des plantes à graines. Il représente une multitude de corpuscules microscopiques contenus dans les sacs polliniques de l'anthere à l'extrémité des étamines de la fleur (**Donadieu, 1982 ; Jeans-Prost et Medori, 2005**). Le pollen se présente sous forme de « pelote » ; une pelote pèse de 20 à 25mg ; elle contient de 3 à 4 millions de grains de pollen. La couleur, l'apparence, l'odeur, le goût et la composition du pollen varient fortement selon l'origine florale (**Bogdanov et al., 2004**). Le pollen est l'aliment prépondérant de la colonie, la régularité et l'ampleur de ses apports conditionnent la ponte de la reine et donc la vitalité de la ruche (**Clément, 2014**), et pour cette raison les apiculteurs l'appellent communément « pain d'abeille » (**Vaissiere, 2002 ; Leblanc et al., 2009**).

3.2. Structure et forme du pollen

- « **Autant de fleurs différentes, autant de pollens différents** » c'est-à-dire que selon l'origine botanique, il existe pour chaque pollen des différences sur le plan d'aspect ainsi que la couleur. En général, un grain de pollen mesure de 2,5 à 220 microns (**Donadieu, 1982**), l'examen microscopique permet d'identifier sa famille, son genre, son espèce végétal (**Agromisa Fondation, 2005**) et le fait apparaître sous une forme sphérique ou ovoïde enrobé. La couleur du pollen est variable d'une plante à une autre. Elle peut aller du jaune très pâle jusqu'au noir en passant par le marron.

Il est constitué d'une membrane ou sporoderme composée d'une enveloppe complexe formée de deux couches :

- une couche extérieure ou l'exine est une enveloppe dure qui protège parfaitement l'élément fécondant ;
- Une couche intermédiaire entre la cellule et l'exine. c'est pourquoi elle a été appelée intine, qui offre une protection mécanique contre l'écrasement (les pollens apicoles) (**Richard et al., 2012**) ;



- la cellule possède deux noyaux, le végétatif et le reproducteur (**Robert Andrian, 2017**).

3.3. Origine et pollinisation

3.3.1. Origine

Le pistil et les étamines sont les organes reproducteurs des fleurs. Les étamines représentant les organes mâles situées autour du pistil, composées par le filet et l'anthère. C'est l'anthère, portion terminale renflée de l'étamine, qui renferme dans les sacs polliniques le pollen, de grosseur et de forme variable (**Donadieu, 1982**).

3.3.2. La pollinisation

Au moment de la floraison, l'anthère s'ouvre et laisse s'enfuir le pollen de ses loges, qui devra atteindre le stigmate du pistil afin de féconder les ovules qui se transforment en graines (**Chauvin, 1968**).

- Si le pollen tombe sur le pistil de la même fleur, il s'agit de la pollinisation directe, qui entraîne l'autofécondation.
- S'il est transporté sur le pistil d'autres fleurs c'est la pollinisation indirecte, qui assure la fécondation croisée. Le pollen transporté par les insectes (pollen entomophile) et celui transporté par le vent (pollen anémophile).

3.4. La Récolte

3.4.1. Par l'abeille

Le pollen est récolté par les abeilles au cours du butinage principalement à la fin de l'hiver et au printemps. En effet, les butineuses sont parfaitement équipées, pour recueillir cette fine poudre (**Jean-prost, 1987**).

Les abeilles agglomèrent les grains microscopiques, façonnant ainsi par addition de sécrétions salivaires et d'une certaines quantités de nectar, d'environ 7 à 8 mg de pelotes. Une paire de pelote pèse 20 mg, et une ruche a besoin de 20 à 60 kg de pollen par an. Ce dernier est entreposé dans les alvéoles qui se trouvent autour du couvain, Il est tassé par les ouvrières et subit une fermentation lactique pour qu'il se conserve mieux (**Frankckh-kosmos, 2003**).

3.4.2. Par l'homme

La récolte se fait par un appareil nommé : Trappe à pollen ,c'est une grille qui retient les pelotes accrochées aux pattes des abeilles lorsque celles-ci rentrent à la ruche, et puis ces



pelotes sont recueillis dans des tiroirs placés sous les trappes et cela journallement, ou au maximum tous les 2 ou 3 jours selon les conditions climatiques locales, les tiroirs sont ensuite vidés dans une boîte rigide ou dans un sac de plastique, nettoyés sommairement et remis en place (Donadieu, 1982 ; Jean-prost, 1987 ; MariekeMutsaers, 2005).

3.5. Conservation

Pour assurer une bonne conservation du pollen, il faut procéder à plusieurs opérations successives :

3.5.1. Le séchage

Les pelotes du pollen doivent être séchées tout de suite après la récolte, on procède à un séchage artificiel avec un séchoir ou l'opération dure plusieurs heures à 40° C.

3.5.2. Le triage

Afin d'éliminer les petites impuretés susceptibles de se trouver dans le pollen (ailes, pattes, ou parties d'abeilles). Le triage de petits lots se pratique à la main, avec une pincette, en revanche les spécialistes emploient des appareillages très élaborés (du type Tarare) permettant de traiter de plus grandes quantités à la fois.

3.5.3. Le stockage

Il convient de conserver le pollen dans un endroit sombre et sec, afin de lui garder toute ces vertus et le stock dans des récipients divers (fûts, seaux, sacs en matière plastique neutre, etc.) parfaitement clos et étanches pour éviter toute reprise d'humidité.

3.6. Composition

Stimulant, tonifiant, Le pollen renferme de façon très complète tous les éléments indispensables à la vie des organismes du règne animal et végétal, élément agissant en harmonie naturel et en synergie.

- La teneur en eau est en moyenne de 10 à 12% pour le pollen frais et de 4% pour le pollen asséché (Donadieu, 1983) ;



- Les glucides représentent environ 35% du poids total du pollen (**Donadieu, 1983**) ;
- La fraction lipidique du pollen varie en quantité (de 1 à 20 % du poids à sec) ;
- Les protides représentent 20% dont une grande partie se repère sous forme d'acides aminés qui sont soit à l'état libre (en majorité), soit à l'état combiné (**Donadieu, 1982**) ;
- Vitamines et minéraux : vitamines du groupe B, ainsi que la vitamine C. Il contient aussi un large éventail de substances minérales et oligo-éléments.
- Substances divers : telle que la rutine, certaines substances antibiotique, bactériostatique, des hormones de croissances (gibbérellines). On y trouve aussi des flavonoïdes, des pigments, des arômes et des huiles volatiles (**Donadieu, 1982 ; Domerego, 2006**).

3.7. Propriétés thérapeutiques

3.7.1. Action antibactérienne du pollen

Le pollen serait un élément protecteur, s'opposant au développement de certaines variétés microbiennes (**Dextreit, 1963**), ce qui a été montré selon certaines études que les extraits d'éthanol de pollen ont une activité antibiotique assez forte et efficace sur l'agent pathogène des bactéries gram positives humaines (comme les *Staphylococcus aureus*) et les bactéries gram négatives (notamment *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), cette activité est due au flavonoïde et acide phénolique que contient le pollen l'activité antibactérienne du pollen est comme celle du miel, liée à sa teneur en glucose oxydase (**Jean-prost, 1987**).

3.7.2. Action tonifiante, stimulante et métabolique du pollen

Le pollen renferme des effets régulateurs agissant à différents niveaux et possédant une triple action au plan : de la croissance, de l'équilibre organique et de l'énergie vitale (**Andreani, 2017**).

3.7.3. Action dépurative et anti-oxydante

Le pollen possède des intérêts majeurs dans la prévention des maladies due à sa richesse en composés qui sont essentiellement les polyphénols.



3.7.4. Action digestive et anti-inflammatoire du pollen

Permet la régulation des fonctions intestinales, Le pollen joue alternativement un rôle dans le réveil d'un transit paresseux et dans le traitement de la diarrhée grâce à ces propriétés antibiotiques (**Jean-prost, 1987 ; DomeregoRoch, 2006**).

3.7.5. Action cardio-vasculaire du pollen

Le pollen participe à l'établissement d'un équilibre et d'un bien être, cardiaque et vasculaire. Il contribuerait à la régénération du sang, notamment en augmentant le taux d'hémoglobine (**Dextreit, 1963**).

3.7.6. Action sur le système neuropsychique

Le pollen possède une propriété qui aide à la réalisation de l'équilibre nerveux (**Dextreit, 1963**).

3.7.7. Action sur L'appareil génito-urinaire

Traitement des troubles de la prostate, de la cystite à colibacilles (**Donnadieu, 1982**).



CHAPITRE IV.

GENERALITES SUR *E. COLI*



Chapitre IV .GENERALITES SUR E COLI

4.1. Définition

Escherichia coli, aussi mentionnée comme *E. coli* ; c'est une bactérie qui a été découverte en **1885** par **Théodore Escherich**, son nom actuel a été proposé en 1919 pour reclasser une espèce préalablement connue sous les noms de « *Bacterium coli commune* », de « *Bacillus coli* » ou de « *Bacterium coli* » (**Grimont, 1987**).

Le genre *Escherichia* regroupe cinq espèces : *E. blattae*, *E. coli*, *E. fergusonii*, *E. hermanii* et *E.vulneris*. Chaque espèce d'*Escherichia* possède des caractéristiques biochimiques spécifiques, permettant de les différencier(**Montet, 2009**).

4.2. Classification

L'espèce *Escherichia coli* appartient au genre *Escherichia* de la famille des *Enterobacteriaceae* qui a son tour fait partie de l'ordre des *Enterobacteriales*, du règne des bactéries (*bacteria*) (**Bergy et Holt, 1994**).

4.3. Morphologie

E. coli est un bacille, de forme cylindrique (bâtonnets) ou Cocco bacillaire, gram négatif uniformément coloré, de 2µm à 4µm de long sur 0.4 à 0,6µm de large, non sporulé, isolé ou groupé en diplocoque (diplobacilles), très rarement ils sont rencontrés en amas. Ils sont mobiles avec une structure flagellaire péritriche(**Payne, 1988**).

4.4. Structure antigénique

Les principaux antigènes des *Escherichia coli* sont :

- **Les antigènes O** : L'antigène O est déterminé par amplification de groupes de gènes *rfb* (*replication fork barrier*).
- **Les antigènes H** : les techniques reposent sur l'amplification et la restriction du gène *fliC* (*C flagellin*).
- **Les antigènes K** : il s'agit des antigènes K qui sont désignés par les lettres L, A et B (**Alain et Bernard**)

4.5. Habitat

La bactérie *E. coli* est considérée comme un hôte normal non pathogène c'est-à-dire, commensal de la microflore digestive de l'homme et de la plupart des animaux à sang chaud (carnivores, omnivores, herbivores et oiseaux)(**Gordon et Cowling, 2003**).



Chapitre IV .GENERALITES SUR E COLI

4.6. Caractères culturels et biochimiques

E. coli est aérobie anaérobie facultatif, capable de croître sur des milieux ordinaires en 24h à une température optimale de 37°C, et aussi elle pousse sur des milieux sélectifs tels que Mac-conkey et Hektoen (Catherine, 2007).

Selon Guechi (2002) environ 70% des souches mobiles donnent les caractères suivants :

- Gaz en glucose positif en général.
- Production d'indole positif.
- Lactose, mannitol, sorbitol positif.
- B-galactosidase (ONPG) positive.
- Phénylalanine-désaminase, uréase, oxydase, gélatinase, malonate, inositol, H₂S, citrate de Simmons négatifs.
- Rouge de méthyle positif.
- Vogues Proskauer (VP) négative.

4.7. Pouvoir pathogène

Certaines bactéries d'*E. Coli* peuvent acquérir des facteurs de virulence particuliers et donner soit des pathologies extra-intestinales (méningites, infections urinaires) soit des pathologies intestinales. (Tenailonnet *al.*, 2010).

Parmi les *E. coli* intestinaux, 6 pathovars intestinaux ont été décrits selon la base des signes cliniques observés et des facteurs de pathogénicité exprimés : *E. coli* entéropathogènes (EPEC), *E. coli* entéroinvasifs (EIEC), *E. coli* entéroagréatifs (EA_{agg} ou EAEC), *E. coli* entérotoxigènes (ETEC), *E. coli* à adhésion diffuse (DAEC) et *E. coli* entérohémorragiques (EHEC) (Baylis *et al.*, 2006 ; Catherine B, 2007).

4.8. Facteurs de virulence

Les *E. coli* du groupe APEC (avian Pathogenic *E. coli*), responsables des colibacilloses aviaires, possèdent des facteurs de virulence parmi lesquels on peut citer :

- Une capsule qui s'oppose à la phagocytose.
- Des protéines de la membrane externe et le LPS donnant aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte en s'opposant à la fixation du complément.



Chapitre IV .GENERALITES SUR E COLI

- Des systèmes de captation du fer (les sidéro_phores), fournissant aux bactéries le fer indispensable à leur multiplication.
- Des adhésines, qui confèrent aux souches qui les possèdent la propriété de se fixer aux cellules épithéliales.
- Des toxines (l'endotoxine, les entérotoxines, les cytotoxines, l'hémolysine) (**Baylis et al., 2006**).

4.9. Résistance aux antibiotiques

Les *E. coli* pathogènes aviaires (APEC) provoquent de nombreuses pertes économiques suite aux mortalités embryonnaires et du jeune poussin. Aucun vaccin efficace n'est disponible pour l'instant et l'antibiothérapie ciblée est le seul moyen de lutte contre les colibacilloses aviaires malgré l'incidence croissante des résistances comme les résistances aux β lactamine (**Chao et al., 2006**).

II. PARTIE
EXPERIMENTALE

CHAPITRE I.

MATERIEL ET METHODES



1.1. Matériel et méthodes

1.1.1. Lieu et période de travail :

Notre travail a eu lieu

- Au laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires de Tiaret.
- Au laboratoire de technologie alimentaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ibn Khaldoun Tiaret. .

Il s'est étalé sur une période de quatre mois (février - Mai 2019).

1.1.2. Matériel

1.1.2.1. L'échantillonnage

Le matériel végétal qui a servi pour les différentes analyses et techniques était constitué :

- Deux échantillons du miel ; le **MC** (miel de jujubier /cèdre); provenant de la région Ain deheb –Tiaret. Le **ML** (miel d'euphorbe/loubaina) originaire de la wilaya d'el Bayad.
- Un échantillon de **pollen (P)** (frais) originaire de la wilaya de Blida. Il a été stocké dans un récipient en plastique parfaitement clos et étanche pour éviter toute reprise d'humidité et conservé au réfrigérateur.
- **Propolis** : deux échantillons ont été obtenu; la **P6** auprès d'un apiculteur de la wilaya de Tiaret et la **P10** provient du sud algérien.les échantillons sont stockées dans de petits flacons hermétiquement fermés, et à l'abri de la lumière.

1.1.2.2. Matériel biologique

L'activité antibactérienne du miel, de la propolis et du pollen a porté sur quatre isolats notées R1, R4, R16 et F1 de la souche bactérienne, *E. coli aviaire*. Ces quatre isolats appartiennent à la collection du Laboratoire de pathologie aviaire de l'institut vétérinaire de Tiaret. Elles ont été isolées à partir des poulets atteintes de la colibacillose provenant de deux régions Tiaret et Tissemsilt.



1.1.2.3. Matériel et consommables de laboratoire

La verrerie, l'appareillage et les produits utilisés dans notre étude pour les différentes méthodes sont illustrés dans le tableau N°01

Tableau N°01 : Matériel et consommables utilisés pour les différentes méthodes des analyses physicochimiques, la confirmation des souches et l'activité antibactérienne.

Appareillage	Consommables, verreries et autres	Solutions, milieux et réactifs
<ul style="list-style-type: none"> -Spectrophotomètre (Shimadzu). - Incubateur (Memmert). - Balance analytique (OHAUS). - Microonde (LG). - Agitateur (vortex). - Autoclave. -Minuteur. -Agitateurélectromagnétique. Balance analytique- (KERN) pas +120g -Etuve (310/MAX) -PH-mètre (SCHOTTERATE CG6822) -Conductivimètre -Four a moufle (HERAEUSinstrumnt) -Microscope optique. 	<ul style="list-style-type: none"> - Boîtes de pétrie (60mm). - Ecouvillons. - Seringues de 5ml et 1ml. - Tubes à essais. - Flacons en verre de 180 ml. - Pipettes pasteur. - Bêchers de 1000ml; -Verre de montre. -Capsule de pesée. -Compte –g. -Pissettes. -Spatule. - Bain marie (GFL). - Bec bunsen. -Dessiccateur -Fiole jaugée -Burette de 25 ml -Entonnoir -Barreau magnétique - Lames. 	<ul style="list-style-type: none"> -Eau distillé stérile. -Mueller-Hinton (Annexe N°05) -Solution tampons -Hydroxyde sodium (0.05N) NaOH -Phénophtaléine(C₂OH₁₄O₄) - Chlorure depotassium (Kcl) -Mac Conkey. -Violet de gentiane. -Fuchsine de ziehl. -Lugol. -Huile a émersion. -Alcool 70°. -Eau distillée. -Eau physiologique 0.9 %. -Disques d'oxydase. -Réactif Kovac,(bio Mérieux ; France) -Réactif TDA,(bio Mérieux ; France) -Réactif VP1, VP2 (institut pasteur d'Algérie). -Galerie Api 20 E.



1.2. Méthodes

1.2.1 Protocol expérimental

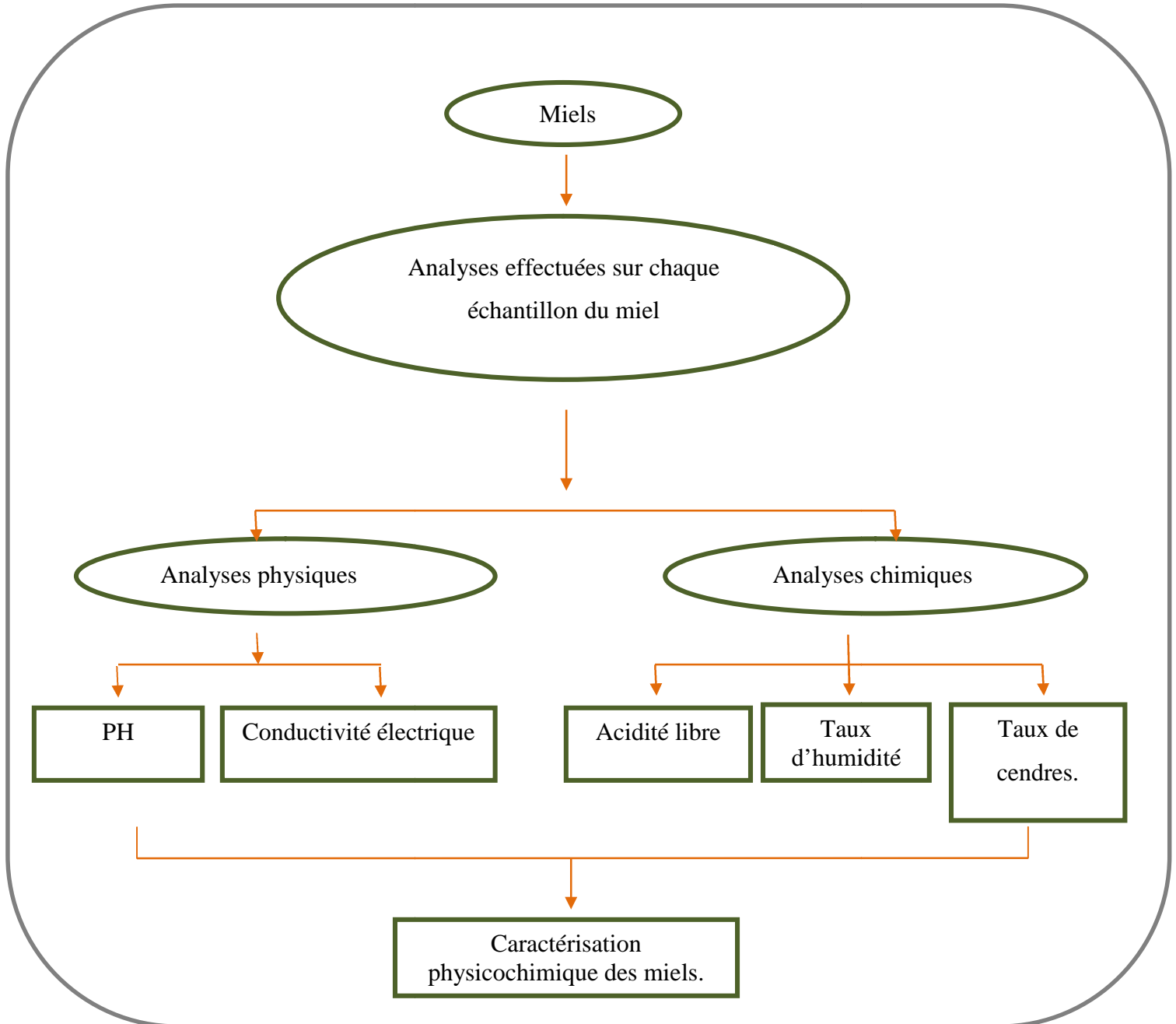


Figure N°02 : Les différentes analyses physicochimiques du miel.



1.3. Analyses physicochimiques

1.3.1. Taux d'humidité (AOAC,2000)

L'humidité est mesurée en déterminant la perte de poids de l'échantillon après son séchage dans l'étuve à une température déterminée.

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 min à 105°C ;
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;
- Peser dans une capsule 5g de chaque échantillon, et les placer dans l'étuve à 105°C pendant 3heures ;
- Retirer les capsules de l'étuve, les laisser refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.



Figure N°03 : Détermination de la teneur en eau (photo personnelle

2019)

1.3.2. Taux de cendres (CODEX, 1977)

Cette méthode a pour objet de déterminer la teneur en cendres, qui sont les résidus de la destruction de la matière organique après incinération.

➤ Mode opératoire

- Peser 3g de chaque variétés du miel dans des capsules en porcelaine calcinées et tarées ;
- Pour éviter la production de la mousse, carboniser les échantillons à l'aide d'un bec bunsen ;
- Placer les échantillons dans un four a moufle à 550°C pendant 3 heures, jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre ;
- Retirer les capsules du four et les mettre à refroidir dans le dessiccateur, puis les peser.



**Figure N°04 : Détermination de la teneur en matière minérale(photo
Personnelle 2019).**

1.3.3. Conductivité électrique

conductivité électrique est mesurée à 20°C d'une solution à 20% de matière sèche et effectuée à l'aide d'un conductimètre avec électrodes.

La détermination a été effectuée selon le **Journal Officiel de la République Française, 1977.**

➤ Mode opératoire

- Verser le miel dans un bécher;
- Etalonner l'appareil avec la solution de chlorure de potassium (KCl 0.1N) ;
- Plonger les électrodes dans la solution ;
- Faire la lecture lorsque la température est à 20°C.

1.3.4. Détermination du pH

C'est la mesure du potentiel hydrogène d'une solution à 10% à l'aide d'un pH- mètre. le PH mètre est étalonné avant son utilisation. La détermination a été effectué selon la norme du CODEX n°77-79 (**CODEX, 1977**).

➤ Mode opératoire

- Verser la solution dans un bécher ;
- Etalonner l'appareil avec deux solutions tampons (pH=07 et pH=04) ;
- Plonger l'électrode dans le bécher, la valeur du pH s'affiche au potentiomètre.



1.3.5. L'acidité libre

L'acidité libre est obtenue par la neutralisation de 25 ml de cette solution avec NaOH (Amrietal.,2007).

➤ **Mode opératoire**

- Remplir la burette avec une solution d'hydroxyde de sodium NaOH à 0.05N.
- Placer le bécher contenant les 25,0 ml de solution de miel en dessous de la burette et mettre en marche l'agitateur magnétique en versant 3 à 4 gouttes de l'indicateur coloré phénophtaléine.
- Titree cette solution avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) et noter le volume d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le virage de la couleur.



1.4. Analyses microbiologiques

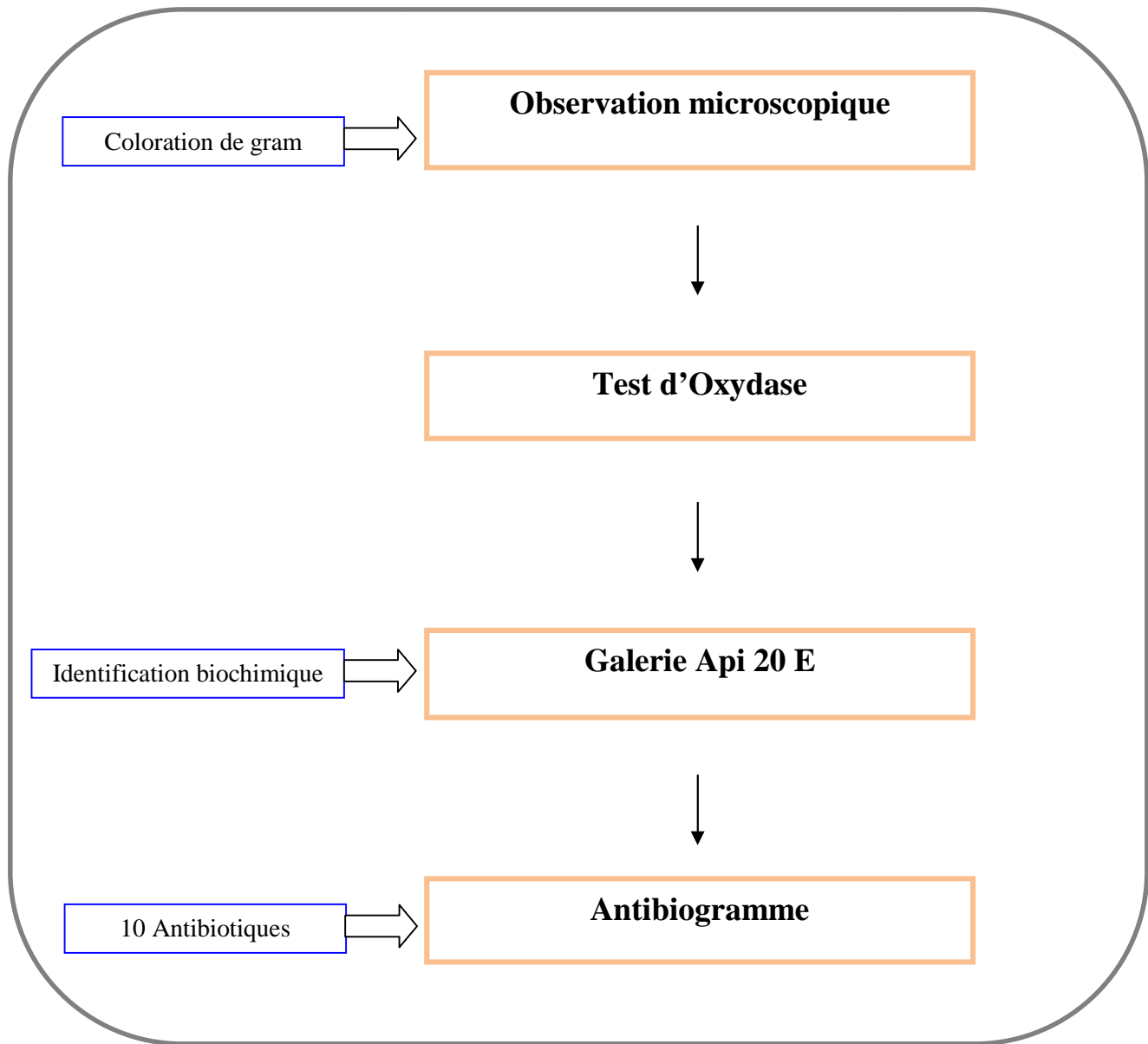


Figure N°05 :

Protocol expérimentale de la confirmation des isolats et antibiogramme.



Chapitre I .MATERIEL ET METHODES

Afin d'évaluer in vitro l'activité antibactérienne des différents échantillons (miel, pollen et propolis) vis-à-vis les bactéries d'*E. coli* aviaire pathogènes ; quatre isolats (R1, R4, R16, et F1) de la même souche bactérienne sont utilisés à cette fin (tableau n°02)

Tableau N°02 : Les quatre isolats étudiés

Code	Prélèvement	Groupe bactériens	Souches bactériennes
F1	Foi	Gram-	<i>Escherichia coli</i> , Isolat F1 CH
R16	Rate	Gram-	<i>Escherichia coli</i> , Isolat R7pc16
R1	Rate	Gram-	<i>Escherichia coli</i> , Isolats R7 pc1
R4	Rate	Gram-	<i>Escherichia coli</i> , Isolat : R7 pc4

1.4.1. Confirmation des souches

1.4.1.1. Observation microscopique (coloration de Gram)

La coloration de Gram a été effectuée selon le protocole décrit par **Prescott et al(2003)**

- **Mode opératoire**
- Réaliser un frottis et le fixer à la flamme
- Couvrir le frottis avec du cristal violet et laisser en contact 1 minute; Laver l'excès du colorant avec de l'eau distillée.
- recouvrir le frottis de Lugol et laisser agir pendant 30 secondes ; Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Rincer immédiatement le frottis à l'alcool jusqu'à disparition complète de la coloration violette ; Laver à l'eau distillée pendant 5 secondes.
- Recouvrir la préparation de Fushine, laisser agir environ 3 min. lavez abondamment. puis sécher entre deux feuilles de papier essuie-tout.



- Déposer une goutte d'huile à immersion sur le frottis et observer au microscope Optique à un fort grossissement (à l'objectif X 100). Lecture : bactéries Gram négatif (coloration rouge), bactéries Gram positif (coloration violet).

1.4.1.2. Test d'Oxydase (Joffin et Leyral, 2005)

- Le test d'oxydase est à la base de l'identification des bactéries Gram -. Il consiste à mettre en évidence la capacité de la bactérie testée, à oxyder la forme réduite incolore de dérivés N-méthylé du paraphénylène diamine, en leurs formes oxydées semi-quinoniques rose-violacées.

1.4.1.2.1. Technique

- Sur une lame de verre, déposer un disque imprégné de N-diméthyl-p-phénylène diamine et l'humidifier avec quelques gouttes d'eau distillée stérile.
- A l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, fixer sur le disque une fraction de colonie (culture de 18-24 heures).

1.4.1.2.2. Lecture

- Une réaction positive se traduit par un virage rapide (10 à 15 secondes) du réactif de l'incolore au rose-violacées. Si la colonie reste incolore, le test est négatif.

1.4.1.3. Identification biochimique par galerie Api 20 E

- Les cultures présentant des coccobacilles à Gram négatif, oxydase négative ont été identifiées à l'aide de la Galerie API 20 E. c'est une galerie de 20 microtubes permettant de réaliser 23 tests biochimiques.

1.4.1.3.1. Préparation de la Galerie API 20 E

- Réunir fond et couvercle d'une boîte d'incubation et répartir environ 5ml d'eau distillée ou déminéralisé dans les alvéoles pour créer une atmosphère humide.
- Incrire la référence de la souche sur languette latérale de la boîte.
- Sortir la galerie de son emballage et la placer dans la boîte d'incubation.



1.4.1.3.2. Préparation de l'inoculum (Annexe n°06)

1.4.1.3.3. Inoculation de la Galerie

- Introduire la suspension bactérienne dans chaque tube à l'aide d'une pipette Pasteur stérile, pointe appuyée à l'intérieur et sur le côté pour éviter la formation de bulles
- Remplir de suspension le tube et la cupule des tests : CIT, VP et GEL
- Remplir uniquement les tubes et non les cupules des autres tests.
- Créer une anaérobiose dans les tests : ADH, LDC, ODC, URE, H₂S en remplissant leur cupule d'huile de paraffine. Refermer la boîte d'incubation et la placer à 37°C pendant 18 à 24 Heures.

1.4.1.3.4. Lecture de la Galerie

- Les réactions produites pendant la période d'incubation (18h-24h à 37C°) se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs.

1.4.1.4. Antibiogramme (CLSI, 2008)

L'étude des profils de la sensibilité aux antibiotiques des souches isolées a été effectuée par l'établissement d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (méthode des disques), sur gélose Mueller-Hinton selon la méthode recommandée par l'OMS et répondant aux critères définis par le Clinical and Laboratory Standards Institut et standardisées depuis 1999 en médecine vétérinaire en Algérie.



Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau suivant :

Tableau N°03 : Antibiotiques utilisés.

Famille	Antibiotiques	Code	Charge (µg)
Bétalactamines	Amoxicilline +Acide clavulanique	AMC	30
	Ampicilline	AMP	10
Aminosides	Gentamicine	CN	10
	Kanamycine	K	30
Sulfamides et associés	Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	COT	25
Tétracyclines	Tétracyclines	TE	30
Quinolones	Acide nalidixique	NA	30
	Enrofloxacin	ENR	5
Polypeptides	Colistine	CT	10
Phénicolés	Chloramphénicol	C	30

1.4.1.4.1. Technique

La gélose Mueller Hinton est fondue au bain marie puis coulée dans des boîtes de pétrie de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm et séchées avant l'emploi, après dessèchement. Les boîtes de pétrie sont ensuite ensemencées avec l'inoculum bactérien (**Annexe n°06**) par étalement à l'aide d'un écouvillon stérile. En suite les disques d'antibiotiques sont déposés à l'aide d'une pince stérile à la surface de la gélose avec une légère pression sur chaque disque. Les boîtes de pétrie sont mises en incubation dans un étuve à 37°C pendant 24 heures.



1.4.1.4.2. Lecture

Après cette période d'incubation, Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés à l'aide d'une règle, à l'extérieur de la boîte fermée.



1.5. Activité antibactérienne

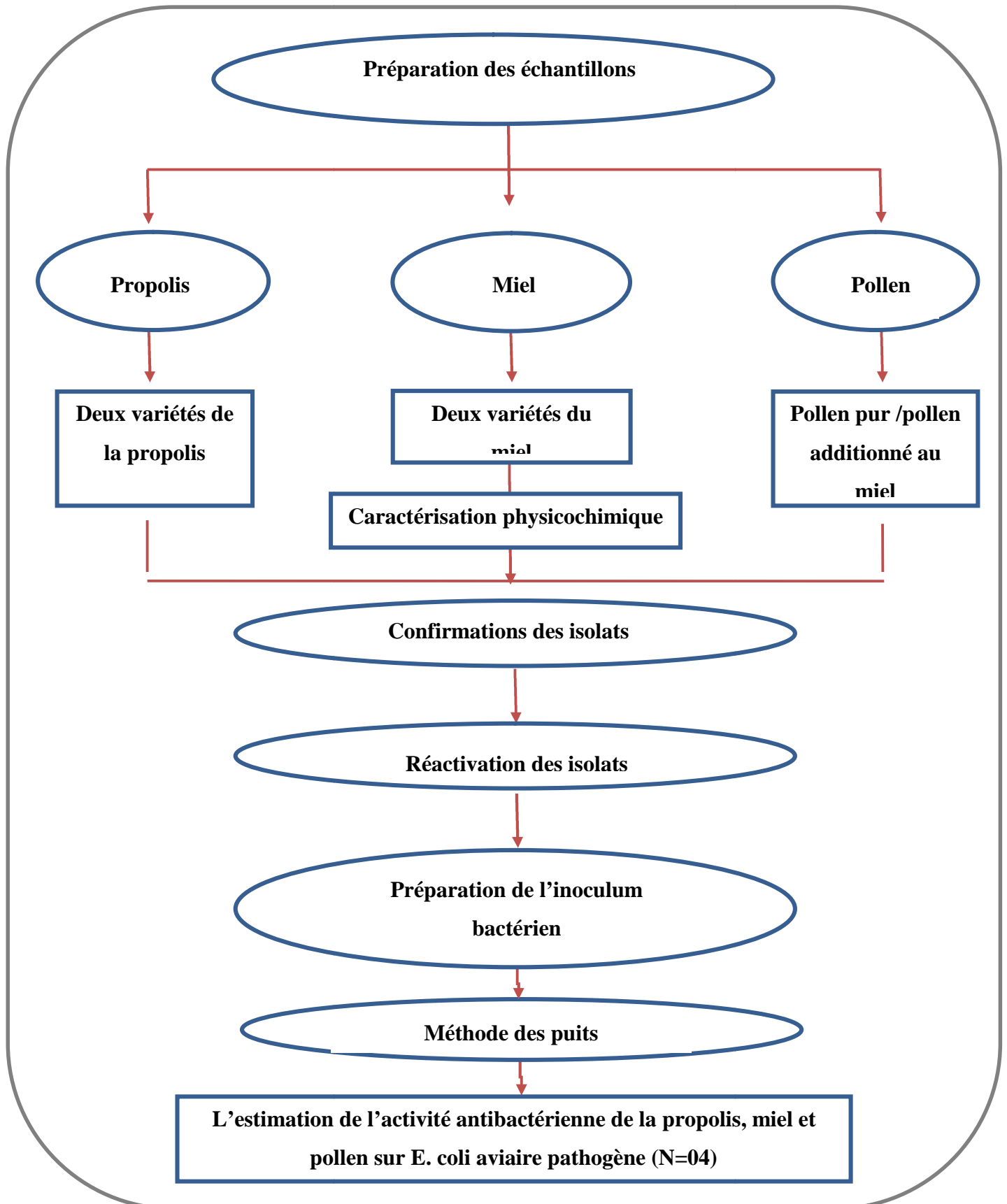


Figure N° 06 : Schéma du Protocol expérimental.



1.5.1. Préparation des échantillons

1.5.1.1. Préparation des concentrations du miel

Pour tester l'activité antibactérienne sur les quatre isolats, quatre concentrations ont été préparées : **25%, 50%,75%, 100%**(Nair, 2014).,la préparation de ces concentrations est présentée dans le tableau N°04 et la figure N°07

Tableau N°04 : Préparation des concentrations du miel.

Dilution %	25%	50%	75%	100%
Le miel (g)	1.75	2.5	3.25	5
L'eau distillée stérile (ml)	3.25	2.5	1.75	0

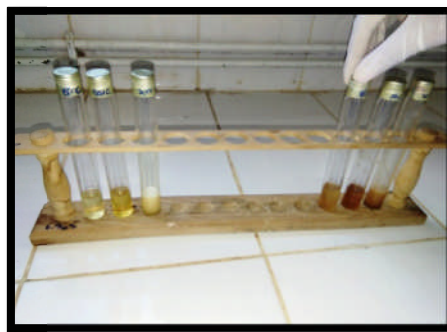


Figure N°07 : Concentration du miel (ML, MC) (photo personnelle 2019).

1.5.1.2. Préparation des concentrations de la propolis

La propolis (P6, P10) a été incluse dans le milieu de culture aux concentrations suivantes :**5%, 10%, 20%, 30%** (Boudra et al., 2019).

Tableau N°05 : Préparation des concentrations de la propolis.

Dilution %	5%	10%	20%	30%
L'extrait éthanolique(g)	0.5	1	2	3
DMSO (ml)	9.5	9	8	7



Figure N°08 : Concentration de la propolis (P10) (photo personnelle 2019).

1.5.1.3. Préparation du pollen

- A l'aide d'une spatule, une petite quantité de pollen a été écrasé jusqu'à l'obtention d'une poudre très fine.
- Dans une boîte de pétri un mélange pollen-miel (**MC-ML**) a été préparé avec des quantités similaires (1g de pollen et 1 g de miel) pour tester leur effet combiné, Le mélange est laissé en contact à 37° pendant 15 minutes afin d'assurer l'homogénéité des deux extraits.

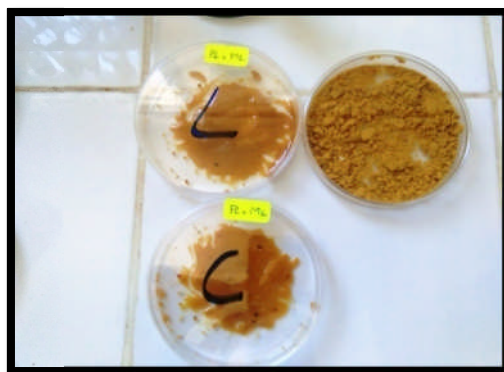


Figure N°09 : Préparation du pollen seul et additionné au miel (photo personnelle 2019).

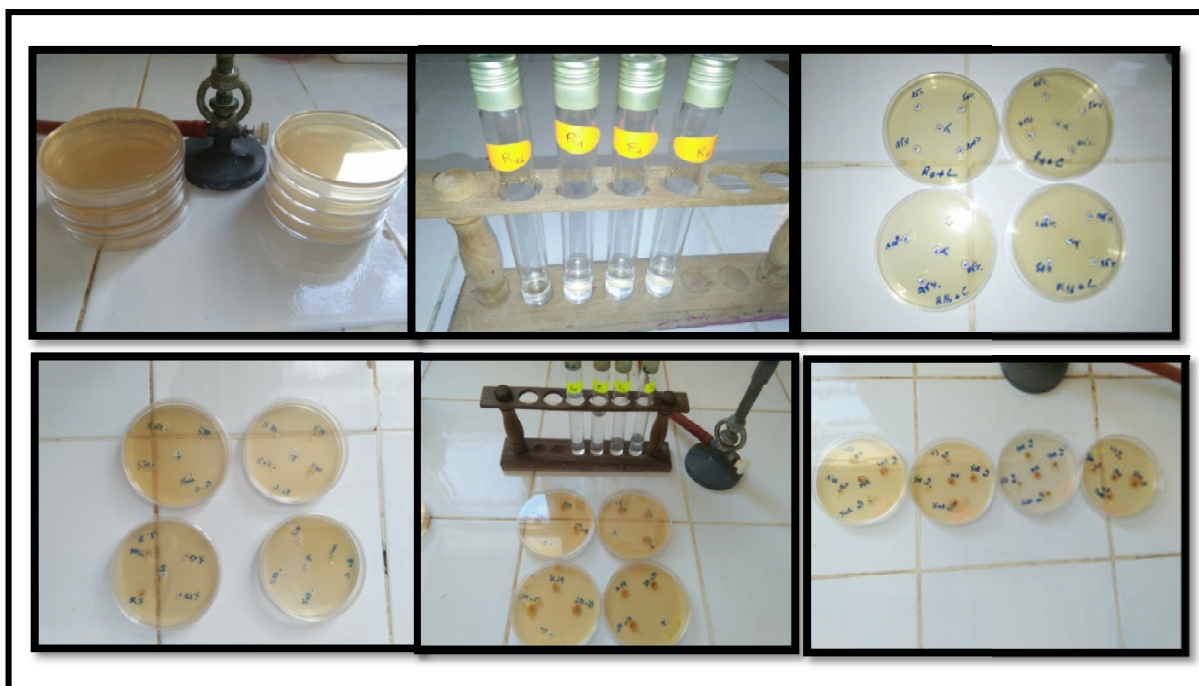


1.5.1.4. Réactivation des isolats

Les quatre isolats (R1, R4, R16,F1) sont repiquées à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide, sélectif (Mac Conkey) : La Gélose Mac Conkey est fondue dans un Microonde puis coulée dans des boites de pétri. Les boites sontensemencées ensuite refroidies et séchées pendant 20 minutes, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.



**Figure N°10 : Réactivation des isolats (photo
personnelle 2019).**



**Figure N°11 : Détermination de l'effet antibactérien du miel pollen et propolis
(photo personnelle 2019).**

1.5.2. La recherche de l'effet antibactérien du miel pollen et propolis

➤ Méthode des puits

Cette méthode est réalisée en adoptant le protocole de **Ela et al.,(1996)** pour estimer l'effet inhibiteur des trois extraits(miel, propolis, pollen) sur les quatre isolats dans le milieu Mueller-Hinton, qui une fois coulé dans des boîtes de Pétri, estensemencé avec l'inoculum bactérien(**Annexe n°06**) à l'aide d'un écouvillon stérile. L'ensemencement se fait par des stries serrées de haut en bas en répétant l'opération trois fois. Les boîtes sont ensuite laissées à 37°C pendant 15 minutes, afin de permettre une diffusion des germes. Des puits de 6 mm de diamètre sont perforés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur et sont remplis par un volume de 50µl de chaque produit à différentes concentrations:

- Les concentrations de (**25% ,50% ,75%, 100%**) du miel sont introduites dans chaque puits, ainsi que une solution d'eau distillée qui nous servira de témoin.
- Celles de la propolis, les puits sont remplis par des concentrations de (**5%,10%,20%,30%**) et un puits recevra 50µl de DMSO



Chapitre I .MATERIEL ET METHODES

- Une petite quantité du pollen pur (écrasé) est déposée à l'intérieur du premier puits, le deuxième et le troisième sont remplis par le mélange pollen-**MC**, pollen-**ML** respectivement et le quatrième par de l'eau distillée.

Après une pré-diffusion de 20 minutes à température ambiante sous l'hôte, les souches sont incubées à 37°C pendant 24 heures.

La lecture des résultats s'effectue en mesurant les auréoles d'inhibition à l'aide d'une règle.

Un extrait est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est égale ou supérieur à 8 mm (**Duraffourd et al., 1990**)

CHAPITRE II.

RESULTATS ET

DISCUSSIONS

*Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et
Antibiogramme*



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et Antibiogramme

2.1. Confirmation des isolats

Les résultats des tests de la pré-identification et la vérification des quatre isolats bactériennes utilisées sont récapitulés dans le tableau N°06 : Ces résultats confirment que les isolats **F1 R16 R4** et **R1** appartiennent à l'espèce bactérienne *E. coli*.

Tableau N°06 : la confirmation des isolats.

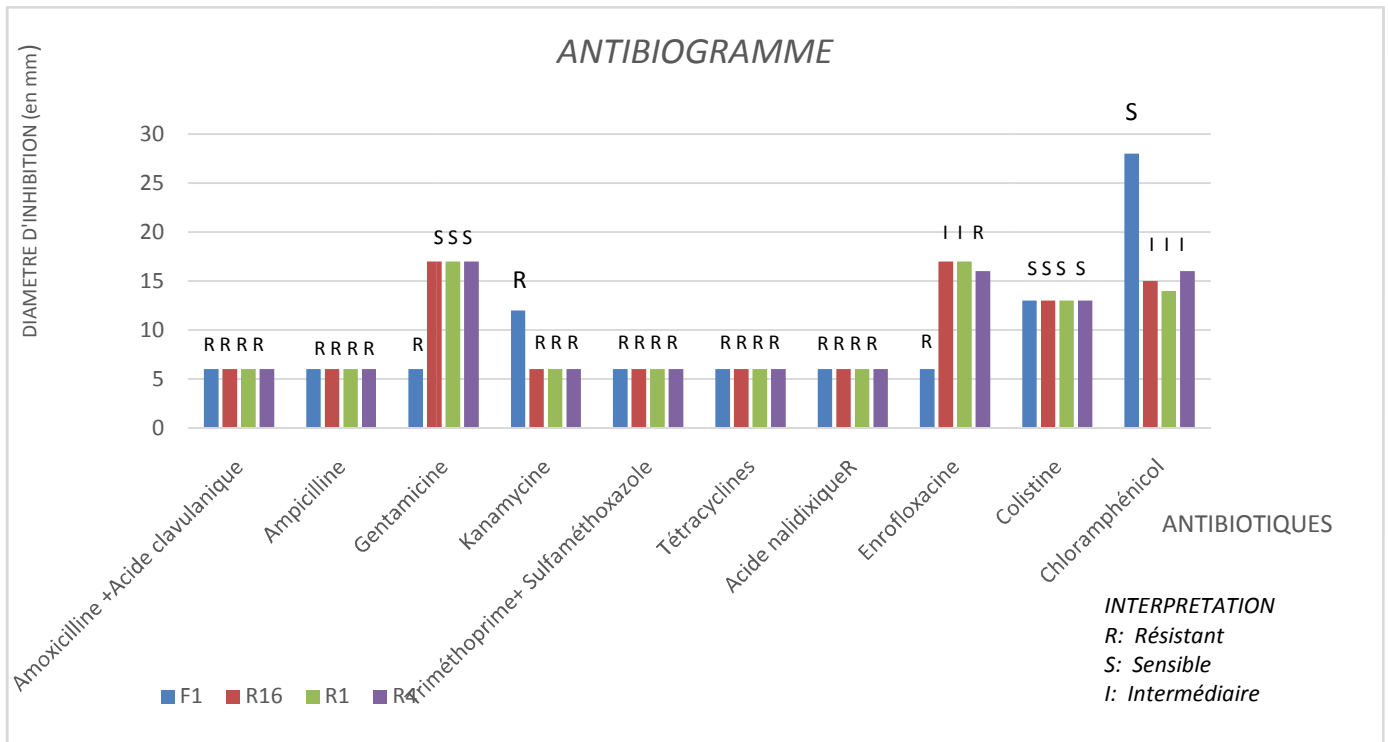
Tests de pré-identification	Revivification	Coloration de Gram	Oxydase	Galerie api 20 E
Résultat	Apparition des colonies rondes, brillantes et rosâtres sur milieu Mac Conkey	Observation microscopique (coccobacilles de couleur rose : Gram-)	Oxydase- (Pas de virage de couleur)	Les principaux caractères biochimiques sont : -absence de production d'oxydase -absence d'uréase -fermentation de lactose -production d'indole -absence de croissance sur le citrate -absence de production d'acétoïne -absence de production d'H ₂ S



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et AntibioGramme

2.2. AntibioGramme



Du graphique découle, que les quatre isolats étudiés à savoir (F1, R16, R1, R4) enregistrent des diamètres d'inhibition très différents et permettent de classer les antibiotiques en 3 groupes.

- **Le premier groupe (I)** Les antibiotiques avec un taux de résistance de 100% (résistance très élevée). L'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Ampicilline, kanamycine, Triméthoprime + Sulfaméthoxazole, Tétracyclines, l'Acide nalidixique dont le diamètre d'inhibition est égale à 6 mm sur les quatre isolats étudiés.
- **Le deuxième groupe (II)** comprend Les antibiotiques avec un taux de résistance de 50% notamment enrofloxacin (résistance moyenne ou intermédiaire)
- **Le troisième groupe (III)** contient Les antibiotiques avec un taux de (0%,21%,25%) notamment la colistine, la gentamicine, et le Chloramphénicol respectivement. (résistance très faible).

Les pourcentages de résistance à L'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Ampicilline, kanamycine, Triméthoprime + Sulfaméthoxazole, Tétracyclines, et l'Acide nalidixique, se rapprochent à ceux signalés par **Boulbair (2016)** et **Benameur et al (2016)** mais largement supérieurs à ceux rapportés par **Aggad et al (2010)**.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et Antibiogramme

La tendance de la résistance d'*E.coli* à ces antibiotiques est en augmentation qui serait probablement la conséquence de leur utilisation de façon massive et anarchique en élevage avicole, ainsi que leur grande disponibilité sur le marché algérien surtout les génériques à des prix raisonnables, et l'absence de restrictions législatives sur leur emploi à des fins thérapeutiques, et prophylactiques.

La fréquence de résistance à l'enrofloxacin est similaire à celle obtenue par **Boulbair (2016)** mais inférieure à celle rapportée par **Zoubairhamed et al (2014)** : 76.38%.

Cependant, la résistance à la gentamicine est restée faible de 25%, ces résultats sont en accord avec ceux de **d'Oukala et al (2014)**, 24%, ce qui témoigne de l'utilisation peu fréquente de ces antibiotiques dans l'élevage des volailles en Algérie comme a été mentionné par **Aggad et al (2016)**.

Aucune résistance n'a été observée pour la colistine, ces résultats concordent avec ceux obtenus par **Boulbair (2016)** et **Benameur et al (2016)**. Mais inférieure à celle signalée par **Aggad et al (2016)**, 13%. Ce faible taux de résistance reflète l'utilisation modérée de cette molécule en élevage avicole. Elle ne franchit pas la barrière intestinale et est donc inactive, sur les colibacilles systémiques (**Zoubairhamed et al, 2014 ; Boulbair, 2016**).

Enfin, Le chloramphénicol connaît un taux de résistance de 21%, il a été de l'ordre de 6% pour **Resapath France (2010)**. Ceci est expliqué par l'interdiction d'utiliser ce médicament en thérapie vétérinaire (en Algérie).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 1^{er} volet : Confirmation des isolats et Antibiogramme

2ème volet :

*les paramètres physicochimiques du
miel*



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 2^{ème} volet : Les paramètres physicochimiques du miel

Tableau N°07 : Résultats des paramètres physico-chimiques des miels (ML,MC)

	Échantillon MC	Échantillon ML	Codex Alimentarius
Taux d'humidité(%)	11.07	9.45	≤ 21
Conductivité électrique (ms/cm)	0.053	0.0313	< 0,8
Taux de cendres (%)	0.118	0.19	≤0,6
Acidité libre (meq/kg)	15	28	< 50
PH	5	4.05	Acide

2.3.1. Taux d'humidité (La teneur en eau)

Le taux d'humidité nous renseigne sur les variations de teneur en eau de chaque variété de miel collecté (tableau n°07). En effet, il oscille entre : 11.07%-9.45%

L'analyse des résultats obtenus montre que le miel MC enregistre une teneur en humidité plus élevée que celle du miel ML 11.07 %, 9.45% respectivement. Cet intervalle est dans les normes internationales préconisées par **Codex Alimentaire (2001)**, indiquant ainsi un bon degré de maturité et la bonne conservation.

La teneur en eau du miel est l'un des critères primordiaux de la détermination de la qualité du miel. Un miel trop sec montre une viscosité élevée et peut poser des problèmes lors de la cristallisation (**Moniruzzamanet al., 2014**) ; un miel trop humide risque de se fermenter. Par conséquent, l'humidité conditionne la conservation du miel (**Hummel et Feltin, 2014**).

La variation en humidité est due aux différents facteurs suivants : la teneur en eau du nectar, l'origine florale des différents miels, la saison de la récolte et le degré de la maturité atteinte dans la ruche (**Fallicoet al., 2004 ; Finolaet al., 2007**).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 2^{ème} volet : Les paramètres physicochimiques du miel

2.3.2. La conductivité électrique

La conductivité des deux miels examinés ML, MC (tableau N°07) varie de 0.0313 mS/cm à 0.053 mS/cm respectivement. Nos résultats possèdent des valeurs inférieures à 0.80 mS/cm, ce qui suggère que les miels analysés sont de nectar.

Il est à souligner que cette mesure permet de séparer les miels de nectar des miels de miellat. Les miels ayant une CE inférieure à 0,8 mS/cm sont des miels issus de nectar, tandis que ceux qui sont issus de miellats ont des valeurs supérieures à 0,8 mS/cm (**Codex alimentaire, 2001**)

La conductivité électrique (CE) apporte une indication précieuse sur l'origine botanique des miels et elle est désignée aujourd'hui lors de contrôles de routine (**Malika et al., 2005**).

La composition chimique, la variabilité de l'origine botanique, ainsi que les conditions climatiques de la région de récolte sont à l'origine de la variabilité de la Conductivité électrique des miels analysés (**Piazza et al., 1997**).

2.3.3. La teneur en cendres

Les valeurs de la matière minérale obtenue des deux échantillons du miel MC, ML (Tableau N°07) sont dans la gamme 0.118% et 0.19% respectivement, cela confirme que les miels clairs sont moins riches en cendres que les miels foncés (**Louveaux, 1996**).

Selon les normes du **Codex alimentaire (1998)**, les miels issus des nectars ont une teneur en matières minérales qui ne dépasse pas 0.6%, tandis que celle des miels de miellats est comprise entre 0.6% et 1.2%, comparativement à ces normes, nos échantillons sont des miels du nectar.

La Teneur en cendres est un critère de qualité qui détermine l'origine botanique et géographique du miel (**Belayet et al., 2013**)

2.3.4. L'acidité libre

Les teneurs en acide libre des miels (Tableau N°07) obtenues, se situent entre 15 meq/Kg et 28 meq/Kg, avec une moyenne de 21.5% ; sont dans la limite autorisée par le **Codex alimentaire (2001)** indiquant l'absence de fermentation indésirable.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 2^{ème} volet : Les paramètres physicochimiques du miel

Le miel MC représente une acidité plus faible (15 meq/Kg) que celle du miel ML (28 meq/Kg), ceci témoigne la richesse du nectar en acides organiques et d'autres sécrétions de l'abeille qui enrichissent le miel au fur et à mesure de sa formation.

D'après **Bogdanov (1999)**, l'acidité est un critère de qualité important, elle donne des indications importantes de l'état du miel, une acidité forte de milieu favorise la dégradation des hexoses en **HMF** qui déprécie la qualité du miel.

Horn et Iüllman (1992) rapportent qu'ils existent quelques sortes de miels qui ont une teneur naturelle en acide plus élevées.

2.3.5. Détermination du pH

Les valeurs du pH des miels analysés (Tableau N°07) varient entre 4.05 à 5 avec une moyenne de 4.5 Elles sont en accord avec les recommandations du **Codex alimentaire (2001)**, confirmant ainsi le caractère acide de ces échantillons.

Par ailleurs, il existe une différence nette entre les deux échantillons des miels recueillis, dont le pH du miel MC égale à 5, qui peut être issu d'un mélange de nectar et de miellat ; ainsi qu'un pH faible de 4.05 du miel ML qui correspond à des miels de nectar.

Bogdanov et al (1997) affirment que les miels issus du nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5 ; et ceux provenant des miellats se situent entre 5 et 5,5.

Un pH faible pour un miel, prédétermine un produit fragile pour la conservation, par contre un miel à pH 5 ou 5,5 se conserve mieux et plus longtemps (**Terrab et al., 2004**).

3^{ème} volet :

L'étude de l'effet antibactérien de la
propolis, du miel et du pollen



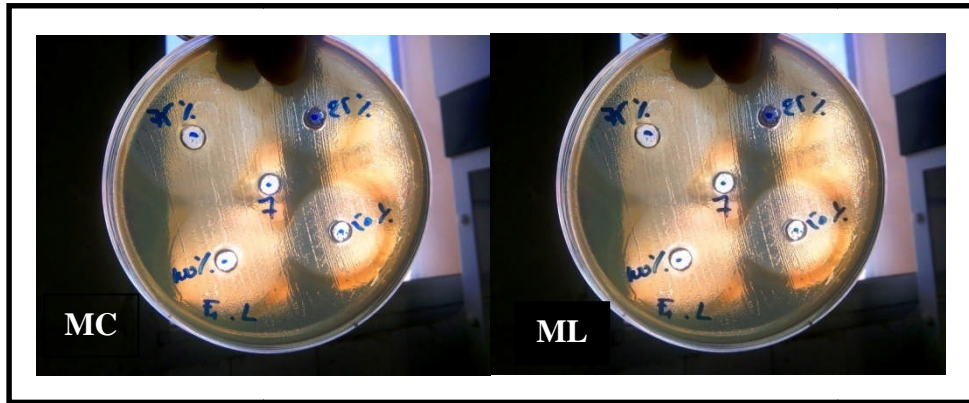
Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.4. L'effet antibactérien du miel (MC-ML)

2.4.1. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur F1

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans les figures N°13 et N°14:



**Figure N°13 :Méthode de puits (technique de diffusion)(photo
neronnelle 2019).**

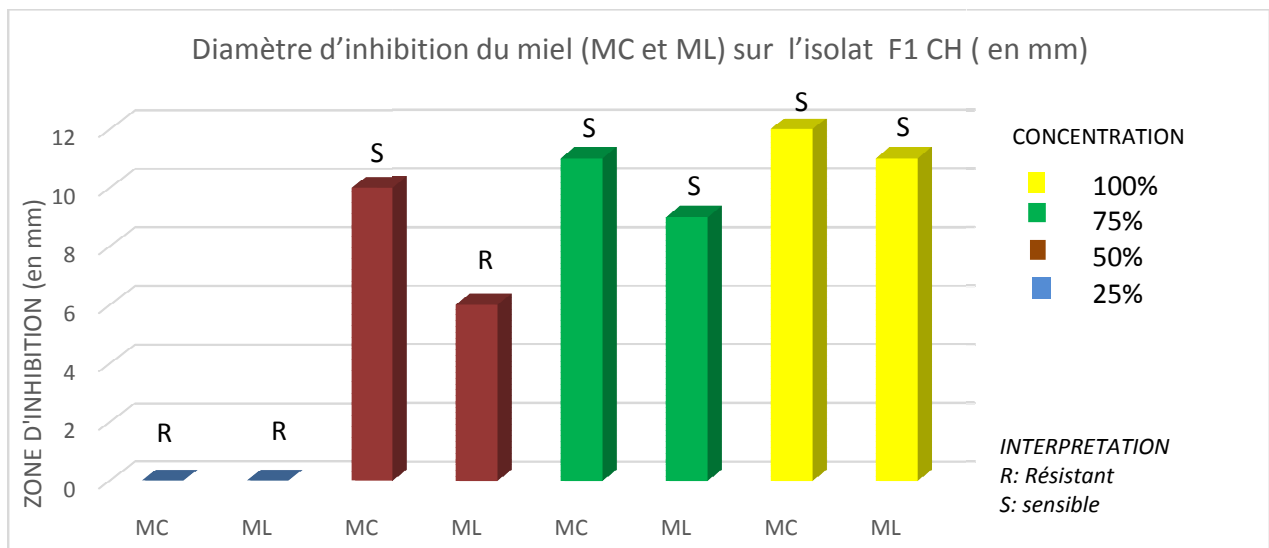


Figure N°14 : Diamètre d'inhibitiondu miel (MC et ML) sur l'isolat F1 CH (en mm).

Les résultats d'inhibition sur l'isolat F1 CH exprimés dans le graphique ci-dessus montrent qu'il est résistant à la concentration 25% du miel (ML-MC) ainsi à 50% du miel (ML) et sensible pour les concentrations 50% du miel MC, 75% et 100% du miel (MC-ML).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.4.2. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R16

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés

dans les figures N°15 et N°16:

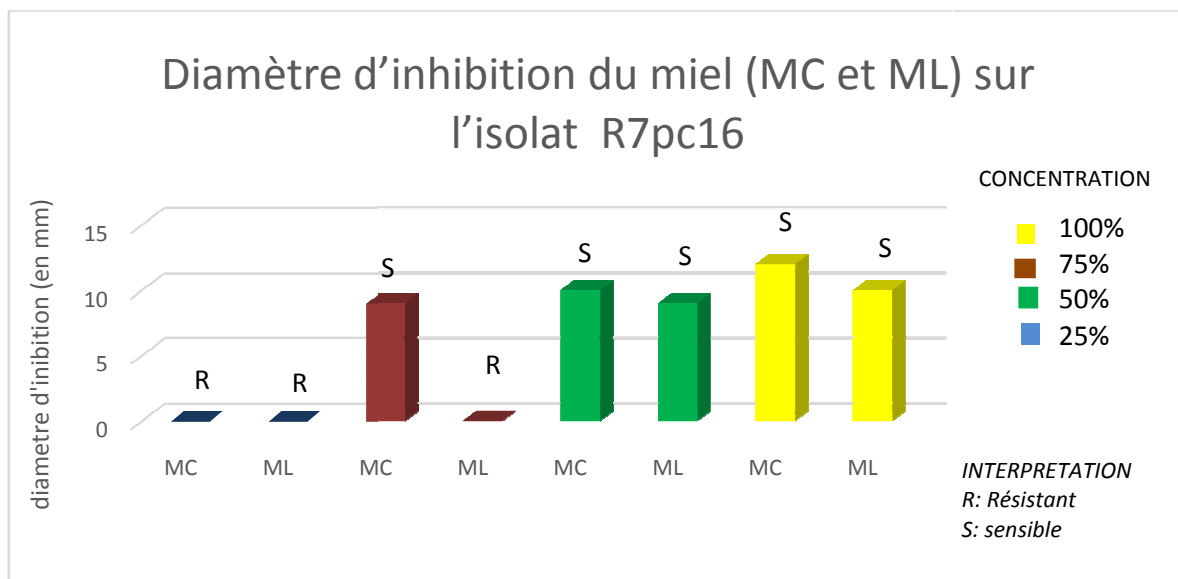
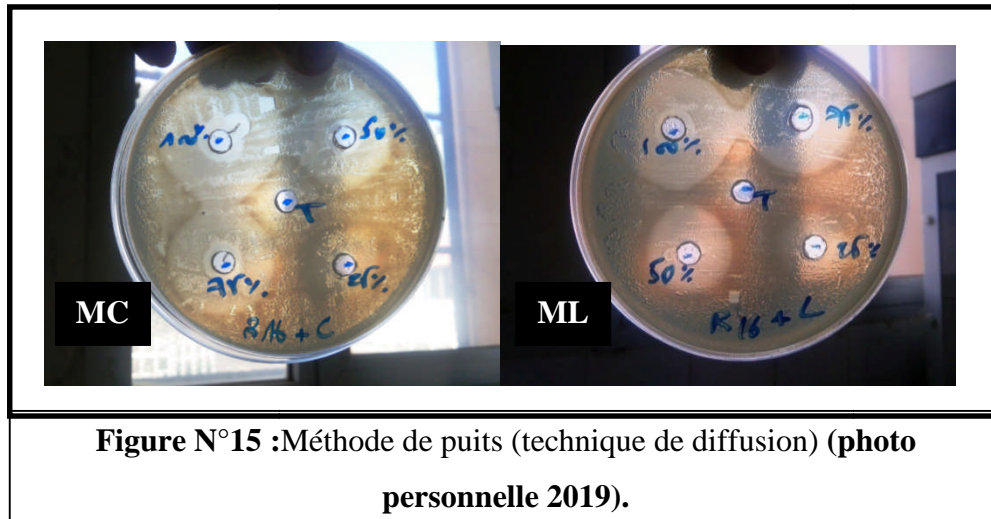


Figure N°16 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur sur l'isolat R7pc16.

Les résultats d'inhibition sur l'isolat R7pc16 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent qu'il est résistant à la concentration 25% du miel (ML-MC) ainsi à 50% du miel (ML) et sensible pour les concentrations 50% du miel MC, 75% et 100% du miel (MC-ML).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.4.3. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R1

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans les figures N°17 et N°18:

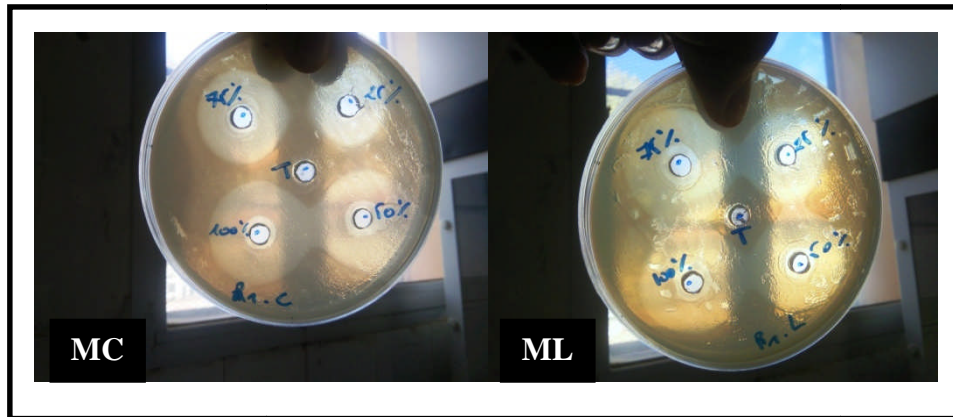


Figure N°17 :Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019).

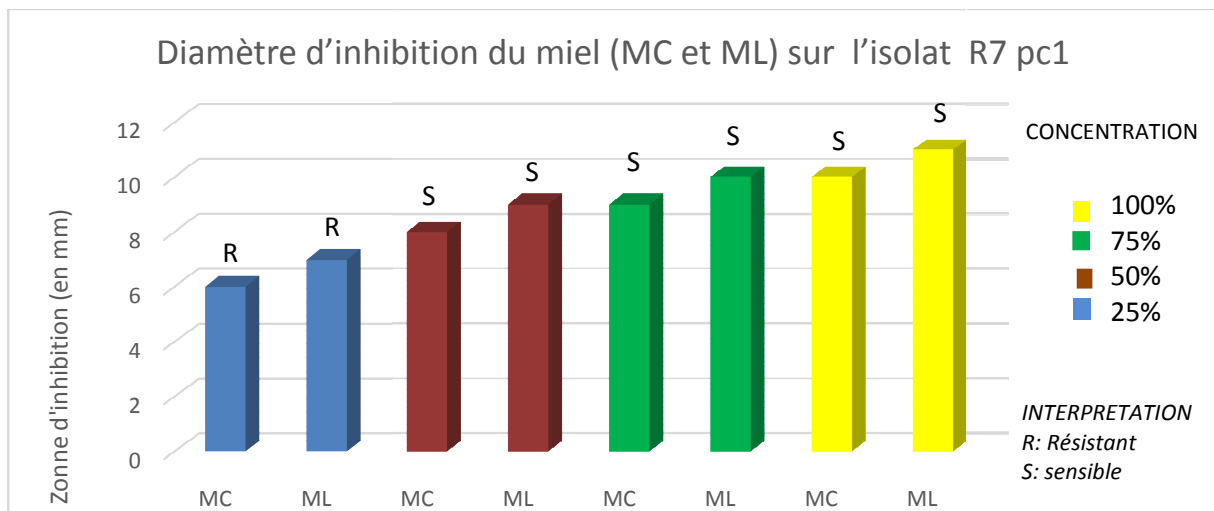


Figure N°18 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc1.

D'après les résultats d'inhibition sur l'isolat R7pc1 exprimés dans le graphique ci-dessus on constate qu'il est résistant à la concentration **25%** du miel (ML-MC) et sensible pour les concentrations **50%, 75% et 100%** du miel (MC- ML).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.4.4. L'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R4

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans les figures N°19 et N°20:

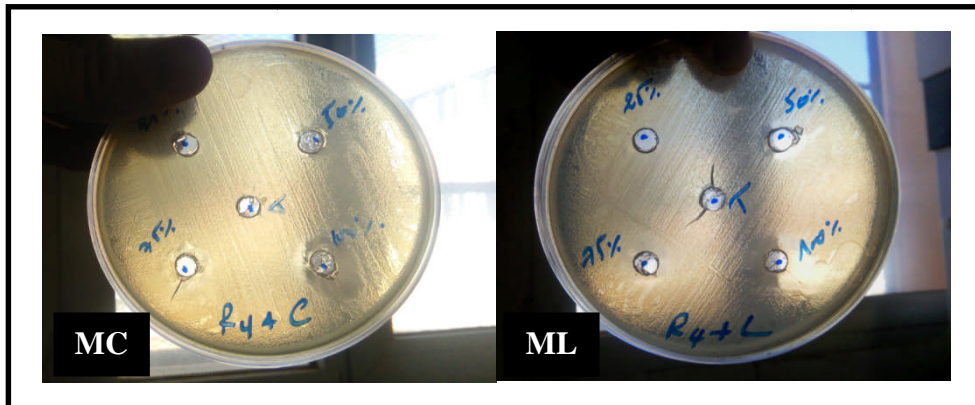


Figure N°19 : Méthode de puits (technique de diffusion) (photo personnelle 2019).

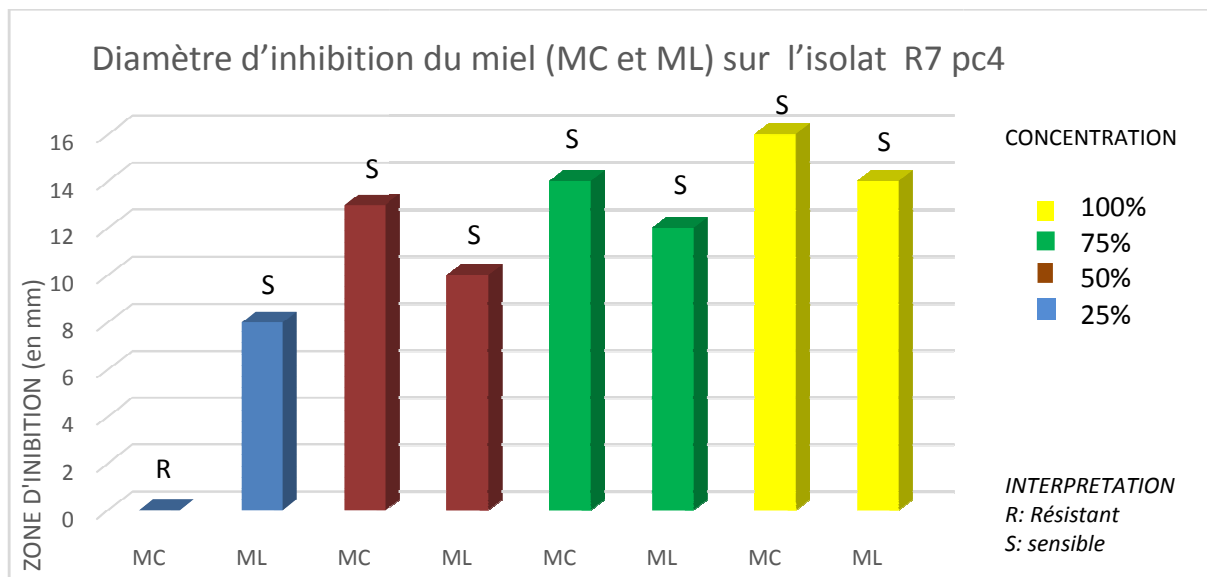


Figure N°20 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc4.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

Les résultats d'inhibition sur l'isolat R7 pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent qu'il est résistant à la concentration **25%** du miel (MC) et sensible pour les concentrations **25%**miel (ML) et **50%, 75% ,100%**du miel (ML-MC)

Nos résultats montrent que les quatre isolats à savoir : **F1, R16, R1, R4** sont sensibles à l'action antibactérienne des deux échantillons de miel naturel (**ML, MC**).

L'effet inhibiteur des deux miels est plus prononcé avec les échantillons concentrés (notamment avec la dilution de **100%**), mais il a nettement diminué dans le cas des dilutions successives(**75%, 50%, 25%**).

Nous observons qu'à plus faible concentration (**25%**), tous les isolats (**F1, R16, R1, R4**) ont poussé en présence du miel. Cela pourrait être lié à une dilution des ingrédients actifs impliqués dans l'action antibactérienne, le rendant ainsi inefficace (**Nassaret al., 2012**).

Le diamètre d'inhibition du MC sur les isolats **F1, R16, R4** est supérieur à celui du ML (miel d'euphorbe) par ailleurs l'isolat **R1** s'est révélée plus sensible au **ML**.

Dans une étude antérieure, le miel d'euphorbe a montré une puissante action inhibitrice sur la croissance d'*E.coli* avec une moyenne de diamètre d'inhibition de 31,5 mm (**Belhaj et al., 2016**).

D'après **Couquet et al (2013)**, tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne ; il existe des différences selon le type de miel employé.

De même la variation de l'activité antibactérienne du miel dépend de la saison et de la source botanique butinée par l'abeille, de son origine géographique mais aussi des traitements qu'il a subi et des conditions de stockage et de la conservation, qui peuvent altérer son activité antibactérienne (**Molan et Cooper, 2000**).

Adeleke et al (2006), ont indiqué que l'effet antibactérien du miel révélé particulièrement efficace à fortes doses et varie selon sa concentration et la nature de la bactérie à tester.

L'étude effectuée par **Al-Naama (2009)**, a prouvé que le miel avait un effet inhibiteur plus important sur les bactéries Gram-négatives y compris *E. coli*.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

Selon **Merahet al(2010)**, Le miel possède deux types d'effets sur les bactéries à Gram négatif (*E. coli* notamment es isolats F1, R16, R1) : un effet bactéricide sur les zones les plus proches des puits remplis par du miel et un effet bactériostatique sur les zones relativement loin des puits. Dans le premier cas, la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués.

En effet, **Taormina et al (2001)** ont expliqué l'effet du miel sur les bactéries Gram négatives, l'attribuant à la présence de peroxyde d'hydrogène et d'antioxydants puissants, ainsi qu'à un pH bas, et à la présence de composés phénoliques.

Nos résultats sont proches de ceux obtenus par **Athmani et al (2018)** qui ont trouvé que l'*E. Coli* était sensible pour les concentrations 50%, 75% et 100 % avec des zones d'inhibitions allant de 8 à 23mm.

Moussa et al (2012) ont testé l'activité antibactérienne de quatre échantillons du miel algériens vis-à-vis l'*E. Coli* et *Pseudomonas aeruginosa* aux concentrations (10, 30, 50, 70 et 100%), ils ont repéré des zones d'inhibitions allant de 8mm à 38 mm pour l'*E. coli* qui sont supérieurs à nos résultats.

Dans une étude marocaine, les auteurs ont travaillé sur huit échantillons de miel d'origine Marocaine aux concentrations de 100, 75, 50 et 25% sur trois souches bactériennes d'*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Salmonella*, ils ont déterminé des diamètres d'inhibition de l'ordre de 10 à 44 mm pour *E. coli* (**Belhaj et al.,2016**).

Le mode d'action du miel comme agent antibactérien n'est pas bien éclairci. En effet, plusieurs mécanismes sont impliqués et agissent de manière singulière ou synergique (**DebMandal et Mandal, 2011**), notamment l'osmolarité, le pH acide, le système peroxyde d'hydrogène (inhibine) (**Efem, 1988**) et des substances non peroxydes comme methylglyoxal (MGO) (**Weston, 2000**) ainsi qu'à la présence de composés phénoliques (**White et Subers, 1963**), et la présence de substances phytochimiques(**Molan et Russel, 1988**).

D'après **Deb Mandal et Mandal (2011)**, Le miel possède généralement un pH acide non favorable à la multiplication des germes pathogènes. Cependant, certains miels à pH élevé compris entre 5 et 6 sont aussi capables d'exercer une activité antibactérienne.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

De son tour **Molan (1992)**, a indiqué qu'une osmolarité élevée liée à la forte teneur en sucre, présente un effet bactéricide et donc le miel agit de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes mettant en jeu leur survie.

En outre, le peroxyde d'hydrogène est le facteur antibactérien majeur du miel. Il résulte de la réaction enzymatique entre le glucose et la glucose-oxydase, en présence d'eau et d'oxygène. L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend ainsi peu favorable au développement de colonies bactériennes, de plus la différence de concentration de ce composant dans différents miels contribue à la variabilité de l'effet antimicrobien du miel (**Kerkvliet, 1996**).

Selon **Weston et al (2000)**, La plus part des types de miels génèrent le peroxyde d'hydrogène quand ils sont dilués.

Lors de l'application de miel, la libération de peroxyde d'hydrogène s'opère de façon lente et prolongée, permettant ainsi une action locale efficace (**Couquet, 2013**).

D'autres inhibines dites non peroxydes tels que des lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques et autres substances non identifiées possèdent également cette propriété antibactérienne (**Brudzynski, 2006**).

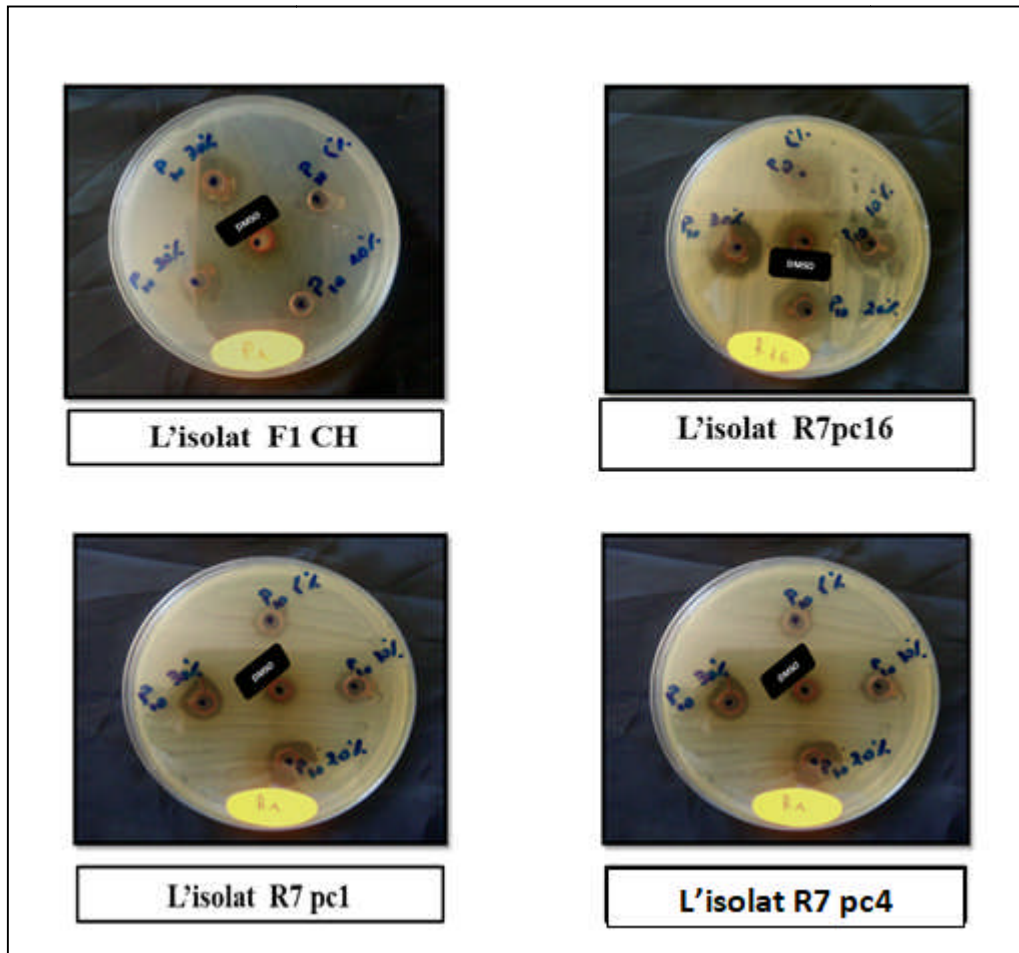


Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.5. L'effet antibactérien de la propolis (p6 et p10)

2.5.1. L'effet antibactérien de la propolis (p10)



**Figure N°21 : Evaluation de l'effet antibactérien de la propolis (p10)
(photo personnelle 2019).**



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

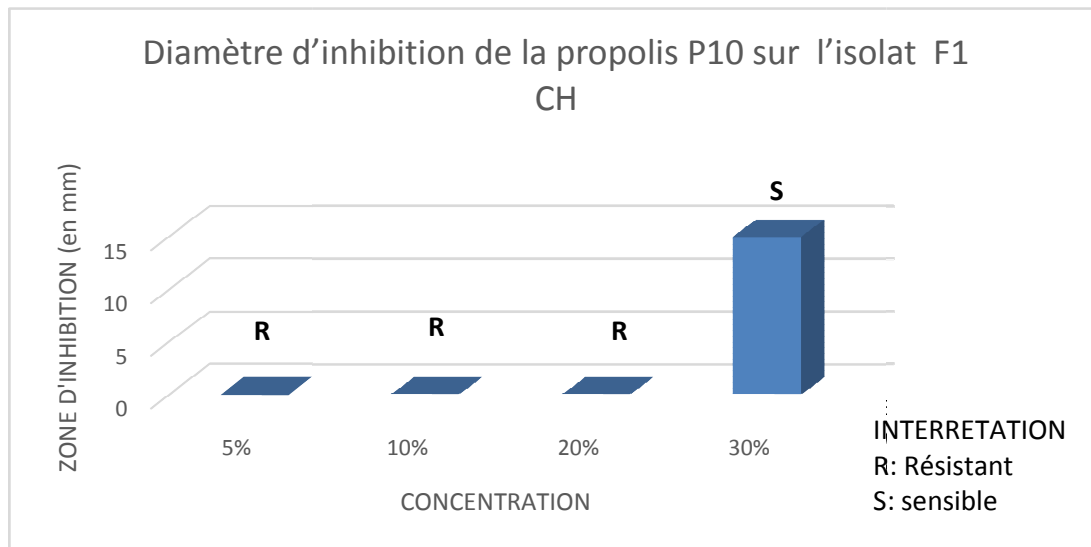


Figure N°22 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat F1 CH.

Selon les résultats d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat F1 CH exprimés dans le graphique : l'isolat testé sur la propolis P10 a résisté à la concentration **5%, 10% et 20%** et a été inhibé à **30%**.

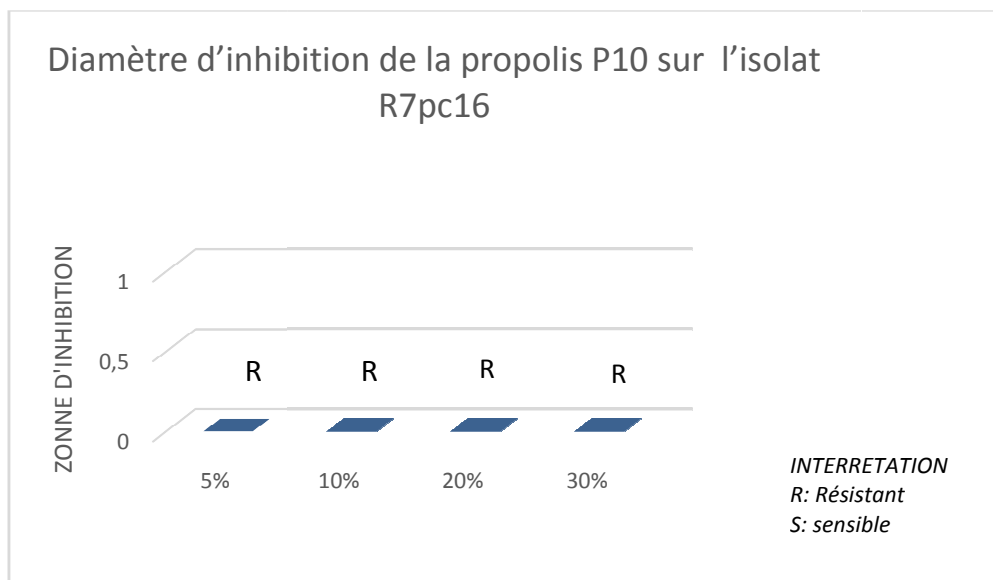


Figure N°23 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc16.

Les résultats d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que l'isolat testé résiste à toutes les concentrations.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

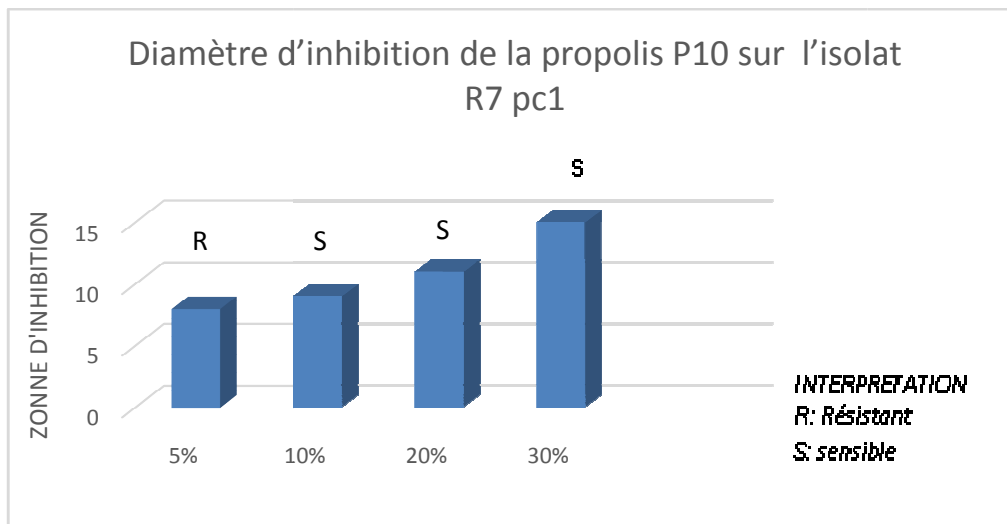


Figure N°24 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc1.

Les résultats des zones d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que l'isolat testé a résisté à la concentration **5%** et a été inhibé à **10%, 20%** et **30 %**. Le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration de la propolis.

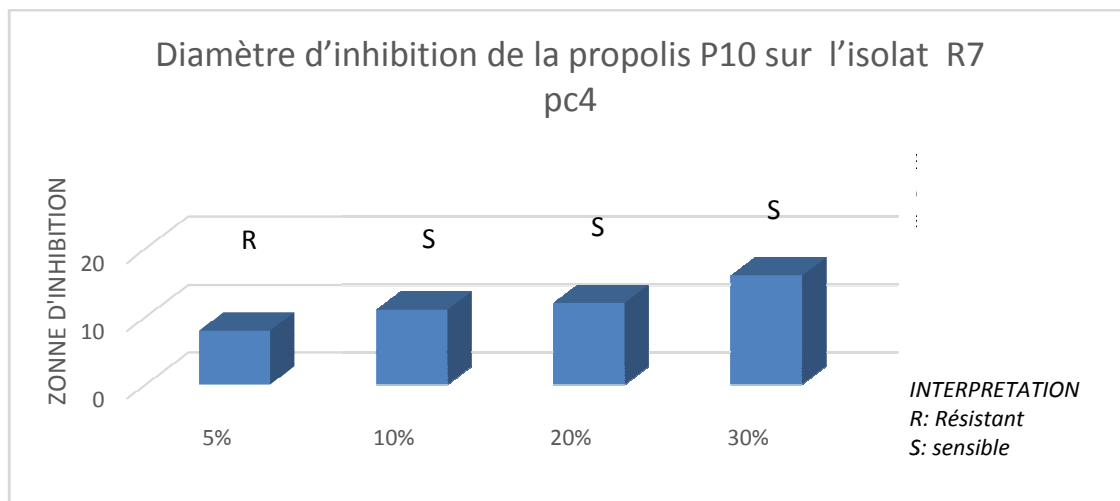


Figure N°25 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc4.

Les résultats d'inhibition de la propolis **P10** sur l'isolat **R7pc4** exprimés dans la **figure N°25** montrent que l'isolat testé n'est pas sensible à la concentration **5%** et il est sensible aux concentrations **10%, 20%** et **30 %**. La zone d'inhibition est corrélée positivement avec la concentration de la propolis.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.5.2. L'Effet antibactérien de la propolis p6

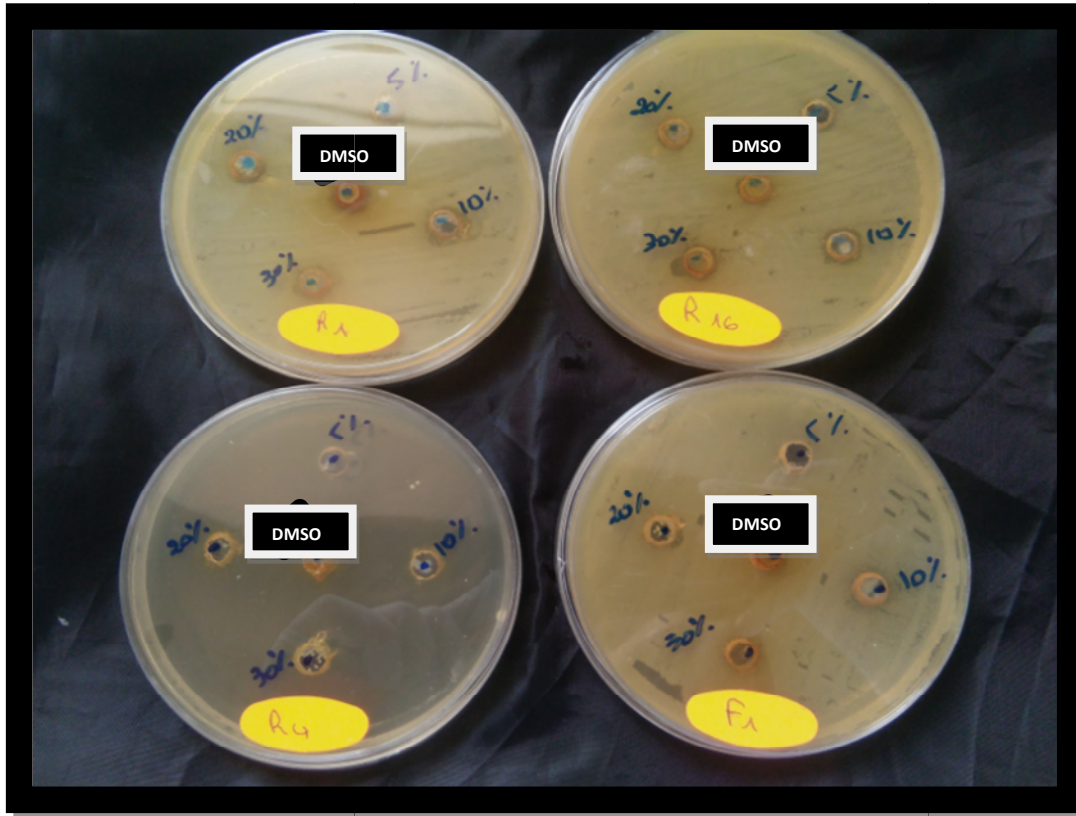


Figure N°26 : Evaluation de l'effet antibactérien de la propolis (P6) sur les quatre isolats (photo personnelle 2019).

Tableau N°08: Diamètre d'inhibition de la propolis P6 sur les quatre isolats utilisés.

Concentration (%)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	F1 CH	R7 pc4	R7pc16	R7 pc1
5	-	-	-	-
10	-	-	-	-
20	-	-	-	-
30	-	-	-	-
Témoin	-	-	-	-

(-) : Absence de la zone d'inhibition

Selon le **tableau N°08** : Tous les isolats testés sont résistants à la propolis P6.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

L'effet antibactérien de la propolis a été rapporté et prouvé par de nombreux auteurs (**Grange et Davey, 1990 ; Oliveira et al., 2006 ; Astani et al., 2013**).

Les résultats obtenus montrent des effets antibactériens variables des **EEPA** des deux échantillons de la propolis (P6 et P10) sur les quatre isolats testés.

Pour la propolis P6 Aucune activité n'a été constatée sur tous les isolats, contrairement aux résultats de la P10 qui a été actifs sur les trois isolats F1, R4, R1 et inactif vis-à-vis du R16.

Cette différence de résultats reviendrait à la composition de la propolis qui varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte et la race de l'abeille productrice, ce qui pourrait affecter ses propriétés biologiques notamment antibactériennes (**Hegazi, 2001**).

On constate que l'EEPA (P10) à différentes concentrations (5%, 10%, 20% et 30%) donne des zones d'inhibitions allant de 8 mm à 16 mm pour les isolats R4 et R1, alors que le F1 n'a été inhibé qu'à la concentration de 30%. Les zones d'inhibitions obtenues sont proportionnelles aux concentrations des extraits utilisés. Ces résultats sont en désaccord avec l'étude de **Bouda et al (2018)** qui ne signale aucune action de la propolis sur ce germe.

Foudil (2017) a étudié l'effet antibactérien de la propolis algérienne (de la région de Tiaret) par la technique d'incorporation en milieu liquide sans utiliser l'extraction alcoolique et il a obtenu une CMI de 20 mg/ml pour *E.coli*.

Dans un autre travail algérien, en utilisant la technique de diffusion sur disques (aromatogrammes), les auteurs ont rapporté que l'*E.coli* était sensible à l'effet de la propolis pour les concentrations 50%, 75% et 95% avec des zones d'inhibitions qui varient de 6 à 16mm **Athmani et al., (2018)**, ce qui concorde avec nos résultats.

D'après **Silici et Kutluca (2005) et Nedji (2015)**, les extraits éthanoliques de propolis présentaient une activité antibactérienne élevée contre les cocci à Gram positif, mais montrant une activité limitée ou parfois inefficace contre les bactéries à Gram négatif notamment *E. coli*.

En outre, la propolis contient beaucoup de substances phytochimiques issues des plantes qui sont généralement plus actives contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif (**Rahman et al., 2010**).



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

Dans cette même optique, certains auteurs pensent que les bactéries gram négatifs sont faiblement sensibles à l'effet de la propolis à cause de la présence de pompes à efflux au niveau de la membrane bactérienne qui empêche la pénétration des constituants actifs de la propolis ou assure leurs expulsion à l'extérieur de la cellule bactérienne (**Garedew et al.,2004**).

Selon **Bosio et al (2000)**, L'activité antibactérienne de la propolis peut être liée à la présence de flavonoïdes .

L'effet antimicrobien de la propolis est dû à ses composants qui sont majoritairement de nature phénolique, principalement les flavonoïdes, les acides phénoliques et leurs esters qui constituent des agents antimicrobiens actifs (**Bankova et al., 1996; Boukraâ et Sulaiman, 2009**).

Malgré la variation des effets de la propolis qui dépends de son origine , sa dose, le solvant et la nature de la souche utilisée (**Ugur et Arslan, 2004**), son mode d'action directe sur les bactéries reste moins connu, **Takaisi-Kikuni et Schilcher (1994)** suggèrent que les mécanismes impliqués peuvent être lié à La désorganisation du cytoplasme, l'attaque de la membrane cytoplasmique, l'inhibition de la division cellulaire, l'inhibition des enzymes bactériens et de la synthèse des protéines, et l'inhibition de l'ARN polymérase bactérien.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.6. L'effet antibactérien du pollen

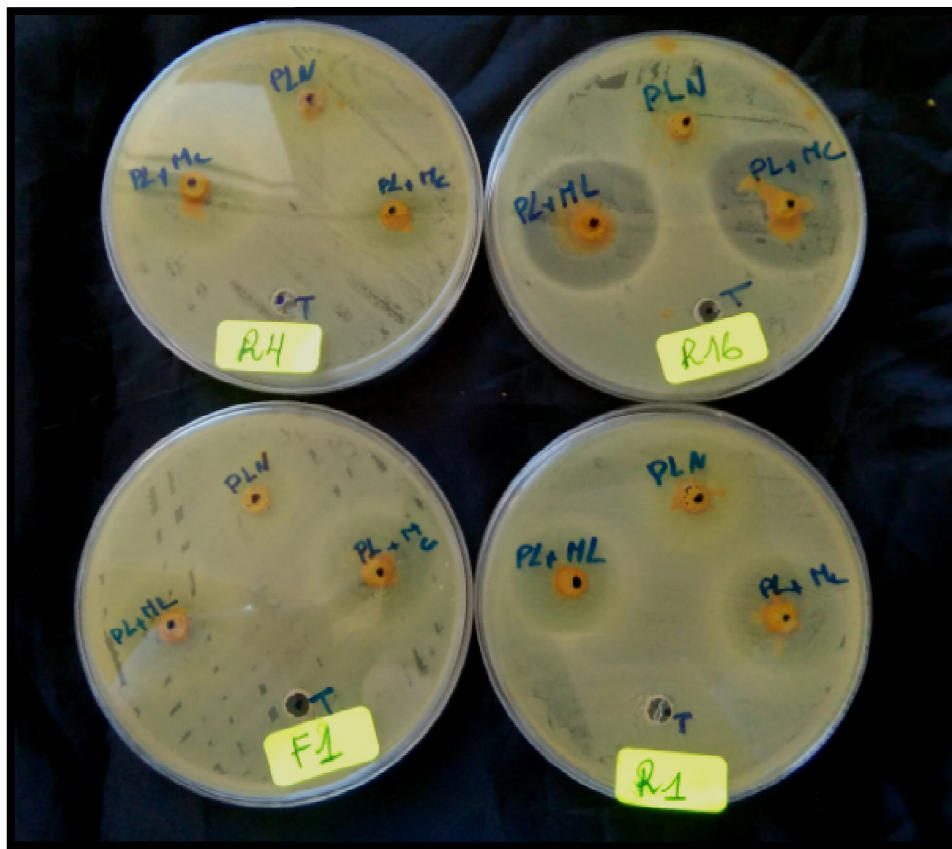


Figure N°27 : Evaluation de l'effet antibactérien du pollenseul et additionné au miel sur les quatre isolats (photo personnelle 2019).

Tableau N°09: Diamètre d'inhibition du pollen seul et additionné au miel sur les quatre isolats utilisés.

Quantité (g)	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)			
	F1 CH	R7 pc4	R7pc16	R7 pc1
1g pollen pur	-	-	-	-
1gP+1Gmc	-	-	-	-
1gP+1gML	-	-	-	-
Témoin	-	-	-	-

(-) : Absence de la zone d'inhibition

Selon le **tableau N°09** : Tous les isolats testés sont résistants au pollen.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

L'évaluation de l'activité antibactérienne du pollen pur et additionné au miel par la méthode des puits, n'a pas donné un résultat. Aucun halo d'inhibition n'est obtenu avec les quatre isolats (F1, R16, R1, R4) ce qui est probablement lié à une faible diffusion de ces produits en milieu solide.

De nombreux chercheurs ont signalé que le pollen aurait, des activités bactériostatiques et bactéricides et inhiberait la croissance des souches *d'Escherichia coli*, *de Staphylococcus aureus*, *de Pseudomonas aeruginosa* (Pascoal et al., 2014).

Selon **Jean-Prost (1987)**, l'activité antibactérienne du pollen est comme celle du miel, liée à sa teneur en glucose oxydase.

Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par **Bouda et Bounab (2018)**, en adoptant la même méthode (méthode des puits) sauf qu'ils ont testé l'extrait éthanolique du pollen et non pas le pollen pur.

Contrairement à **Lavie (1960)** qui a rapporté que l'extrait éthanolique du pollen possède une activité sur *E. coli*.

D'après **Percie du Sert (2009)**, l'effet antibactérien du pollen varie beaucoup en fonction de son origine florale ainsi à son utilisation par les abeilles ce qui lui confère une, plus ou moins, grande activité antibactérienne.

L'action du pollen sur les microorganismes dépend, d'une part de la nature de la cellule cible, et d'autre part de la composition du pollen lui-même. La composition du pollen elle-même dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que les espèces végétales, le climat, la région géographique, la période de récolte ou encore la nature du sol **Clément (2006)**.



Chapitre II : RESULTATS ET DISCUSSIONS

Le 3^{ème} volet : L'effet antibactérien de la propolis, du miel et du pollen

2.7. Comparaison entre l'effet du miel, de la propolis et des antibiotiques

La Gentamicine, la Colistine et le Chloramphénicol se sont révélés les antibiotiques les plus actifs sur les isolats (F1, R16, R1 et R4).

L'activité inhibitrice des miels MC et ML pour la concentration 100% et de la propolis P10 pour la concentration 30% sur F1 est supérieure à celle des antibiotiques les plus actifs (Gentamicine et la Colistine) mais inférieure à celle du Chloramphénicol.

L'effet inhibiteur des miels MC et ML sur R16 est proche à celle de la Colistine mais inférieur par rapport aux deux antibiotiques le Chloramphénicol, et la Gentamicine. Alors que la propolis P10 n'a signalé aucun effet sur R16.

L'effet des miels MC et ML sur R1 est relativement faible on le comparant à celle des trois antibiotiques (Gentamicine, Colistine et Chloramphénicol), Par contre l'effet de la propolis P10 est plus active à celle du Colistine et du Chloramphénicol mais inférieur à la Gentamicine.

Les trois extraits (MC, ML, P10) ont montré une meilleure activité vis-à-vis R4 avec des diamètres (16, 14, 16mm) successivement qui dépassent celle de la Colistine et le Chloramphénicol (13, 14mm) mais proche de la Gentamicine (17mm).

CONCLUSION

❖ Conclusion

La propolis, le miel et le pollen sont des produits de la ruche caractérisés par différentes propriétés thérapeutiques, constitues un défi aux chercheurs qui multiplient leurs efforts pour les utiliser comme des solutions pour remédier au phénomène de l'émergence des souches multi-antibio-résistantes, qui menace la santé humaine et animale.

Ce travail a permis de dégager les conclusions suivantes :

L'analyse des paramètres physicochimiques du miel révèle que ces deux produits naturels **ML** et **MC**, répondent aux normes préconisées par le Codex Alimentarius et se caractérisent par des propriétés importantes impliquées dans le pouvoir antibactérien tels que l'acidité, la faible teneur en eau et le PH bas.

Sous un autre angle, nous avons étudié la résistance de ces isolats bactériens à dix antibiotiques. Nos résultats ont montré que tous les isolats étudiés présentent une résistance à au moins sept antibiotiques testés qui témoigne leur multi-antibio-résistances.

L'évaluation de l'activité antibactérienne, par la méthode des puits a montré que la propolis **P10** est le produit le plus actif sur les isolats (**F1, R4, R1**) avec des zones d'inhibition allant jusqu'à **16mm** à la concentration **30%**, suivie par les deux échantillons du miel **MC** et **ML** qui affectent diversement la croissance de ces quatre isolats. Aux concentrations de **100% et 75%**, ils ont tout montré une activité antibactérienne acceptable. Cependant, à **25%**, leur pouvoir inhibiteur était très minime voir nul. Par contre, les deux extraits **pollen et propolis P6** ne présentent aucun effet antibactérien sur tous les isolats testés.

En effet, l'étude de la synergie entre les deux extraits (**pollen et miel**) ne montre pas une augmentation significative dans l'action contre les isolats étudiés.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à la compréhension de la qualité des produits de la ruche (miel) et leur implication dans la médecine vétérinaire. Ils nous ont permis également de constater que ces produits pourraient constituer une alternative pour substituer des agents chimiques à effet indésirables ou des traitements conventionnels ayant montré leurs limites.

- Il serait possible d'envisager des études complémentaires afin de parachever le présent travail, à savoir :La réalisation des tests *in vivo* dans le but d'évaluer les

différents effets thérapeutique des produits de la ruche , ainsi que la préparation d'un produit alternatif comme antistress à effet antibactérien à la mise en place du poussin d'un jour afin de diminuer l'impact des infections à *E. coli* responsables des omphalites au cours de la première semaine d'âge.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- 1- **Abd el-Fattah N.S., Nada O.H. 2007.** Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol.* P 691-710.
- 2- **Acqarone C., Buera P., and Elizalde B. 2007.** Pattern of PH and electrical conductivity upon honey dilution as a complementary tool for discriminating geographical origin of honeys. *Food Chem.* p 695-703.
- 3- **Adeleke O.E., Olaitan J.O., Okepeke E.I. 2006.** Comparative antibacterial activity of honey and gentamicin against *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Annals Burn Fire Disasters*; 19:n4.
- 4- **Aggad H. Y., Ammar A., Hammoudi A and Kihal M. 2010.** Antimicrobial Resistance of *Escherichia coli* isolated from Chickens with Colibacillosis in western Algeria. *Global Vétérinaire.* (Vol) 4(3) p 303-306.
- 5- **AI-Namma R.T. 2009.** Evaluation of in vitro inhibitory effect of honey on some microbial isolate. *J Bacteriol Res.* (Vol) 1(6) p 64-67.
- 6- **Andreani R., Nigelle E. 2017.** le pollen et ces pouvoirs. Edition Andrillon. p 09-10
- 7- **AOAC., 1990.** Official Methods of Analysis, 15^{ème} Ed. Arlington, VA. Association of Official Analytical chemists. London
- 8- **Assie B. 2004.** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse Pour Le Diplôme D'état de Docteur En Médecine. Toulouse : Toulouse III. p79.
- 9- **Astani A., Zimmermann S., Hassan E., Reichling J. K.H., Sensch P., Schnitzler. 2013.** Antimicrobial activity of propolis special extract GH 2002 against multidrug-resistant clinical isolates *Pharmazie.* p 695–701.
- 10- **Athmani M., Elmesaadi H., Tifouti O. 2018.** L'effet antibactérien du miel et de la propolis sur les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales. Mémoire de Master, Université 8 mai 1945 Guelma.
- 11- **Baltas N., Karaoglu S.A., Tarakci C., Kolayli S. 2016.** Effects of propolis in gastric disorders inhibition studies on the growth of *Helicobacter pylori* and production of urease. *J Enzyme Inh Med Chem.* P 46-50.
- 12- **Bankova V., Marcucci M.C., Simova S., Nikolova N., Kujumgiev A., Popov S. 1996.** *Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis.* *Z. Naturforsch C.* p277-80.
- 13- **Banskota A.H., Tezuka Y., Adnyana I.K., Ishii E., Midorikawa K., Matsushige K., Kadota S. 2006.** Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine.* p16-2.

- 14- Barnes J., Nolan L., Vaillancourt J. 2008.**Colibacillosis. Diseases of Poultry. SaifYM. Iowa, Blackwell Publishing Professional p716-762.
- 15- Baylis C. L., Penn C. W., Thielman N. M., Guerrant R. L., Jenkins C., & Gillespie S. H. 2006.***Escherichia coli* and *Shigella spp.* In S. H. Gillespie, & P. M. Hawkey (Eds.), Principles and Practice of Clinical Bacteriology 2nd ed. England, UK: John Wiley and Sons Ltd. p 347-365.
- 16- Belhaj O., El Abbadi I., Ouchbani T. 2016.** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine
- 17- Benameur Q., Ben-Mahdi M., Boutaiba B., Tali-Maamar H., Assouf F., Guettou B., Rahal K. 2016.**Analysis of high levels of multidrug resistant *Escherichia coli* from healthy broiler chickens in Western Algeria, African Journal of Microbiology Research. P 1792-1797.
- 18- Bergey D.H., Holt J.G. 1994.**Bergey's manual of determinative bacteriology. 9th ed. Williams and Wwilkins, USA. P 787.
- 19- BioMérieux. 1980.** Produits et réactifs de laboratoire. Morcy l'Etoile.France.
- 20- Bogdanov S. 1997.** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie. p 748-753.
- 21- Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G., Iff D., Känzing., Seiler K., StöckliH., Zürcher K. 2004.** Produits apicoles: 23B pollen. Revus par le groupe d'experts « produits apicoles » MSDA. p 1-6.
- 22- Bogdanov S., Blumer P. 2001.**Propriétés antibiotique naturel de miel, centre suisse de recherche apicole
- 23- Borreli F., MaffiaP.,Pinto L., Ianaro A., Russo A., Capasso F., Ialenti A. 2002.** Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia. P 53-63.
- 24- Boukraâ L., Sulaiman S.A .2009.** Rediscovering the antibiotics of the hiveRecent Pat Antiinfect Drug Discov. (Vol) 4(3). P 206-13.
- 25- Bradbear N. 2005.** Apiculture et moyens d'existence durables. Edition Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture. p 30-32.
- 26- Brudzynsk K. 2006.** Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys.Canadian Journal of Microbiology. (Vol) 52. N° 12. p1228- 1237.
- 27- Bruneau E. 2009.** Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H et al. Le TraitéRustica de l'apiculture Editions Rustica, Paris. P 354-387.
- 28- Buckley R.C. 1987 b.** Ant-plant-homopteran interactions. Adv. Ecol. Res., 16, 53, 85.

- 29- Buckley R.C. 1987a.** Interactions involving plants, homoptera, and ants. *Annu. Rev. Entomol.*, 8. P 111-135.
- 30- Cardinault N., Cayeux MO., Percie du Sert P. 2012.** La propolis : origine, composition et propriétés. *Phytothérapie.* p 298-304.
- 31- Catherine Branger. 2007.** DCEM1, enseignement dirigé de bactériologie, Univ. Paris7, faculté de médecine Denis Diderot.
- 32- Cayet C. 2007.** La propolis : hier et aujourd'hui. Thèse de pharmacie. Université de Picardie Jules Verne. P 81.
- 33- Chao H., Chen C., Chen S., Chiu C. 2006.** Bacterial enteric infections in children : Etiology, clinical manifestations and antimicrobial therapy. *Expert Review of AntiInfective Therapy.* P 629-638.
- 34- Chauvin R. 1968.** Traité de biologie de l'abeille : Biologie appliquée. Edition Masson et Cie. France: p 126 ; 241 ; 237.
- 35- Choi Y.M., Noh D.O., Cho SY, et al. 2006.** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT.* P 756-761.
- 36- Cimpoiu C., Hosu A., Miclaus V. and Puscas A. 2012.** Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta. Part A, Molecular and Biomolecular Spectroscopy.* P 1010-1016.
- 37- Clement H. 2005.** Le Traité Rustica de l'Apiculture, 2^o Edition, Paris, Editions Rustica. P 528.
- 38- Clément H. 2014.** Les bons gestes de l'apiculteur: Tout le savoir-faire apicole en photos-gestes. Edition Rustica. p12.
- 39- CLSI, 2008.** Performance standards for antimicrobial disk and susceptibility tests for bacteria isolated from animals. 3rd Edn., Approved Standard, CLSI Document M 31-A3. Clinical and Laboratory Standards Institute.
- 40- Codex Alimentarius. 2001.** Revised codex standard for honey. *Codex standard 12 1981, Revue, 1(1987). Vol (12).* p 1-10.
- 41- Couquet Y. 2013.** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.
- 42- Cuvillier A. 2015.** Thèse docteur en pharmacie : Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire Université de Lille 2
- 43- Deb Mandal Manisha., Mandal Shyamapada. 2011.** Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* (Vol) 1(2). p 154-160.
- 44- Debbagh S. 2000.** Etude méliissopalynologique des miels du Maroc oriental. Thèse de Doctorat d'Etat Des Sciences Agronomiques, IAV Hassan II

- 45- Descottes B. 2009.** Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. *Phytothérapie.* (Vol) 7, n°2. P 112-116.
- 46- Dextreit R. 1963.** Soigner par le miel et le pollen. Edition vivre en harmonie 5, rue Emilie-Level--Paris-17. p 40-42.
- 47- Domerego R. 2001.** Ces abeilles qui nous guérissent. J.C. Lattrès Editions
- 48- Domerego R., Imbert G., Blanchard C. 2006.** Remèdes de la ruche : découvrez tous les bienfaits santé des produits de la ruche ! : [miel, pollen, propolis, gelée royale] C'est naturel, c'est ma santé (Alpen Editions s.a.m. p 28-29.
- 49- Donadieu Y. 1978.** Les thérapeutiques naturelles in le miel. Ed Maloine S.A Paris. P14.
- 50- Donadieu Y. 1982.** Pollen thérapeutique naturelles. 5ème Ed Maloine S.A. Paris. p 17-31.
- 51- Donadieu Y. 2008.** La propolis. Editions Dangles. P 90.
- 52- Duraffour C., D'Hervicour L., Lappraz J.C .1990.** Cahiers phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique. Eléments thérapeutiques synergiques. 2 ème édition Masson (Paris). P 87.
- 53- Efem S.E.E. 1988.** Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery.* P 679-681.
- 54- El Houadfi M., Zekhnini H.2009.** Drug resistance of E.coli isolated from day old broiler chicks in Morocco. Proceeding of the 16th congress of WPA. Marrakech.
- 55- Ela M.A., El-Shaer N.S., Ghanem N.B. 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixedolls. *Pharmazie.* P 993- 995.
- 56- Foudil M. 2017.** Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de quelques produits de la ruche. Mémoire de Magister, Université IBN Khaldoun – Tiaret
- 57- Garedew A., Schmolz E., Lamprecht I. 2004.** Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach. *Thermochimica Acta.* P 115–124.
- 58- Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. 2009.** Propolis. *Phytothérapie.* P 100-105.
- 59- Goldmann DA., Huskins W.C. 1997.** Control of nosocomial antimicrobial resistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. *Clin Infect Dis*;24(Suppl 1):S. p 139 45.
- 60- Gordon D. M., Cowling A. 2003.** The distribution and genetic structure of *Escherichia coli* in Australian vertebrates: host and geographic effects. *Microbiology.* P 3575-3586.

- 61- Grange J.M., Davey R.W. 1990.** Antibacterial properties of propolis. Journal of the Royal Society of Medicine. P 159-60.
- 62- Gregory S.R., Piccolo N., Piccolo M.T., Piccolo M.S., Heggers JP. 2002.** Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. J Altern Complement Med. P 77-83.
- 63- Grimont P.A. 1987.** Taxonomie des *Escherichia coli*. Médecine et maladies infectieuses. P 6-10.
- 64- Guechi Z. 2002.** Microbiologie des viandes et des produits carnés. Cours Nationales d'hygiène et de microbiologie des aliments. Institut Pasteur d'Algérie. P 140-145.
- 65- Guerriat H. 2000.** « Etre performant en Apiculture ». Édition Rucher du Tilleul. P 415.
- 66- Hafed Z., Benguedour R., Aouane M., Berrid N. 2016.** Profil d'antibiorésistance d'*Escherichia Coli* d'Origine Aviaire : cas de poulet de chair dans la région de grande Casablanca-Maroc. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.
- 67- Hamadene S. 1988.** Influence de la flore mellifère principale sur les propriétés physicochimiques de quelques miels de la Mitidja. Mém, Ing, Agr, Ina, Elharrach.
- 68- Hegazi A.G. 2001.** Biological activity of royal jelly in Apimondia.
- 69- Huchet E., Coustel J., Guinot L. 1996.** Les constituants chimiques du miel. Méthodes d'analyse chimiques. Département de science de l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. France. P 16.
- 70- Jean-prost P. 1987.** Apiculture. Edition J.B Bailliere Paris. p:142-143.
- 71- Jean-Prost P., Le Conte. 2005.** Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier. p 698.
- 72- Jean-Prost P., Medori P. 2005.** Matière première. In Apiculture. Lavoisier : Yves le conte. Paris. p 161-183.
- 73- Joffin J.N., Leyral G. 2005.** Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine. P 171-189.
- 74- Jones H.R. 2001.** Honey and healing through the ages. In Honey and Healing - ed. Munn, P.A. and Jones, H.R. pp. 1-4. Cardiff : IBRA.
- 75- Journal Officiel de la République Française. 1977.** Arrête du 15 février 1977 relatif aux méthodes officielles d'analyses du miel. p 6, 7, 8.
- 76- Kerkvliet J.D. 1996.** Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. J. Apicult. Res, 35. p 110-117.

- 77-Lavie P. 1960.** Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*apis mellifica* L) (fin). In *Annales de l'Abeille*, (EDP Sciences). p 201–299.
- 78-LeBlanc B.W., Davis O.K., Boue S., Delucca A. and Deeby T. 2009.** Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. *Food Chemistry*. p 1299-1305.
- 79-Lord D., Scotter M.J, Whittaker A.D., Wood R. 1988.** The determination of acidity, apparent reducing sugar and sucrose, hydroxymethylfurfural, mineral, moisture, water-insoluble solids contents in honey, collaborative study, *J. Assoc. Publ. Anal.* P 51-76.
- 80-Louveaux J. 1980.** Les abeilles et leur élevage. Ed. Hachette Paris. P 325.
- 81-Machado G.M., Leon L.L., De Castro S.L. 2007.** Activity of Brazilian and Bulgarian propolis against different species of *Leishmania*. *Mem Inst Oswaldo Cruz*. P 73-7.
- 82-Manyl-Loh C.E., Ndip R.N., Clarke A.M. 2011.** Volatile compounds in honey: a review on their involvement in aroma, botanical origin determination and potential biomedical activities. *Int. J. Mol. Sci.* P 9514-32.
- 83-Marchenay P., Bérard L. 2007.** L'homme, l'abeille et le miel Edition De Borée. P 223.
- 84-Marouf A., Reynau J. 2007.** La Botanique de A à Z .éd. DUNOD. p. 238-239
- 85-Maurizio A. 1968.** La formation du miel in Chauvin et al. *Traité de biologie de l'abeille* Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3. P 264-276.
- 86-Mazrou K. 2008.** « L'effet de la température sur l'évolution de l'HMF dans les miels Algériens». Mémoire d'obtention de diplôme d'étude supérieure en biologie. Université Ibn Khaldoune, Tiaret, Algérie.
- 87-Merah M., Bachagha M., Boudershem. 2010.** Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons de miel naturel récoltés du territoire algérien. Laboratoire de bios ressources sahariennes. Préservation et valorisation. Département des Sciences de la Nature et de la Vie. Université KasdiMerbah Ouaregla.
- 88-Mickaël B. 2010.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges.
- 89-Molan P.C. 1992.** The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee World*. P 5-28.
- 90-Molan P.C., Cooper R.A. 2000.** Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers. *Trop Doct.* P 249-250.
- 91-Molan P.C., Russell K.M. 1988.** Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *Journal of Apicultural Research*. P 62-67.

- 92- Montet M.P. 2009.** Contamination des aliments par les Escherichia coli producteurs de Shiga-toxines (STEC) en France, et importance de l'acido-résistance des souches. Thèse : Méd : Paris: École Pratique des Hautes Études.
- 93- Moussa Ahmed., DjebliNoureddine., MeslemAbdelmelek., AissatSaad. 2012.** Antibacterial activity of various honey types of Algeria against Pathogenic Gram-Negative Bacilli: Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa.
- 94- Nadir S. 2014.** « Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, Algérie.
- 95- Nair S. 2014.** Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université d'Oran. P 192.
- 96- Nassar H.M., Li M., Gregory R.L. 2012.** Effect of honey on Streptococcus mutans growth and biofilm formation. Appl Environ Microbiol. P 536-40.
- 97- Nedji N, 2015.** Effets des acaricides sur l'abeille domestique Apis mellifera intermissa et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. Thèse de doctorat 3^{ème} cycle en biologie animale. université Badji- Mokhtar Annaba.
- 98- Nolkemper S., Reichling J., Sensch K.H., Schnitzler P. 2010.** Mechanism of herpes simplexvirus type 2 suppression by propolis extracts. Phytomedicine. P 132-8.
- 99- Nostro A., Cellini L., Di Bartolomeo S., Cannatelli M.A., Di Campli E., Procopio F., Grande R., Marzio L., Alonzo V. 2006.** Effect of combining extracts (from propolis or Zingiber officinale) with clarithromycin on Helicobacter pylori. Phytother Res. p 187-90.
- 100- Okutan H., Ozelik N., Yilmaz H.R., Uz E. 2005.** Effects of caffeic acid phenethyl ester on lipid peroxidation and antioxidant enzymes in diabetic rat heart. Clin Biochem. P 191-6.
- 101- Oliveira A.C.P., Shinobu C.S., Longhini R., Franco S.L., Svidzinski T.I.E. 2006.** Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz. P 493-497.
- 102- Oukala N., Salmi A., Belmahdi M., Touati A. 2014.** Study of antibiotic resistance of Escherichia coli strains isolated from broiler attained by colibacillosis. III^{ème} symposium de la recherche avicole 20-21 octobre 2014 Batna-Algerie. p33.
- 103- Ozcan M. 2004.** Inhibition of Aspergillus parasiticus NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. J Med Food. P 114-6.

- 104- Pascoal A., Rodrigues S., Teixeira A., Feás X., and Estevinho L.M. 2014.** Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and antiinflammatory. *Food and Chemical Toxicology*. p 233–239.
- 105- Pavilonis A., Baranauskas A., Puidokaite L., Mazeliene Z., Savickas A., Radziūnas R. 2008.** Antimicrobial activity of soft and purified propolis extracts. *Medicina (Kaunas)*. P 977-83.
- 106- Payne S.M. 1988.** Iron and virulence in the family Enterbacteriaceae. *CRC Crit. Rev, Microbiol.* p 81-111.
- 107- Percie du Sert P. 2009.** Les pollens apicoles. Pollenergie SAS, La Grabe`re, F-47450 Saint-Hilaire-de-Lusignan, France.
- 108- Pohl F. 2003.** L'elevage des abeilles. Edition Franckh-kosmosVerlags et Cokg Stuttgart. P 18-21.
- 109- Prescott et al. 2003. changé par Denis et al. 2007. Denis F., poly M-C., martin C.,bingen E., rquentin.2007.** Bactériologie médicale, techniques usuelles. Masson, Cedex. P 333-335.
- 110- Rahman M., Richardson A., Azirun S. 2010.** Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology research*. P 1872-1878.
- 111- Rahmatallah N., Nassik S., El rhaffouli H., Lahlou A.I., El Houadfi M. 2013.** « Antibioresistance d'Escherichia Coli d'Origine Aviaire: situation actuelle et Evolution ». 7ème journée scientifique de l'AMPA (association Marocaine de pathologie aviaire).
- 112- Rebai H., Saidisief Ch. 2017.** Identification d'une souche cariogène *Streptococcus* sp et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche, Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 21-31, 42.
- 113- Renault-Myskovsky J., Petzold M. 1992.** Spores et pollen. Ed. La Duralie. P 248.
- 114- Resapath. 2010.** Données du réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France.
- 115- Richard Daniel., Chevolet Patrick., Fournel Sylvie. 2012.** Biologie. Ed 2. p 606-610.
- 116- Rossi A., Ligresti A., Longo R., Russo A., Borrelli F., Sautebin L. 2002.** The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine*. P 530-5.

- 117- Sanz M.L., Gonzalez M., Lorenzo C., Sanz J., Martinez-Castro I. 2005.**A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *FoodChem.* p 313- 317.
- 118- Scazzocchio F., D'aurai F.D., Alessandrini D., Pantanella F. 2006.** Multifactorial aspects of anti-microbial activity of propolis. *Microbiol Res.* 327-33.
- 119- Schnitzler P., Neuner A., Nolkemper S., Zundel C., Nowack H., Sensch K.H., Reichling J. 2010.** Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res.* 20-8.
- 120- Shigenori K., Hamasaka T., Nakayama T. 2004.** Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry.* p 329-339.
- 121- Silici S., Kutluca S. 2005.** Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology.* P 69–73.
- 122- Takaisi-Kikuni N.B., Schilcher H. 1994.** Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined Propolis provenance. *Planta Med.* P 222-7.
- 123- Taormina P.J., Niemira B.A., Bauchat L.R. 2001.** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power, *Int J Food Microbiol.* P 217-225.
- 124- Tenailon O. 2010.** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol.* P 207-17.
- 125- Thiziri B et Bounab L. 2018.** Etude de l'activité antibactérienne de quelques produits de la ruche. Mémoire de Fin de Cycle En vue de l'obtention du diplôme Master. Université A. Mira – Bejaia.
- 126- Ugur A., Arslan T. 2004.** An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food.* P 90-94.
- 127- Vaissiere B. 2002.** Abeille et pollinisation. *Le Courrier de la nature–Spécial Abeilles.* P 24-27.
- 128- Viviane Cristina Toreti., Helia Harumi Sato., Glaucia Maria Pastore., and Yong Kun Park. 2013.** Recent Progress of Propolis for Its Biological and Chemical Compositions and Its Botanical Origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.*
- 129- Wäckers F.L. 2000.** Do oligosaccharides reduce the suitability of honeydew for predators and parasitoids? A further facet to the function of insect-synthesized honeydew sugars. *Oikos.* P 197-201.

- 130- Waring C., Waring A. 2012.** Abeilles tout savoir sur l'apiculture. Artemis éditions.
P 179.
- 131- Way M.J. 1963.** Mutualism between ants and honeydewproducingHomoptera.
Annu. Rev. Entomol., 8. P 307-344.
- 132- Weston R.J. 2000.** The contribution of catalase and other natural products to the
antibacterial activity of honey: a review. Food Chemistry. P 235 – 239.
- 133- Xu.,Luo L., Chen B., Fu Y. 2009.** Recent development of chemical components
in propolis. Frontiers of Biology in China. P 385-391.
- 134- Yao I., Akimoto S.I. 2001.** Ant attendance changes the sugar composition of the
honeydew of the drepanosiphid aphid Tuberculatusquercicola. Oecologia. P 36-43.

Sites internet :

<http://www.aloemagazine.com/propolis-abeille/>

ANNEXES

Annexe N°01

Tableau N°01 : Les différentes variétés du miel et leurs provenances.

Miel	Code	Origine géographique	Couleur	Texture
Miel du jujubier	MC	Ain dheb-Tiaret	Jaune foncé (doré)	Liquide
Miel d'euphorbe	ML	Wilaya d'el Bayad	Marron foncé (ambré)	Cristallisé

Annexes N° 02 : paramètres physicochimiques.

1. Expression des résultats de l'humidité

$$H\% = (M2 - M1 / M0) 100$$

Soit :

H% : Humidité

M1 : Masse de la capsule + matière fraîche après l'étuvage ;

M2 : Masse de l'ensemble avant l'étuvage ;

M0 : Masse de la prise d'essai (g).

2. Expression des résultats des cendres

$$Mm = (m2 - m1 / m0) 100$$

Soit :

m0 : Masse initiale du miel.

m1 : Masse de la capsule vide.

m2 : Masse de la capsule après incinération.

Mm : Matière minérale.

3. Expression des résultats conductivité

- Détermination de la constante de la cellule

$$k = 11,691 * 1/g$$

Soit :

K : constante de la cellule

g : la conductance de la solution KCL (mS/cm)

- La masse de miel est pesée selon la manière suivante :

$$M = 5 \cdot 100 / MS$$

Soit :

MS : Matière sèche du miel.

M : Masse du miel en g.

$$CE = K \cdot G$$

Soit :

CE : conductivité électrique du miel exprimée (mS.cm⁻¹)

K : constante de la cellule

G : conductance de la solution (mS/cm)

4. Expression des résultats de l'acidité libre (Rebai et Saidisief, 2017)

$$\text{Acidité libre (meq/kg)} = (1000 \cdot V \cdot N) / M$$

Soit :

V : volume en millilitres d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le pH du point équivalent E lors de la neutralisation du miel.

N : normalité de NaOH.

M : prise d'essais en grammes.

Annexe N° 03 : Résultats des paramètres physicochimiques des miels (Teneur en cendres, teneur en eau).

Tableau N°01 : Les valeurs de la teneur en cendres des échantillons du miel.

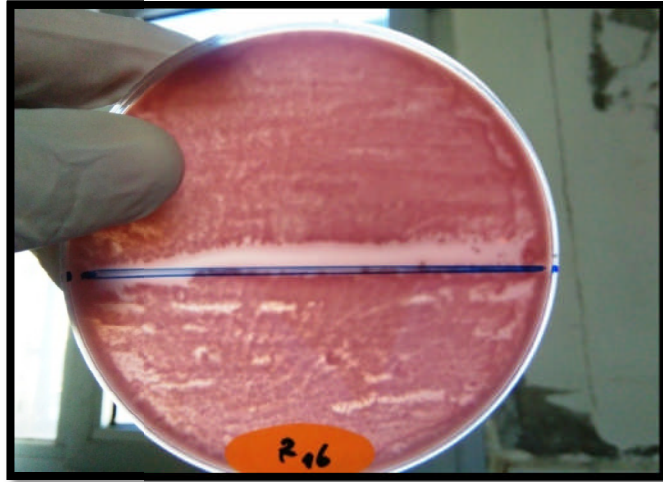
	ML	MC
P1	28.5239	14.4179
P2	28.5301	14.4217
P0	3.2518	3.2054
(P2-P1/P0)100	0.19	0.118

Tableau N° 02 : Les valeurs de la teneur en eau des échantillons du miel.

	ML		MC	
	Test1	Test2	Test1	Test2
M1	45.4721	45.5098	36.3517	43.7125
M2	45.9526	45.9798	36.9213	44.2625
M0	5.0152	5.0324	5.0933	5.0213
(M1-M2/M0) 100	9.5808	9.3394	11.1833	10.9632
L'ensemble	9.45		11.07	

Annexe N° 04:

colonies d'Escherichia coli sur gélose Mac Conkey après 24H d'incubation à 37°, les colonies sont rondes, brillantes et rosâtre (lactose+).



Annexe N°05: Milieux utilisés.

1. Gélose Mac Conkey

➤ Composition

Pour un litre de milieu

- Peptone pepsique de viande1.5g
- Tryptone1.5g
- Peptone pancréatique de gélatine.....17.0g
- sels biliaires1.5g
- Lactose.....10.0g
- Rouge neutre.....30mg
- Chlorure de sodium.....5.0g
- Cristal violet1mg
- Agar agar bactériologique.....13.5g
- pH du milieu prêt al'emploi.....25°C :7.1±0.2.

2. Gélose Mueller-Hinton

➤ Composition

Pour un litre de milieu

- Hydrolysate acide de caséine.....17.5g
- Amidon soluble.....1.5g
- Extrait de viande2.0g
- Agar agar bactériologique.....17.0g
- pH du milieu prêt à l'emploi.....25°C : 7.3±0.2.

Annexe N° 06: Préparation de l'inoculum standard des isolats

A partir d'une culture pure de 24H sur milieu d'isolement raclé à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée, quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques. Décharger la pipete pasteur dans trois à dix ml d'eau distillée stérile. La suspension est soigneusement homogénéisée, son opacité doit être équivalente à 0.5Mc Farland ou à une densité optique de 0.08 à 0.13 lue au spectrophotomètre a 625nm. L'ensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum (**Soussy et al., 2010**).

Annexe N°07 : Résultats d'antibiogramme.

Antibiotique	F1		R16		R1		R4	
	DI (mm)	IN	DI (mm)	IN	DI (mm)	IN	DI (mm)	IN
Amoxicilline +Acide clavulanique	06	R	06	R	06	R	06	R
Ampicilline	06	R	06	R	06	R	06	R
Gentamicine	06	R	17	S	17	S	17	S
Kanamycine	12	R	06	R	06	R	06	R
Triméthoprim+ Sulfaméthoxazole	06	R	06	R	06	R	06	R
Tétracyclines	06	R	06	R	06	R	06	R
Acide nalidixiqueR	06	R	06	R	06	R	06	R
Enrofloxacin	06	R	17	I	17	I	16	R
Colistine	13	S	13	S	13	S	13	S
Chloramphénicol	28	S	15	I	14	I	16	I

DI : Diamètre d'inhibition

IN : Interprétation

Annexe N°09 : Résultats de l'effet antibactérien de la propolis p10.

Tableau N°01 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat F1 CH

Concentration	5%	10%	20%	30%	Témoin
Zone d'inhibition	00mm	00mm	00mm	15mm	-
Catégories clinique	R	R	R	S	-

Tableau N°02 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc16

Concentration	5%	10%	20%	30%	Témoin
Zone d'inhibition	00mm	00mm	00mm	00mm	-
Catégories clinique	R	R	R	R	-

Tableau N°03 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc1

Concentration	5%	10%	20%	30%	Témoin
Zone d'inhibition	8mm	9mm	11mm	15mm	-
Catégories clinique	R	S	S	S	-

Tableau N°04 : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc4

Concentration	5%	10%	20%	30%	Témoin
Zone d'inhibition	08mm	11mm	12mm	16mm	-
Catégories clinique	R	S	S	S	-

Résumé

Cette étude vise à évaluer in vitro l'effet antibactérien de deux variétés du miel (Cèdre et Loubaina), deux échantillons de propolis (P6 et P10) et un échantillon de pollen, récoltés de différentes régions algériennes à l'égard de quatre isolats d'*E. Coli aviaire pathogène* (F1, R16, R4 et R1), en adoptant la technique de diffusion par puits les extraits sont testés à différentes concentrations (25, 50, 75, 100% pour le miel, 5, 10, 20, 30% pour la propolis).

Pour identifier les principes actifs du miel responsables de son effet antibactérien sur ces isolats, quelques analyses physico-chimiques ont été effectuées. Il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH, de l'acidité libre, des teneurs en cendres. D'après les résultats ces deux produits répondent aux normes préconisées par le Codex Alimentarius.

Ainsi l'étude de l'activité inhibitrice « in vitro », a montré que la propolis P10 et les miels (ML et MC) ont exercé un effet antibactérien remarquable aux concentrations 30% et 100% respectivement avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 16mm. Cependant la propolis P6 et le pollen n'ont révélé aucune inhibition sur les isolats testés. Par ailleurs l'étude de la synergie entre le pollen et le miel n'a montré aucune augmentation significative.

Mots clés : Effet antibactérien, E. coli aviaire pathogène, miel, propolis, pollen, analyses physico-chimiques.

ملخص:

تهدف هذه الدراسة إلى تقييم التأثير المضاد للبكتيريا لنوعين من العسل (عسل اللبينة وعسل السدر) نوعين من الدنج (P6 و P10) ونوع من حبوب اللقاح المتحصل عليهم من مختلف مناطق الجزائر، ضد أربع عزلات لبكتيريا اشيريشياكولاي الممرضة للدواجن (F1، R4، R1، R16)، باعتماد تقنية Les puits تم اختبار المستخلصات بسلسلة من التراكيز المختلفة (25%، 50%، 75%، 100%) للعسل و (5، 10، 20، 30) للدنج.

لتحديد المكونات النشطة للعسل المسؤولة عن تأثيره المضاد للبكتيريا، تم إجراء بعض التحاليل الفيزيائية والكيميائية نذكر منها: تحليل محتوى الماء، التوصيل الكهربائي، الرقم الهيدروجيني، الحموضة ومحتوى الرماد.

أشارت النتائج المتحصل عليها أن هذان المنتجان يتسمان بالمعايير الموصى بها من قبل Codex Alimentaire، كما أظهرت نتائج دراسة النشاط المثبط أن كل من الدنج P10 وعينتي العسل قد أحدثوا تأثيرا مضادا ملحوظا مع كفاءة عالية في النسب 30% و 100% على التوالي. غير أن كل من الدنج P6 وحبوب اللقاح لم يظهر أي نشاط تثبيطي على العزلات المدروسة. علاوة على ذلك فإن دراسة النشاط التثبيطي المشترك بين العسل وحبوب اللقاح لم يبد أي ارتفاع في نسبة التأثير المضاد.

الكلمات المفتاحية: التأثير المضاد للبكتيريا، اشيريشياكولاي الممرضة للدواجن، العسل، الدنج، حبوب اللقاح، الخصائص الفيزيوكيميائية.