

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR

ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE IBN KHALDOUN DE TIARET

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES



**Mémoire de fin d'études
en vue de l'obtention du diplôme de docteur veterinaire**

THEME :

***EFFET ANTIBACTERIEN DU MIEL ET DU
PROPOLIS SUR ESCHERICHIA COLI AVIAIRE.***

Présenté par :

❖ **Hocine Abdelmadjid**

Encadre par :

P. Hammoudi Abdelhamid

Année universitaire : 2018 – 2019

Remerciements

En premier lieu je remercie Dieu pour m'avoir donné le pouvoir, la force et la patience adéquate pour travailler sur ce projet de fin d'études.

Mes remerciement vont être attribué également à mon promoteur, sans lui ce travail ne serait jamais achevé, alors je remercie Pr. Hammoudi Abdelhamid pour la qualité de son encadrement exceptionnel, pour sa patience, sa compréhension, sa rigueur et disponibilité et efforts qui ont été déployés dans ce sujet

Je profite aussi de cette occasion solennelle pour adresser mes profonds remerciements à tous qui nous ont aidés de près ou de loin

Merci

Dédicace

Allah Le bénéfique soit loué et qu'il nous guide sur la bonne voie

Je précise que ce travail m'a permis de découvrir de nouvelles personnes et des nouveaux savoirs.

Comme je saisis cette occasion pour dédie cette œuvre à ma chère mère, mon paradis et ma joie, ma raison de vivre et la source de mes inspirations, à mon père, ma fierté, ma force et ma gloire ; à mes sœurs Ikram et Ratiba, mon frère Mohamed ma petite version de moi, aussi au membres de ma grande famille maternelle et paternelle , mes amis les plus proches Zakaria Mokhtari, Housseem Hichor , Houssam Hamroune, Amine Kadi, Abdelmadjid Mehalli, Mekhanter Abdelrezak et dr Habib Bouremla et en finale pour ma source de motivation et mon bonheur absolu Amal Yassmine Stiti.

Sommaire :

Partie bibliographique

Chapitre 1 :

Particularités anatomo-physiologiques des Volailles	6
I.1. Particularités anatomo-physiologiques des oiseaux	7
I.2. La structure de l'appareil respiratoire des oiseaux	9
I.3. Les défenses de l'appareil respiratoire des oiseaux	10
I.4. Le système respiratoire.....	11
I.5. La respiration dans le monde des volailles.....	11

Chapitre 2 : Prophylaxie médicale et sanitaire

II.1. Maîtrise de la colibacillose aviaire.....	17
II.2. Chimio prophylaxie et traitement	17
II.3. Mesures préventives.....	18
II.4. Prophylaxie sanitaire	20

Chapitre 3 : Produits de la ruche : Propolis, Miel, Pollen

III.1. Propolis.....	23
III.1.1. Définition	23
III.1.2. La Récolte	23
III.1.3. Composition moyenne de la propolis	24
III.1.4. Les différents chémotypes de propolis.....	24
III.1.5. Les propriétés thérapeutiques de la propolis	24
III.2. Miel	27
III.2.1. Définition	27
III.2.2. Origine du miel	27
III.2.3. Récolte et conservation	27
III.2.4. Composition	28
III.2.5. Effet antibactérien	29
III.3 Pollen	30
III.3.1 Définition	30
III.3.2 Structure et forme du pollen	30
III.3.3 Origine et pollinisation.....	31
III.3.4 La Récolte	31
III.3.5 Conservation	32
III.3.6 Composition	33
III.3.7 Propriétés thérapeutiques	33

Partie expérimentale

Chapitre 1 : Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

1. Lieu et période de travail	37
2. Matériels.....	37
3. Méthodes	40
3.1 Protocol expérimental.....	40
1. Analyses physicochimiques.....	42
1.1 . Humidité (AOAC, 2000)	42
1.2. Taux de cendres (CODEX, 1977)	43
1.3. Conductivité électrique.....	44
1.4. Détermination du pH.....	45
1.5. L'acidité libre	45

Chapitre 2 : Résultats et discussions

Résultats : paramètres physicochimiques du miel	54
Résultats : Confirmation des isolats.....	57
Discussions	59
Conclusion.....	76
Références.....	78
Annexes.....	91

Partie bibliographique

CHAPITRE 1 :
Particularités anatomo-
physiologiques des Volailles

I.1. Particularités anatomo physiologiques de l'appareil respiratoire des oiseaux

En ce qui concerne les maladies respiratoires de nombreux facteurs peuvent intervenir agissant le plus souvent en synergie avec l'agent infectieux considéré souvent comme le principal responsable. Les facteurs biologiques intervenant dans la pathologie respiratoire des volailles peuvent être intrinsèques (anatomie et physiologie du tractus respiratoire des oiseaux, âge, facteurs génétiques et statut immunitaire) ou extrinsèques (conditions d'élevage, agents contaminants).

I.1.1. Facteurs intrinsèques

L'anatomie du système respiratoire des oiseaux présente de nombreuses particularités par rapport aux mammifères. L'architecture de la cage thoracique et le parenchyme pulmonaire sont très rigides. Le mouvement respiratoire le plus perceptible est un abaissement du sternum qui mobilise le thorax et l'abdomen.

Toutes ces modifications essentielles sont liées aux exigences du vol : consommation importante en oxygène, thermorégulation, allègement du corps.

L'appareil respiratoire des oiseaux peut être divisé en trois parties :

- Les voies respiratoires extra pulmonaires (narines ou choane, fosses nasales, sinus infra orbitaires, syrinx et trachée),
- Les poumons et l'arbre bronchique,
- Les sacs aériens (9 paires).

Le poumon est caractérisé par l'absence d'alvéoles fermées et leur remplacement par des capillaires inter communicants très étroits permettant d'assurer aux oiseaux une surface respiratoire très étendue malgré le petit volume total des poumons. La faible vascularisation des sacs aériens peut expliquer la fréquence des aérosacculites observées chez les oiseaux lors d'une affection respiratoire.

La physiologie de la respiration, particulière aux oiseaux, joue également un rôle. Le volume pulmonaire est constant contrairement à celui des mammifères qui est élastique,. Les variations de volume ne concernent que les sacs aériens qui assurent en fait la circulation. Ainsi, le sens du trajet suivi par l'air inspiré dans les voies

respiratoires explique la localisation plus fréquente des aérosacculites dans les sacs aériens abdominaux.

Le statut immunitaire des animaux doit être également considéré, qu'il s'agisse de l'immunité passive d'origine maternelle ou de l'immunité active, en particulier celle obtenue par la vaccination contre les principales maladies respiratoires ou contre les maladies immunodépressives (MARTEL et al. 1897).

1.1.2. Facteurs extrinsèques

Les conditions d'élevage peuvent être à l'origine d'un stress immunodépresseur: surpopulation, mélange des oiseaux lors de la mise en place d'une bande, transport, arrêt de la distribution de l'aliment ou de l'eau de boisson, vaccinations, contraintes diverses...

Ainsi, par exemple, l'augmentation de la densité animale peut s'accompagner d'une réactivation du virus influenza chez le dindon.

De même, l'arrêt de la distribution de l'aliment ou de l'eau de boisson peut augmenter la sensibilité des oiseaux au virus de la maladie de Newcastle.

Dans un élevage industriel soumis à un environnement artificiel, l'habitat des animaux joue un rôle important dans la résistance à l'infection.

Chez des oiseaux soumis à un stress social, on a pu remarquer une meilleure résistance aux infections bactériennes (colibacille, staphylocoque) mais, par contre, une plus grande sensibilité au virus de la maladie de Newcastle et aux mycoplasmes (MARTEL et al. 1897).

Les agents contaminants peuvent être responsables d'une immunodépression favorisant l'apparition d'une maladie respiratoire ou intervenir directement sur le tractus respiratoire, soit en tant que facteur étiologique primaire, soit en tant que facteur secondaire agissant en synergie avec l'agent spécifique pour aggraver la maladie.

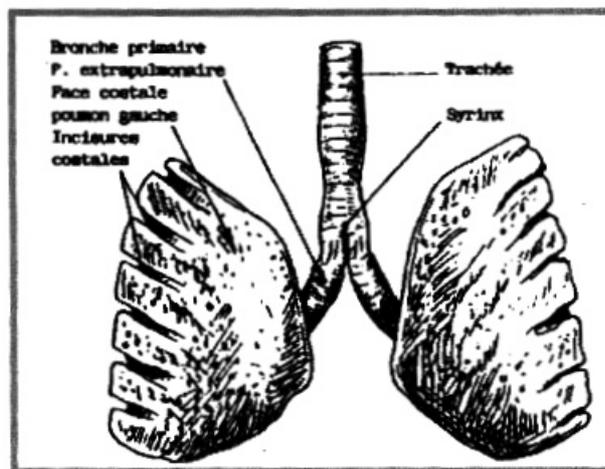
Les infections immunodépressives sont bien connues en pathologie aviaire. Le plus souvent, il s'agit d'une maladie virale (maladie de Gumboro, leucose lymphoïde, maladie de Marek et réticulo-endothéliose). D'autres germes comme *Alcaligenes faecalis*, ou *Mycoplasma gallisepticum* semblent également présenter une action immunodépressive (MARTEL et al. 1897).

I.2. La structure de l'appareil respiratoire des oiseaux

L'organisme anatomo-histologique du tractus respiratoire des oiseaux est complètement différent de celui des mammifères. Une description sommaire des principales caractéristiques permet de mieux comprendre l'extrême sensibilité des poulets aux infections respiratoires ainsi que le développement possible de celles-ci.

On distingue :

Des poumons rigides (non extensibles) et de petite taille qui présentent des structures histologiques originales associées à un fonctionnement singulier. L'air inhalé traverse le parenchyme pulmonaire à l'inspiration comme à l'expiration. La surface d'échange gazeux extrêmement fine (0,03 μ m) et développée est constituée par des capillaires aériens en contact très étroit avec la circulation sanguine. Tous ces éléments concourent à l'obtention d'un rendement respiratoire très élevé (QUINN et al. 1994).



**Figure N° 01 : Aspect des poumons des oiseaux
(BENDA et al. 1993)**

9 paires de sacs aériens qui remplissent tous les espaces de la cavité coelomique non occupés par les viscères (absence de diaphragme) et dont certaines extensions peuvent se prolonger à l'intérieur de différents os creux (humérus, sternum, vertèbres, ilium, etc.). Limités par une paroi très fine, ils ne jouent aucun rôle dans les échanges gazeux mais permettent la circulation de l'air au cours du cycle respiratoire par un

système de régulation de leur pression interne. Le circuit de l'air inhalé permet de distinguer les sacs aériens crâniens des sacs aériens caudaux.

Contrairement aux premiers, les sacs aériens thoraciques caudaux et abdominaux reçoivent directement un air peu filtré car court-circuitant la zone pulmonaire de clairance. Ceci explique la prévalence et la sévérité plus importante des infections à leur niveau (BREE et al. 1989).

La disposition des sacs aériens crée une continuité anatomique entre les poumons et l'ensemble des organes thoraciques et abdominaux ainsi qu'avec une partie du squelette. Une infection pulmonaire évolutive du tractus respiratoire est donc susceptible de s'étendre à un grand nombre d'organes générant une grande variété de tableaux cliniques (ovaro-salpingite, ostéomyélite, synovite, lésions musculaires septicémiques).

I.3. Les défenses de l'appareil respiratoire des oiseaux

Les défenses de l'appareil respiratoire des poulets sont limitées. Les cellules ciliées présentes dans l'épithélium de la trachée, des bronches primaires et de la racine des bronches secondaires permettent de mobiliser le mucus sécrété par les cellules mucipares vers la cavité buccale. Tout dysfonctionnement de l'escalator mucociliaire facilite le développement des infections respiratoires.

Les macrophages résidents sont très rares dans la lumière des différents compartiments du parenchyme pulmonaire. Ils se localisent en plus grand nombre dans les septa conjonctifs inter-artériels et plus généralement à l'entrée de la zone d'échanges gazeux (capillaires aériens). L'efficacité de la réponse non spécifique aux agressions virulentes dépend entièrement de l'afflux des macrophages dans les interstitia par chimiotactisme. Il semble que les cellules épithéliales soient capables d'internaliser des éléments particuliers prisonniers de la couche trilaminaire qui recouvre leur pôle apical et de les transmettre aux macrophages interstitiaux qui les phagocyteront. Ces phagocytes professionnels sont souvent associés à des mastocytes (BENDA et al. 1993).

I.4. Le système respiratoire

Le système respiratoire des oiseaux se caractérise par la taille relativement petite des deux poumons et par le fait que ceux-ci sont reliés à des sacs aériens, genre de petites poches situées dans le corps de l'oiseau. Les poumons et les sacs aériens sont remplis d'air et vidés grâce à l'action des muscles du poitrail. La cage thoracique est consolidée par un sternum hypertrophié (bréchet) et les apophyses insérées aux cotes. Elle est si peu mobile au cours du cycle respiratoire, que dans certaines espèces aucun mouvement n'est perceptible (genre d'oie).

Le diaphragme est absent. Il est remplacé par une mince membrane broncho pleurale rattachée aux cotes par des faisceaux musculaires (muscle costopulmonaire de fedde) qui se contractent en réalité, lors de l'expiration. Les poumons qui n'occupent que la partie supérieure du thorax restent «déployés » en permanence car leur volume ne varie pas au cours des mouvements respiratoires

Du point de vue de la structure, le poumon est organisé autour des voies successives de divisions bronchiques. La trachée se prolonge à l'intérieur de chaque poumon par un conduit axial; la méso bronche ; celle-ci délègue une première série de ramifications, les 4 ventrobranches, puis un groupe de 7 à 10 dorsobronches (BOLIN et al. 1987).

Les ramifications reliant dorso et ventrobronches sont les para bronches du paléopulmo organisées en conduits parallèles entre eux et aussi parallèles à la méso bronche. Vers l'arrière un réseau de para bronches « en série » avec la méso bronche s'interpose entre cette dernière et les sacs aériens caudaux (sac abdominal et thoracique caudaux). Ce second réseau de para bronches constitue le néopulmo (BERKHOF et al. 1986).

I.5. La respiration dans le monde des volailles

Les facteurs morphologiques jouent un rôle important au cours du cycle de respiration, tels que : diamètre, direction, orientation des bronches et para bronches avec une participation d'une pression des muscles lisses respiratoires :

- L'air rentre par les narines ou par le bec,
- La trachée amène l'air, à la base du cou elle se sépare en deux bronches, chacune reliée à un poumon et aux sacs pulmonaires auxquels celui-ci est relié.

Particularités anatomo-physiologiques des Volailles

Le poumon est l'organe respiratoire qui permet d'échanger les gaz respiratoires. Les poumons des oiseaux sont rigides, leur taille ne change pas au cours de l'inspiration et de l'expiration. Chaque poumon est pénétré par une bronche qui se divise en de très nombreuses bronches, elles mêmes divisées en petites bronches. Les petites bronches arrivent dans un réseau appelé para bronches. La longueur des para bronches varie de 1 à 4cm, leur diamètre de 1 à 2mm, leur paroi est percée d'innombrables orifices qui conduisent à des chambres d'un diamètre de 0,1mm. Ces chambres sont unies par un réseau de «capillaires aériens» de 3 à 10 μm , entrelacés avec un réseau très dense de capillaires sanguins (BENDA et al. 1993).

On appelle sac aérien chacune des poches pouvant se remplir d'air et formant une partie de l'appareil respiratoire des oiseaux. Leur nombre varie suivant les espèces, ils peuvent représenter une partie importante du volume corporel de l'oiseau (jusqu'à 18 % chez le canard colvert, par exemple). Ils n'interviennent pas directement dans l'absorption du dioxygène dans le sang (comme les alvéoles pulmonaires chez l'homme), mais jouent un rôle essentiel dans la circulation de l'air (ils fonctionnent comme des soufflets) et aident à refroidir le corps.

La présence de plumes réduit la ventilation de l'épiderme et empêche les oiseaux d'avoir une respiration cutanée.

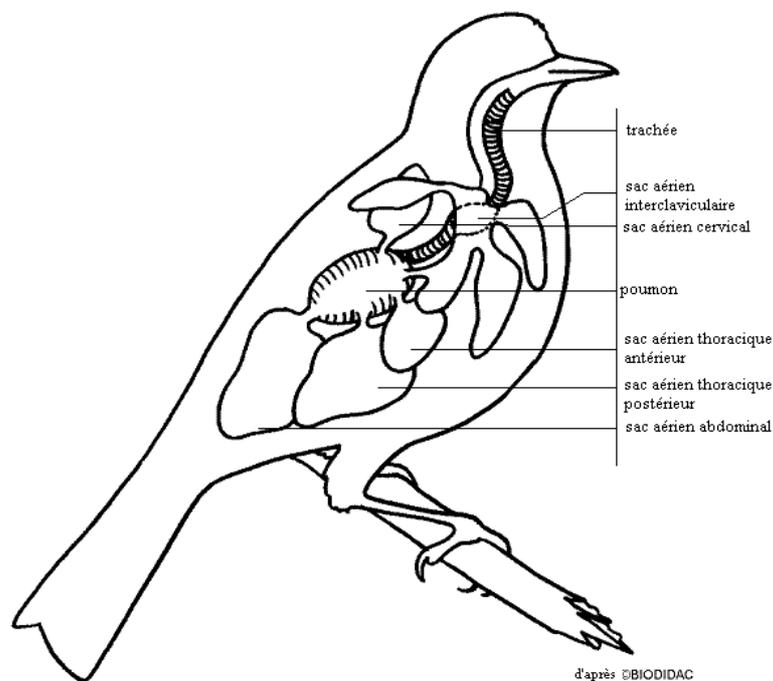


Figure N° 02 : Aspect latéral droit du tractus respiratoire des oiseaux (BERKHOFF et al. 1986).

I.5.1. Le fonctionnement de l'appareil respiratoire des oiseaux :

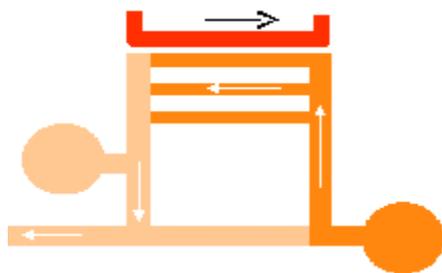
Globalement, les oiseaux supportent mieux l'hypoxie d'altitude que les mammifères. Ceci a été mis en évidence en plaçant en condition hypoxique (altitude de 6100 m) des souris et des moineaux approximativement de même poids et de même métabolisme basal. Les souris présentaient des difficultés respiratoires et une incapacité à l'effort, alors que les moineaux continuaient à voler (BENDA et al. 1993).

Cette différence de résistance à l'hypoxie ne s'explique pas par une différence de consommation d'O₂, elle est due essentiellement à la structure du fonctionnement particulier du poumon des oiseaux (BENDA et al. 1993).

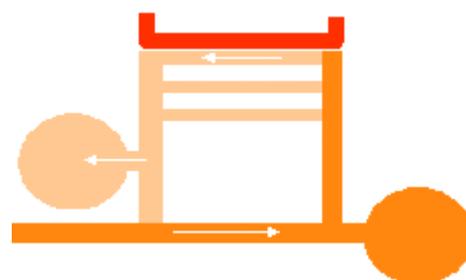
I.5.2. Le cycle respiratoire de l'oiseau

Le poumon des oiseaux fonctionne en flux unidirectionnel : le passage de l'air inspiré dans la zone d'échange respiratoire se fait dans un seul sens, et une quantité d'air inspiré parcourt le poumon dans sa totalité sur deux cycles d'inspiration expiration.

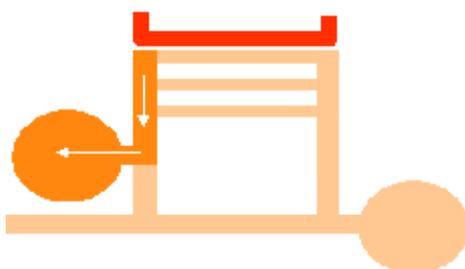
☞ 1. 1^{re} inspiration



☞ 2. 1^{re} expiration



☞ 3. 2^{ème} inspiration



☞ 4. 2^{ème} expiration

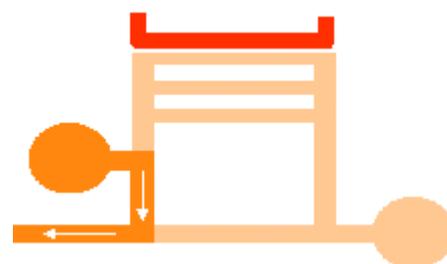


Figure N° 03: Le cycle respiratoire des oiseaux. (BERKHOFF et al. 1986)

Lors de l'inspiration, il existe une pression négative dans l'ensemble des sacs aériens. L'air inspiré se divise en 2 flux : L'un qui emprunte les dorsobronches et traverse les para bronches du paléopulmo, l'autre qui traverse les para bronches du néopulmo et gagne les sacs postérieurs.

A l'expiration, l'air des sacs aériens caudaux traverse d'arrière en avant les para bronches du néopulmo et emprunte en partie les méso et les dorsobronches. La fraction qui suit les dorsobronches traverse ensuite les paras bronches du paléopulmo avant de rejoindre les ventrobronches et l'air extérieur. Les deux réseaux de para bronches du noe et paléopulmo constituent le point de départ de conduits plus fins : « Les capillaires aériens », ceux-ci seront en relation étroite avec les capillaires sanguins, avec lesquels ils constituent un échange à contre courant. Il n'existe pas d'alvéole : ici les échanges se font de façon continue, le dispositif ayant une efficacité beaucoup plus grande que chez les mammifères (BERKHOF *et al.* 1986).

Par ailleurs, un système de circulation concourant multiple fait que la pression d'O₂ sanguine s'approche de la pression interne d'O₂ et qu'elle est supérieure à la pression d'O₂ de l'air expiré, ce qui n'est pas possible chez les mammifères. Le poumon des oiseaux a donc un pouvoir d'extraction de l'oxygène supérieur à celui des mammifères.

I.5.3. L'adaptation spécifique à l'altitude

Ces particularités fonctionnelles confèrent aux oiseaux une meilleure tolérance à l'altitude. Ceci n'empêche pas que parmi les oiseaux certains soient mieux adaptés que d'autres à l'altitude. Par exemple, l'oie à tête barrée, qui survole les hautes chaînes de l'Himalaya au cours de ses migrations, a une affinité pour l'oxygène très élevée ; sa P₅₀ est de 10 mmHg, supérieure à celle des espèces voisines de basse altitude.

Enfin, les oiseaux gardent un débit sanguin normal vers le cerveau lors d'hypocapnie, alors que chez les mammifères, la baisse de la Pression du CO₂ entraîne une diminution du flux sanguin cérébral, et donc une anoxie cérébrale (BENDA *et al.* 1993).

I.5.4. Respiration et thermolyse

La thermorégulation des oiseaux obéit à des contraintes encore plus sévères que celle des mammifères dans le cas de la lutte contre le chaud car leur température

Particularités anatomo-physiologiques des Volailles

corporelle est réglée à 4 °C, de plus les oiseaux ne possèdent pas les mécanismes de thermolyse liés à l'évaporation d'eau dans les voies respiratoires, par polypnée thermique (halètement). Comme chez les mammifères qui utilisent ce mécanisme, l'évaporation se produit au niveau des premières voies (muqueuses buccales ou pituitaires) et dans les voies trachéo bronchiques. Les sacs aériens offrent un dispositif supplémentaire de convection des calories, dont l'intérêt provient de ce qu'ils entourent la totalité des organes thoraciques et abdominaux. Ce sont aussi des zones d'évaporation. Il est admis que le principal facteur du déclenchement de la polypnée thermique est l'élévation de la température centrale (le réchauffement et le refroidissement des zones localisées de l'encéphale sont susceptibles de déclencher ou d'arrêter la polypnée. Chez la poule, il est bien montré que la fréquence de la ventilation croît régulièrement puis chute lorsque la température corporelle dépasse de 41-45 ou 46 °C (BERKHOF et al. 1986

Chapitre 2 :

Prophylaxie médicale et

sanitaire

II.1. Maîtrise de la colibacillose aviaire

II.1.1. Stimulation du système immunitaire chez les poulets contre la colibacillose

Une des contributions les plus intéressantes de la recherche se concentrant sur les maladies infectieuses a été une meilleure compréhension immunitaire innée. La découverte récente des motifs de CPG (Cytidine- phosphate-Gaunosine) qui peut moduler des immuno-réactions a été utilisée comme adjuvant pour augmenter les réponses aux vaccins et comme un immunostimulant direct pour empêcher des infections. En utilisant un modèle de poulet d'*E Coli* on a pu empêcher la cellulite chez les poulets avec CPG. Donc CPG peut être employé pour réduire les maladies infectieuses. En outre, des formulations de CPG avec des divers antigènes protéine de recombinaison, les peptides, et les vaccins peuvent décaler l'immuno-réactions. Les motifs CPG peuvent stimuler une cascade de cytokine qui dirige les réponses immunisées. Le CPG peut directement activer les monocytes, les macrophages ou les cellules dendritique pour sécréter l'interféron, et les chemokines (JOHN et al.2007).

II.2. Chimio prophylaxie et traitement L'antibiotique dans la filière aviaire est administré a titre préventif et curatif. Les antibiotiques les plus utilisés sont:

- ▶Les bêtalactamines (Ampicilline, Amoxycilline)
- ▶Les aminosides (Streptomycine, Spectiomycine, Gentamycine, Néomycine)
- ▶Les quinolones (Acide oxolinique, Fluméquine, Enrofloxacine)
- ▶Chlorotétracycline.
- ▶Sulfamides.
- ▶Oxytétracycline.

Néanmoins les principales molécules autorisées et disponibles en France, sous forme de traitement préventif ou curatif par voie orale sont l'ampicilline l'amoxycilline, la fluméquine, l'enrofloxacine, la doxycycline et les sulfamides potentialisés. De plus, des *E.coli* résistants à un ou plusieurs de ces principes actifs ont été isolés un peu partout à partir d'animaux sains ou malades. L'émergence de souches multi résistantes vis-à-vis d'un nombre croissant d'antibactériens (fréquemment 4 ou 5 et jusqu'à 21) restreint d'autant l'arsenal thérapeutique disponible. Toutefois, il faut rester prudent quant à l'utilisation des antibiotiques car de récentes études menées sur une collection de 1600 souches APEC ont montrées que le nombre de souches résistantes à ces divers

antibiotiques allait en s'accroissant. Il est donc plus que jamais nécessaire de réaliser un antibiogramme raisonné et suffisamment longtemps avant ou en parallèle au traitement empirique. Des traitements alternatifs aux antibiotiques existent aussi, comme l'acide ascorbique qui contribue à intensifier l'activité des phagocytes, ainsi que l'amélioration des conditions d'élevages (FERNANDEZ et al.1998). L'utilisation possible de molécules récentes comme certaines fluoroquinolones (enrofloxacin et norfloxacin) actif contre la colibacillose aviaire devrait donc être réfléchi en termes de santé publique d'autant plus que des résistances à l'enrofloxacin ont déjà été signalées. Des études ont montrées qu'au sein d'un même troupeau de poulets reproducteurs, les antibiotypes des souches d'*E.coli* évoluent parfois brutalement, tout au long de la vie des oiseaux d'une même bande. Ainsi, les bactéries isolées chez les poussins d'un jour livrés à l'élevage sont sensibles contrairement à celles (multi résistantes) obtenues deux semaines après chez les mêmes animaux (DOZOIS et al.1992). Enfin les antibiotypes des isolats cliniques et des colibacilloses présentes dans la litière peuvent différer plus ou moins significativement, tous ces éléments soulignent l'intérêt de réaliser un antibiogramme de la souche d'*E.coli* incriminé lors d'un épisode clinique afin de mettre en place un traitement ciblé. Un autre axe de recherche consiste à expérimenter des substances thérapeutiques à large spectre, telle la phosphomycine, facile à administrer, possédant une bonne biodisponibilité, capable de contrôler précocement l'infection (absence de lésions et de dégradation des performances en stérilisant les animaux grâce à une puissante activité bactéricide).

II.3. Mesures préventives

II.3.1. Prophylaxie médicale A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire à part les vaccins inactivés contre les sérotypes d'*E.coli*. Chez les dindes un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux est couronnés de succès avec des souches homologues. Ils n'en restent pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain. L'administration d'un sérum homologue hyper-immu anti *E.coli* (O₇₈K₈₀) à des dindes de 18 jours les protège vis à vis de cette souche pathogène inoculée par aérosol ou par voie intraveineuse, suggérant un rôle protecteur des anticorps (ArpL 1982). L'essentiel des anticorps maternels est constitué

par les immunoglobulines G concentrées dans le jaune d'œuf complètement absorbés par le poussins peu de temps après l'éclosion. Les anticorps sériques atteignent une concentration plasmatique maximale 3 jours après, laquelle décroît régulièrement jusqu'à l'âge de 2 à 3 semaines pendant lesquelles l'immunisation passive peut protéger les oiseaux (en fonction du titre initial) et la vaccination est déconseillée par voie de conséquence. Différents types de vaccins contre la colibacillose ont été préparés et testés expérimentalement afin d'évaluer le niveau de protection des animaux à long cycle de production (pondeuses, reproducteurs) et des jeunes oiseaux, particulièrement sensibles, par le biais de l'immunité maternelle. La vaccination des poules à l'âge de six mois confère une protection efficace de leur descendance vis-à-vis d'une épreuve virulente (souches homologues) pendant les quinze premiers jours de leur vie. La plupart des vaccins testés sont préparés à partir de bactéries inactivées ou vésicules membranaires. Les vaccins adjuvés seraient plus efficaces et induiraient une Sero immunité précoce et durable (jusqu'à 160 jours) des oiseaux vaccinés étroitement corrélée au titre d'anticorps, néanmoins l'absence de protection croisée contre des souches *d'E.coli* de sérotypes différents implique d'associer les principales valences afin de maîtriser correctement les risques de colibacillose (ArpL 1982). L'atténuation de virulence d'*E.coli* pathogène aviaire par inactivation de gènes du métabolisme permet d'envisager la mise au point de vaccins atténués à action prolongée après une seule administration. Des mutants auxotrophes stables ont été construits par transduction p1 et testés respectivement chez la dinde par voie orale et chez le poulet par injection (JOHN et al.2007). Dans certains cas, une antibioprévention efficace et adaptée peut être utile si nécessaire (contrôle 1 jour), ainsi que des vaccins anticolibacillaires (Neotyphomix autovaccins) et d'autre vaccination (ND, BI, LTI, RTI) (FERON 1992). L'administration d'un sérum homologue hyper-immun anti *E coli* à des dindes de 18 jours les protège vis-à-vis de cette souche pathogène inoculée par aérosol ou par voie intraveineuse (MALAVIYA et al.1994).

II.3.2. Les vaccins : les vaccins ont été produits pour immuniser des poulets contre les *E coli* pathogènes. L'utilisation d'un vaccin polyvalent d'*E Coli* à été évaluée chez les poulets âgée de 4 semaines, les poulets sont vacciné deux fois en sous cutanée (4

semaine d'âge) au niveau du sac thoracique postérieur avec les différents vaccins (6 semaine d'âge), les poulets vaccinés ont des lésions brutes très douces dans les sacs d'air, le foie et les sacs péricardiques. Les résultats ont prouvés qu'un vaccin polyvalent de pilis procure une protection du poulet contre l'infection respiratoire active. La vaccination des poulets d'âge de 6mois confère une protection efficace de leur descendance vis-à-vis d'une épreuve virulente (souche homologue) pendant les quinze premiers jours de leur vie. La plus part des vaccins testés sont préparés à partir de bactérie inactivée (POURBAKHS et al.1997). Les faibles titres d'anticorps sont détecte 5 jours et permet une protection de 20% (DHO 1993).

II.3.3. Contrôle A l'heure actuelle, aucun vaccin efficace n'est disponible sur le marché vétérinaire mondial. Cependant, même si un certain nombre d'essais vaccinaux ont été effectués à l'aide de souches atténuées en modèles expérimentaux et couronnés de succès avec des souches homologues, ils n'en reste pas moins inefficaces envers des infections avec des souches hétérologues de terrain (DHO et al.1999). De la même façon, une immunisation passive des jeunes animaux est satisfaisante, mais uniquement vis-à-vis de la souche homologue. Ceci n'est pas surprenant, étant donné l'énorme diversité que représentent les souches APEC en matière de facteurs de virulence et le peu de données concrètes à leur sujet. Enfin, les systèmes de vaccination employant la technique du spray nébulisation chez les poussins d'un jour ne sont peut être pas les méthodes les plus appropriées pour empêcher la propagation des colibacilles par voie aérienne.

II.4. Prophylaxie sanitaire La maîtrise des principaux facteurs de risque associés à la colibacillose demeure actuellement, la meilleure façon de prévenir l'apparition des colibacilloses aviaires (FERRON 1992).

II.4.1. la conduite d'élevage Elle vise à contrôler les contaminations environnementales, les vecteurs animés ou inanimés, afin de réduire au maximum les facteurs prédisposants aux infections respiratoires. Une des méthodes consiste à réduire et à mieux contrôler les contaminations fécales par des sérogroupes pathogènes par exemple, en réduisant la transmission des *E.coli* de la poule au poussin par une fumigation des œufs dans les 2 heures qui suivent la ponte, en les récoltant le plus vite possible après la ponte et en écartant ceux en mauvais état ou présentant

Prophylaxie médicale et sanitaire

des souillures fécales à leur surface (HACKER et al.1997).Les infections du tractus respiratoire des animaux peuvent être réduites en garantissant des animaux indemnes de mycoplasmes et en contrôlant mieux certains facteurs d'environnements comme l'humidité, la ventilation, la teneur en poussière et en ammoniac dans l'air (POURBAKHSI et al.1997). Les rongeurs, les insectes parasites, coprophages, nécrophages sont aussi des réservoirs potentiels de colibacilles et doivent être systématiquement détruits. La qualité de l'eau de boisson est aussi très importante, il faut dès lors veiller à la changer très régulièrement. Des mesures générales de séparation des animaux par classes d'âge et par espèce, des mesures de nettoyage, de désinfection et de vide sanitaire entre chaque lot sont aussi des moyens de prévention indispensables dans le cadre de la lutte contre la colibacillose (WEINAK et al.2006).

Chapitre 3 :
Produits de la ruche : Propolis,
Miel, Pollen

III.1. Propolis

III.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 paenibacillus larvae (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**).

III.1.2. La Récolte :

L'apiculteur possède deux moyens principaux de récolter la propolis, par raclage et grattage ou par des grilles (**Waring C et Waring A, 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 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 6. Grille en plastique souple où sera récoltée la propolis (15)

III.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. (Toreti et al., 2013 ; Xu et al., 2009)
 - o 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 flavonoïdes des composés terpéniques, d'acides aminés d'acides gras les vitamines. (Cardinault et al., 2012)

III.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 *Dallergia ecastophyllum*

III.1.5. Les propriétés thérapeutiques de la propolis :

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

III.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) (**Baltas et al., 2016 ; Banskota, 2001 ; Choi, 2006**)

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**)

III.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**)

III.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**)

III.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**)

III.1.5.5. Propriétés antiparasitaires

Une action antiparasitaire a été démontrée in vitro sur de nombreux parasites : *Trypanosoma*, *Leishmanias*, *Giardia lamblia*, *Giardiainestinalis*, *Ascaris lumbricoides*, *Enterobius vermicularis*, *Trichocephalus* dispar, *Trichomonas vaginalis* (liste non exhaustive). (**Abdel-Fattah et Nada, 2007**)

III.1.5.6. Propriétés antioxydantes

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

III.1.5.7. Propriétés cicatrisantes

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

III.2. Miel :

III.2.1. Définition :

Le miel est la denrée alimentaire produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou provenant des parties vivantes des plantes ou se trouvant sur elles, qu'elles butinent, transforment, combinent avec des matières spécifiques propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée alimentaire peut être fluide, épaisse ou cristallisée (**Donadieu, 1978**).

III.2.2. Origine du miel :

Prost (1987) et Loiriche (1979), affirment que le miel peut être soit d'origine florale (nectar des fleurs), soit d'origine animale (excrétions d'insectes).

III.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 al., 2001**), des minéraux, des vitamines, des lipides, des acides aminés libres et des acides organiques (**WAY, 1963 ; BUCKLEY, 1987a ; 1987b**).

III.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 nectarifères. 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 :

III.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**).

III.2.2.2. Miels multi floraux : ce sont des miels produits par plusieurs espèces végétales et présentent une grande variété de pollen sans dominance.

III.2.3. Récolte et conservation :

III.2.3.1. Récolte :

La récolte de miel a lieu en général après une miellée (qui correspond à la production de nectar par la flore susceptible d'en produire).

L'apiculteur utilise un procédé d'enfumage pour récolter les cadres et ôter les abeilles par brossage à la balayette. Une fois tous les cadres remplis de miel prélevé, on doit extraire le miel dans un endroit sec et tempéré et protégé.

En premier lieu, il faut ôter la couche de cire protectrice déposée par les abeilles sur les alvéoles. Cela se fait à l'aide d'un petit couteau avec lequel on retire les opercules (la désoperculation). Ensuite, on installe les cadres dans un extracteur. Le miel s'écoule vers un robinet pour être filtré. On le laissera reposer un à deux jours, par la suite le miel va commencer à cristalliser et au bout de 15 jours. Lorsque les cristaux se forment il sera prêt à être mis en pots. **(Cuvillier, 2015)**

III.2.3.2. Conservation :

Le miel est un produit périssable, il subit au cours de temps de nombreuses modifications entraînant la perte de ces qualités. Il doit être conservé dans des endroits secs et aérés et dans des emballages fermés hermétiquement pour éviter sa fermentation, loin des températures élevées pour éviter la dégradation des sucres **(Huchet, 1996)**.

III.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 protéides (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)**

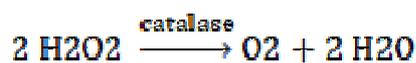
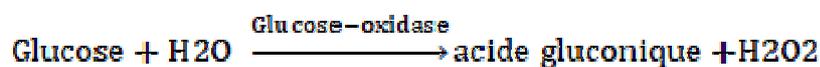
- Des enzymes : (la saccharase et l'amylase). (**Domerego et al., 2009**)
- D'autres substances diverses telles que :
Des substances aromatiques, un principe cholinergique proche de l'acétylcholine, un principe œstrogène, des grains de pollen, des colloïdes (protéines, pigments, etc.) et Plusieurs facteurs antibiotiques (**Donadieu, 1978**).

III.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 (sécritée 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.

III.3 Pollen :

III.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 (**Donnadieu, 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 gout 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 (**Henri clément, 2014**), et pour cette raison les apiculteurs l'appellent communément « pain d'abeille » (**Vaissiere, 2002 ; Leblanc et al., 2009**).

III.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 offrent 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)**

III.3.3 Origine et pollinisation

III.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'anthere. C'est l'anthere, portion terminale renflée de l'étamine, qui renferme dans les sacs polliniques le pollen, de grosseur et de forme variable **(Donadieu, 1982)**.

III.3.3.2 La pollinisation :

Au moment de la floraison, l'anthere 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. **(Remy 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)

III.3.4 La Récolte :

III.3.4.1 Par l'abeille

L'abeille récolte naturellement le pollen pour la ruche où il intervient avec le miel (63) pour élever le couvain et couvrir les besoins des adultes.

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 à 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**).

III.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 recueillies 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 ; Marieke Mutsaers, 2005**)

III.3.5 Conservation :

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

III.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.

III.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.

III.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.

III.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 parmi lesquelles.

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 (**Roch Domerego, 2006 ; Donadieu, 1982**)

III.3.7 Propriétés thérapeutiques :

III.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 antibiotiques assez forte et efficace sur l'agent pathogène des bactéries grams positives humaines (comme les staphylococcus aureus) et les bactéries gram négatives (notamment Escherichia .coli, Pseudomonas aeurgionsa) , 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**)

III.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 (**Robert Andreani, 2017**)

III.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.

III.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 ; Roch Domerego, 2006**).

III.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**)

III.3.7.6 Action sur le système neuropsychique :

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

III.3.7.7 Action sur L'appareil génito-urinaire :

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

Partie expérimentale

Chapitre 1 :

Matériels et méthodes

Matériel et méthodes

1. Lieu et période de travail :

Notre travail a eu lieu

- Au laboratoire de technologie alimentaire de la faculté des sciences de la nature et de la vie, université Ibn Khaldoun Tiaret.
- Au laboratoire de microbiologie de l'institut des sciences vétérinaires Tiaret. Il s'est étalé sur une période de trois mois (février - avril 2019).

2. Matériels

2.1 Le matériel végétal

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

- Deux échantillons du miel (**MC** : miel au jujubier /sidr ; provenant de la région Ain ehdehb –Tiaret. Il est de couleur doré et est fort au goût. **ML**: miel d'euphorbe/loubayna) originaire de la wilaya d'el Bayad il est d'une couleur ambré et un gout intense rappelle celui du caramel. (Tableau II).
- Un échantillon de pollen (**P**) (frais) commercialisé dans la région de Tiaret , originaire de la wilaya de Blida . il est de forme ovoïde, plus ou moins déformé, de couleur jaune à marron. 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 triés des impuretés et broyés sous forme de poudre très fine. leur couleur est marron. Elles sont stockée dans de petit flacon en verre de 10 gramme, opaque, hermétique, à température ambiante, et à l'abri de la lumière.

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

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

2.2. Matériels 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*. Ces quatre isolats appartiennent à la collection du Laboratoire de pathologie aviaire de l'institut vétérinaire de Tiaret. Elles ont été isolées par Mr. Boulbair en Janvier 2016 à partir des poulets provenant de deux régions Tiaret et Tissemsilt. Elles sont périodiquement entretenues au laboratoire et conservées sous la glycérine à 4°C au réfrigérateur jusqu'à leur emploi.

2.3. Matériel et consommables de laboratoire :

La verrerie, l'appareillage et les produits utilisés dans notre étude pour les différentes analyses physicochimique du miel sont illustrés dans le tableau N°2 :

Tableau N°02 : Appareillage, verreries et solutions utilisé dans les différentes analyses physico- chimiques du miel.

Paramètres	Matériels	Produits chimiques	Formules chimiques
Teneur en eau	-Balance analytique (KERN) -Capsule en porcelaine -Dessiccateur -Etuve (310/MAX)		
Teneur en cendre	-Balance analytique (KERN) -Capsule en verre -Bec bunsen -Dessiccateur -Four a moufle (HERAEUSinstrumnt)		
pH	-Balance analytique -Becher, -fiolle jaugée -PH-mètre (SCHOTTERATE CG6822)	-Solution tampons	
Acidité libre	-Balance -Burette de 25 ml -Entonnoir -PH-mètre -Becher	-Hydroxyde sodium (0.05N) -phénophtaléine	-NaOH -C2OH14O4

Résultats et discussions

	-Fiole jaugée -Barreau magnétique		
Conductivité électrique	-Conductimètre -Becher -Balance analytique -Fiole jaugé -Bain marie	- Chlorure de potassium ;	

Tableau N°03 : Matériels et consommables utilisés pour les différentes méthodes de l'activité antibactérienne.

Appareillage	Consommables et verreries	solutions et milieux
-Spectrophotomètre (Shimadzu). - Incubateur (Mettler). - Balance analytique (OHAUS). - Bain marie (GFL). - Microonde (LG). - Agitateur (vortex). - Bec bunsen. - Autoclave. -Etuve. -Minuteur. -Agitateur mécanique.	- Boîtes de pétrie (60mm). - Ecouvillons. - Seringues de 5ml et 1ml. - Tubes à essais. - flacons en verre de 180 ml. - Papier absorbant. - Pipettes pasteur. - Béchers de 1000ml; Verre de montre. -Capsule de pesée. -Compte –g. -Pissettes. -Spatule.	-Eau distillé stérile. -Mueller-Hinton (Annex)

Tableau N° 04 : Matériels et consommables utilisés pour confirmation des isolats

Milieux de culture	Matériels	Réactifs et solutions
-Mac conkey -Muller Hinton.	-Microscope optique - lames - pipettes pasteurs -bec bunsen -pissettes d'eau - Lames -Boîtes de pétri stériles.	- violet de gentiane, -fuchsine de ziehl. -Lugol. -Huile a émersion -Alcool 70°. -Eau distillée. -Eau physiologique 0.9 %. -Disques d'oxydase, Himedia ; Inde ; -Réactif Kovac, bio Mérieux ; France ; -Réactif TDA, bio Mérieux ; France ; -Réactif VP 1, VP2 ; institut pasteur d'Algérie ; -Bioanalyse (Turquie), -Bio Maxima (Pologne), -Himedia (Inde), Liofilchem (Italie) ; -Galerie Api 20 E, -Bio Mérieux ; France.

3. METHODES

3.1 Protocol expérimental

Le protocole expérimental de notre étude repose sur des différentes étapes résumées dans la figure N° et figure N° :

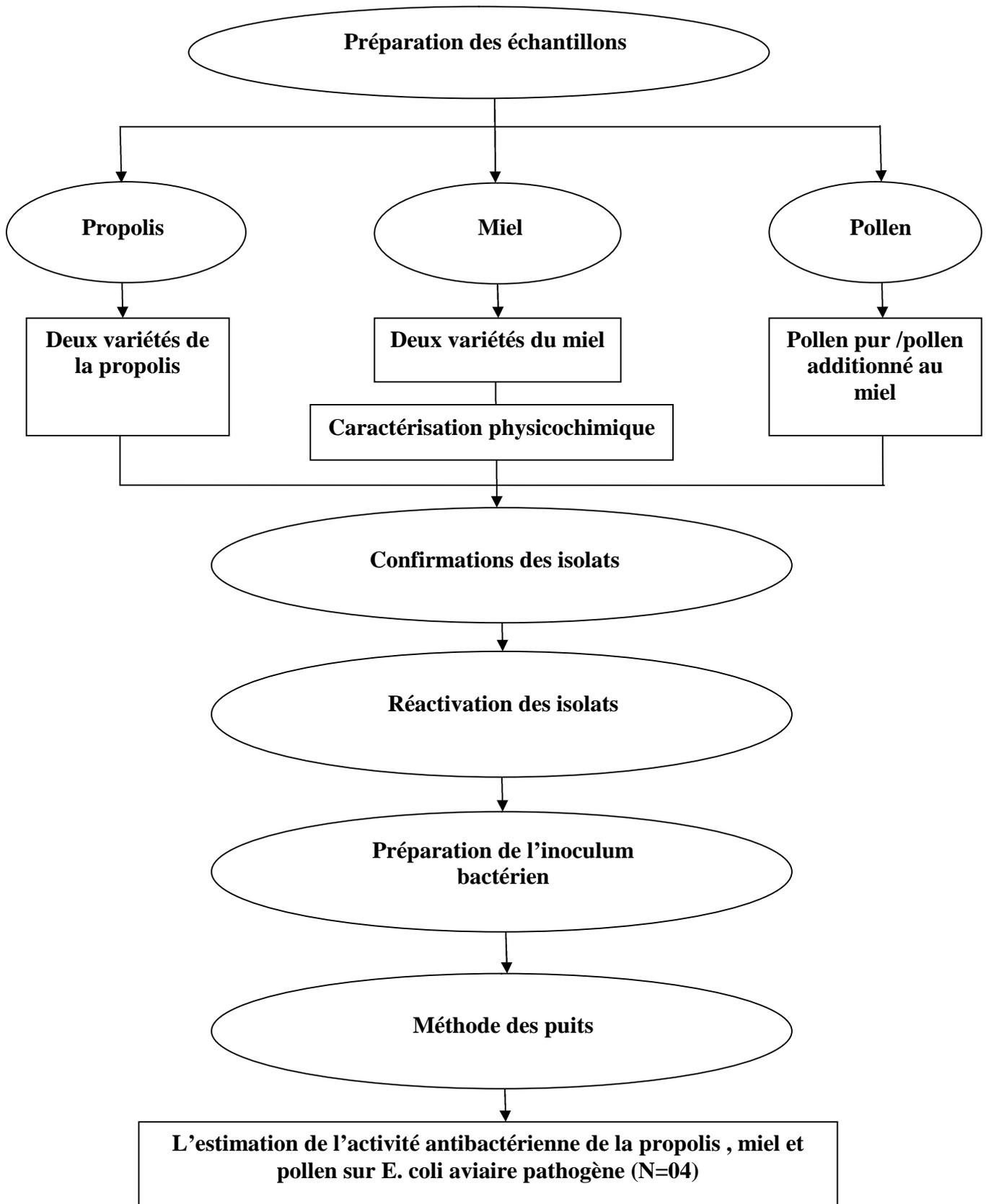


Figure N° 05 : schéma du Protocol expérimental.

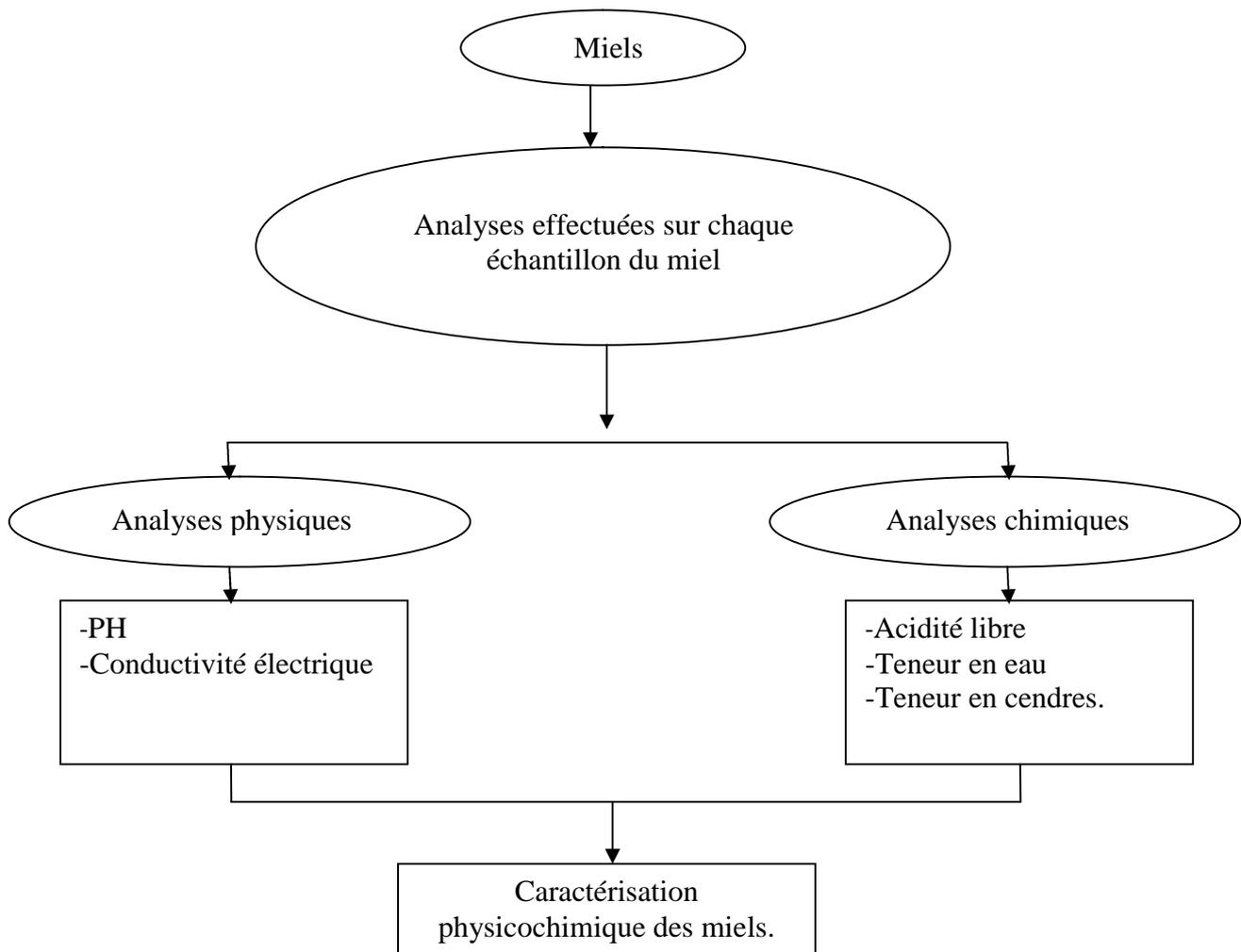


Figure N° 06 : les différentes étapes des analyses physicochimiques du miel.

1. Analyses physicochimiques

1.1 Humidité (AOAC, 2000)

➤ **principe**

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

➤ **Mode opératoire**

- Sécher des capsules vides à l'étuve durant 15 min à 105°C ;
- Tarer les capsules après refroidissement dans un dessiccateur ;

Résultats et discussions

- 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. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

➤ **Expression des résultats**

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

Soit :

H% : Humidité

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

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

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

1.2. Taux de cendres (CODEX, 1977)

➤ **Principe**

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 à 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.

➤ **Expression des résultats**

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

Soit :

mo : Masse initiale du miel.

m1 : Masse de la capsule vide.

m2 : Masse de la capsule après incinération.

Mm : Matière minérale.

1.3. Conductivité électrique

➤ Principe

La 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.**

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 :

$$M = 5*100/MS$$

Soit :

MS : Matière sèche du miel.

M : Masse du miel en g.

➤ Mode opératoire

- Dissoudre M du miel dans quelques ml d'eau distillée, puis compléter à 25 ml dans une fiole jaugée ;
- Verser la solution dans un bécher porté dans un bain marie thermostatique ;
- Etalonner l'appareil avec la solution de chlorure de potassium ;
- Plonger les électrodes dans la solution ;
- Faire la lecture lorsque la température est à 20°C.

➤ Expression des résultats

$$CE = K * G$$

Soit :

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

K : constante de la cellule

G : conductance de la solution (mS/cm)

1.4. Détermination du pH

➤ Principe

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 effectuée selon la norme du CODEX n°77-79 (CODEX, 1977).

➤ Mode opératoire

- Dissoudre 2.5 g du miel dans quelque ml d'eau distillée, puis compléter la solution à 25 ml dans une fiole jaugée ;
- Verser la solution dans un bécher sans cesser d'agiter au moyen d'un agitateur magnétique ;
- Étalonner l'appareil avec deux solutions tampons
- Plonger l'électrode dans le bécher contenant la solution du miel, la valeur du pH s'affiche au potentiomètre.

1.5. L'acidité libre

➤ Principe

L'acidité libre est obtenue par la neutralisation de 25 ml de cette solution avec NaOH. (Amri, A et al., 2007 ; Lord et al., 1988)

➤ 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.
- Titrer cette solution avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) en versant 3 à 4 gouttes de l'indicateur coloré phénolphthaléine et noter

Résultats et discussions

le volume d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le virage de la couleur.

➤ Expression des résultats

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

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 (**Rebai et Saidi sief, 2017**)

3. ACTIVITE ANTIBACERIEENNE

Afin d'évaluer in vitro l'activité antibactérienne des déférentes 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 utilisées à cette fin (tableau n°05)

Tableau N°05 : Les quatre isolats étudiés

Code	Organe obtenu	Groupe bactériens	Souches bactériennes
F1	Foi	Gram-	Escherichia coli, Isolat F1 CH
R16	Rate	Gram-	Escherichia coli, Isolat R7pc16
R1	Rate	Gram-	Escherichia coli, R7 pc1
R4	Rate	Gram-	Escherichia coli, Isolat : R7 pc4

A.1. Analyses microbiologiques

1.1 Confirmation des souches

1.1.1 Observation microscopique (coloration de Gram)

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

1.2 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 1 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).

1.1.2 Test d'Oxydase : (Joffin J.N et Leyral G, 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.

1.1.2.1. La 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) .

1.1.2.2. 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.

1.1.3. 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.

▪ Technique :

1.1.3.1 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.
- Inscrire 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.

1.1.3.2. Préparation de l'inoculum : (annexe n°04)

1.1.3.3. 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.

1.1.3.4. Lecture de la Galerie :

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

1.1.3. Antibiogramme (CA-SFM, 2013).

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 Institute (CLSI, 2008) et standardisées depuis 1999 en médecine vétérinaire en Algérie.

Les antibiotiques utilisés figurent dans le tableau suivant :

Tableau N°06 : 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

Résultats et discussions

1.1.3.1. Technique :

La gélose Mueller Hinton est fondue au bain marie puis coulée dans des boites de pétrie de 90 mm de diamètre jusqu'à une épaisseur de 4 mm et séchées avant l'emploi, après dessèchement Les boites de pétrie sont ensuite ensemencées avec l'inoculum bactérien (**Annexe n°04**) 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 boites de pétri sont mises en incubation dans un étuve à 37°C pendant 24 heures.

1.1.3.2. 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.

B. Préparation des échantillons

B.1. Préparation des concentrations du miel :

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

Tableau n°07 : Préparation des concentrations du miel.

Concentration %	25%	50%	75%	100%
Le miel (g)	3.75	2.5	1.25	5
L'eau distillée stérile (ml)	1.25	2.5	3.75	5

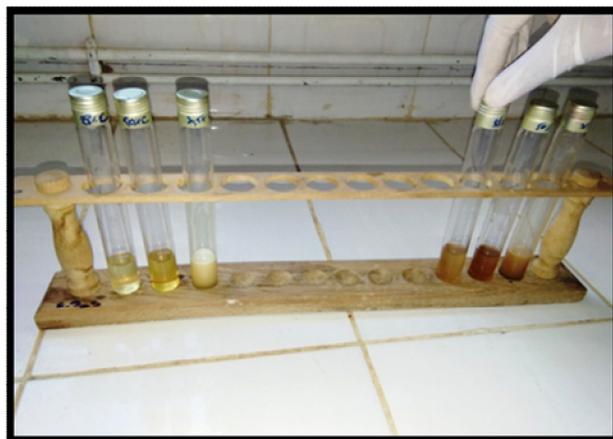


Figure N° 07 : Concentration du miel (ML, MC) (prise personnel 2019)

B.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%.



Figure N° 08 : Concentration de la propolis (P10) (prise personnel 2019)

B.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) à 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.

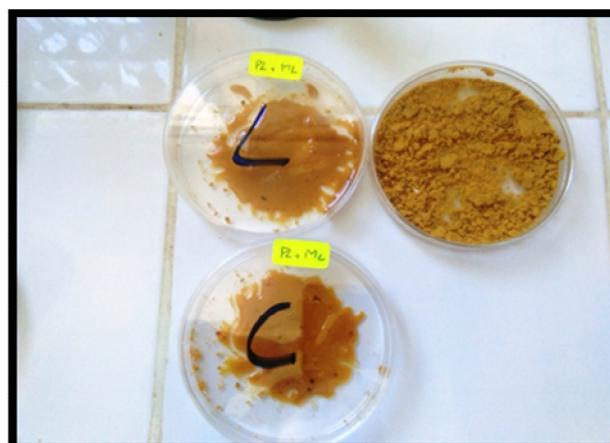


Figure N° 09 : Préparation du pollen seul et additionné au miel (prise personnel 2019)

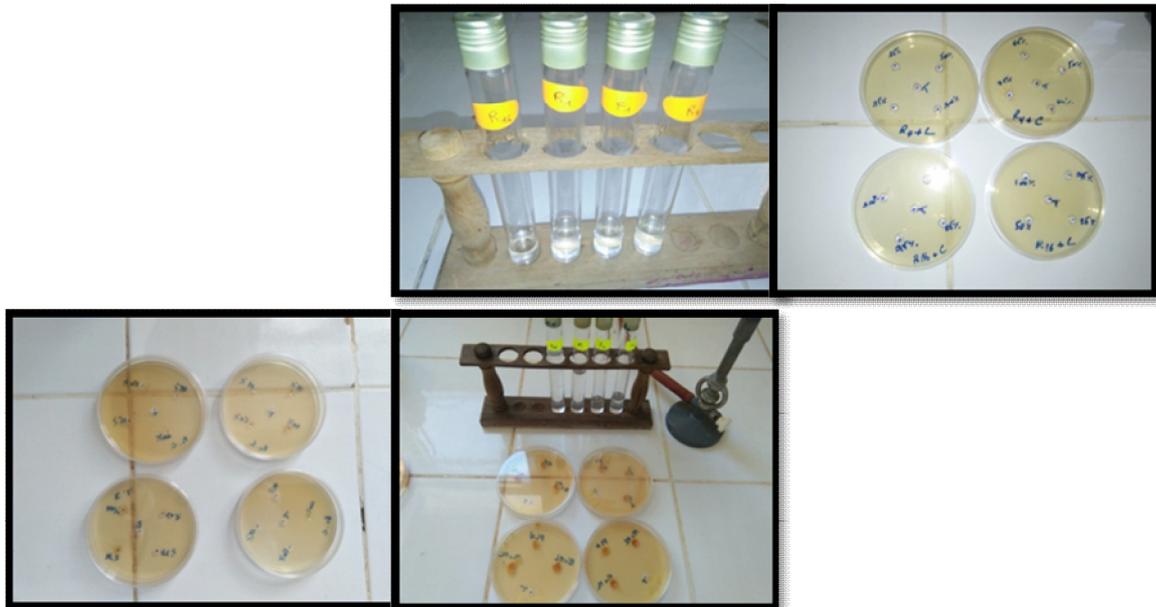
Résultats et discussions

C.3. 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 sont ensemencées ensuite refroidies et séchées pendant 20 minutes, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.



Figure N° : Revivification des isolats (prise personnel)



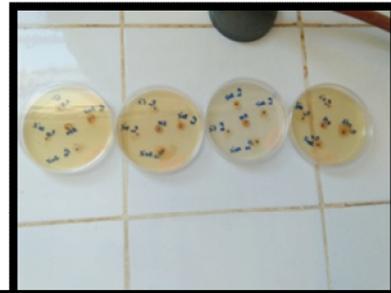


Figure N° : Détermination de l'effet antibactérien du miel pollen et propolis

D. 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, est ensemencé avec l'inoculum bactérien (Annexe n°04) à l'aide d'un écouvillon stérile. Ce dernier se fait par des stries serrées de haut en bas ; l'opération est répétée trois fois. Ensuite les boîtes sont laissées à 37°C pendant 15 minutes, afin de permettre une diffusion des germes. Des puits de 6 mm de diamètre sont perforés à l'aide de l'extrémité de pipettes Pasteur et sont remplis par des différentes concentrations des extraits à testés :

- 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 témoin.
- Une petite quantité du pollen pur (écrasé) est déposé 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 la 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'un pied à coulisse ou une règle

Un extrait est considéré actif, si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm.

Chapitre 2 :

Résultats et discussions

Résultats : paramètres physicochimiques du miel

Tableau 08 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des miels

	Échantillon MC	Échantillon ML	Codex Alimentarius
Teneur en eau (%)	11.07	9.45	≤ 21
Conductivité électrique (ms/cm)	0.053	0.0313	< 0,8
Cendres (%)	0.118	0.19	≤0,8
Acidité libre (meq/kg)	15	28	< 50
PH	5	4.05	Acide

1. Taux d'humidité (la teneur en eau)

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 (Moniruzzaman *et al.*, 2014) ; un miel trop humide risque de se fermenter. Par conséquent, l'humidité conditionne la conservation du miel (Hummel et Feltin, 2014).

Le taux de l'humidité nous renseigne sur les variations de teneur en eau de chaque variété de miel collecté (tableau n°08). En effet, il oscille entre : **11.07%-9.45%**

L'analyse des résultats obtenus montre que le miel ML enregistre une teneur en humidité plus élevée que celle du miel MC **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 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 atteint dans la ruche (Fallico *et al.*, 2004 ; Finola *et al.*, 2007).

2. La conductivité électrique

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. Elle est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et des protéines.

La conductivité des deux miels examinés **MC, ML (tableau n°08)** varie de **5.3×10^4 à 3.13×10^4 S/cm** respectivement, avec une moyenne de **4.215×10^4 S/cm**. 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 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**).

3. La teneur en cendres

La teneur en cendres de nos échantillons (**Tableau n°08**) varie de **0.118% et 0.19%** avec une moyenne de **0.154%**.

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.

D'après **Feas et al (2011)** et **Felsner et al (2004)**, il existe une relation entre la couleur des miels et leur teneur en cendres.

Les valeurs de la matière minérale obtenue des deux échantillons du miel **MC, ML** 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**).

4. L'acidité libre

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. La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel.

Les teneurs en acide libre des miels (**tableau n°08**), 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 indésirables.

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 sécrétion de labeille qui enrichissent le miel au fur et à mesure de sa formation.

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

5. Détermination du pH

Le **pH** représente un bon critère de qualité qui peut être utile dans la détermination de l'origine botanique du miel.

Les valeurs du **pH** des miels analysés (**tableau n°08**) 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.

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**.

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

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.

Résultats : Confirmation des isolats

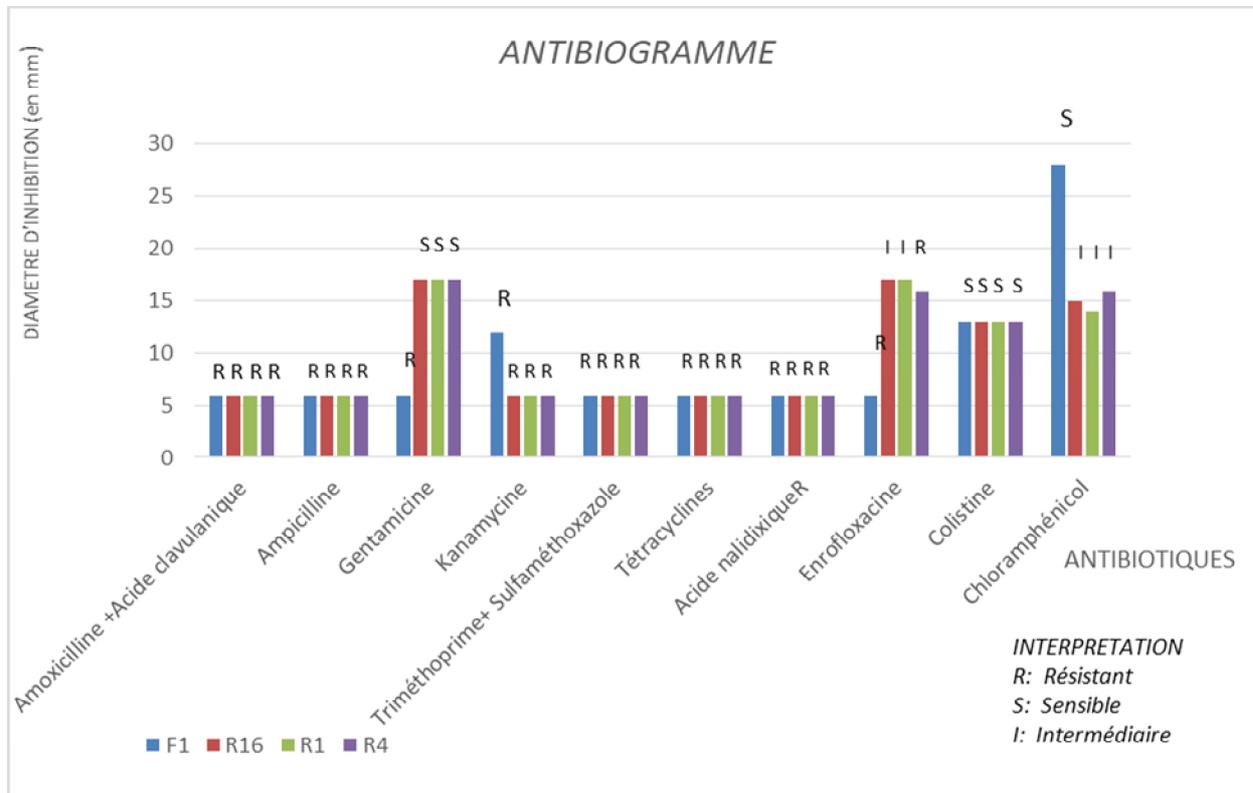
Les résultats des tests de la pré-identification et la vérification des quatre isolats bactériennes utilisées sont récapitulés dans le tableau... Ces résultats confirment que les isolats **F1 R16 R4 et R1** appartiennent à l'espèce bactérienne *E. coli*

Tableau N° : 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

Résultats : Antibiogramme

Tableau N°09 : Résultats d'antibiogramme



Du graphique découle, que les quatre isolats étudiés à savoir (F1, R16, R1, R4) enregistrent des diamètres d'inhibition très différents. L'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Ampicilline, kanamycine, Triméthoprim + Sulfaméthoxazole, Tétracyclines, l'Acide nalidixique, montrent des résultats semblables dont le diamètre d'inhibition est égale à 6 mm sur les quatre isolats étudiés ; les bactéries sont donc Résistantes.

La Gentamicine montre un diamètre d'inhibition de 6 mm sur le F1, Alors que sur le R16, R1 et la R4 le diamètre d'inhibition est supérieur à 17 mm, les bactéries sont dites sensibles.

Les isolats R16 et R1 sont intermédiaires envers l'Enrofloxacin avec un diamètre d'inhibition de 17 mm alors que le F1, R4 sont résistante a ce dernier.

Aucun isolat n'a montré de résistance envers la Colistine, les quatre isolats sont donc sensibles.

Le Chloramphénicol montre un diamètre d'inhibition de 14mm, 15mm, et 16mm pour les trois isolats R1 R16 et R4 respectivement, elles sont dites intermédiaire, sauf l'isolat F1 est considéré comme sensible avec un diamètre d'inhibition de 20mm.

Discussions :

➤ Les β lactamines

Nos résultats ont mis en évidence une forte résistances des isolats **F1, R16, R1, R4** à l'Amoxicilline + Acide clavulanique et l'Ampicilline, avec un taux de 100%

Concernant l'ampicilline ces résultats sont similaires à celui rapporté par **Boulbair., 2016 (100%)** mais largement supérieurs à ceux rapportés par **Aggad et al (2010) (0%)** et se rapprochent de ceux rapportés par **Elhouadfi et Zekh nini (2009) (96%)**

Cependant la fréquence de résistance de l'association (amoxicilline /acide clavulanique) est supérieur à celui obtenu par **Resapath France (2010) (58%)** et semblable à celui de **Boulbair (2016) (100%)**

➤ Tétracyclines :

Le pourcentage de résistance est de **100 %** pour les tétracyclines, ce taux se rapproche à ceux signalés par **Aggad et al (2010), 87% ; Boulbair (2016), 99%** et analogue à celui de **Rahmatallah et Rassik (2013), 100%**

➤ Quinolones :

Pour l'acide nalidixique, le taux de résistance enregistrés dans la présente étude est de **100%** des résultats similaires ont été révélés par l'étude de **Benameur et al (2016), 100%** et **Boulbair (2016), 96%**

Cependant l'enrofloxacin enregistrer un taux moyen de **50%** qui est inférieur à celui rapporté par **Zoubair hamed et al (2014) , 76.38%**.

➤ Les aminosides :

Une fréquence de résistance très élevée a été obtenue pour la kanamycine (**100%**). on constate qu'il y a une augmentation par rapport aux fréquences enregistrées par **Boulbair (2016), 68%**

➤ Sulfamides et associés :

Avec un taux de **100 %**, la fréquence de résistance au **Triméthoprime + Sulfaméthoxazole** est assez conséquente, elle a été de 70% dans l'étude d'**Aggad et al (2010)** et **80.39%** dans celle de **Benameur et al (2016)**.

La tendance de la résistance d'*E.coli* à ces antibiotiques est en augmentation qui serait probablement la conséquence : d'une utilisation massive et anarchique en élevage avicole de ces antibiotiques, ainsi que leur grande disponibilité sur le marché algérien surtout les génériques à des prix adorables, et le manque d'organisation et de restrictions à leur emploi. Peut être due aussi à la diversité des mécanismes de résistance d'*E.coli* comme rapportés par **Quintiliani et Courvalin (1995)**.

Cependant, la résistance à **la gentamycine** est restée faible de **25%**, ces résultats sont en accord avec ceux 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)**.

➤ **Les polypeptides**

Aucune résistance n'a été observée pour la colistine, ce résultats concorde avec ceux obtenue par **Boulbair (2016)**, **0%** ; **Benameur et al (2016)**, **0%**. Mais inférieur à celui signalé par **Aggad et al (2016)**, **13%**

Le faible taux de résistance est en majorité du à son mode d'action sur les bactéries. En effet, la colistine a une action létale surfactive et de perméation sur les membranes bactériennes par interaction avec les protéines et les phospholipides membranaires. (**Zoubair hafed et al., 2014**) et pourrait être en rapport avec une utilisation modérée de cet antibiotique en enlevage avicole (**Boulbair, 2016**).

➤ **Les phénicolés**

Le chloramphénicol connaît un taux de résistance de **0%** , 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)

Résultats : l'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur F1 :

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure n° et n°:

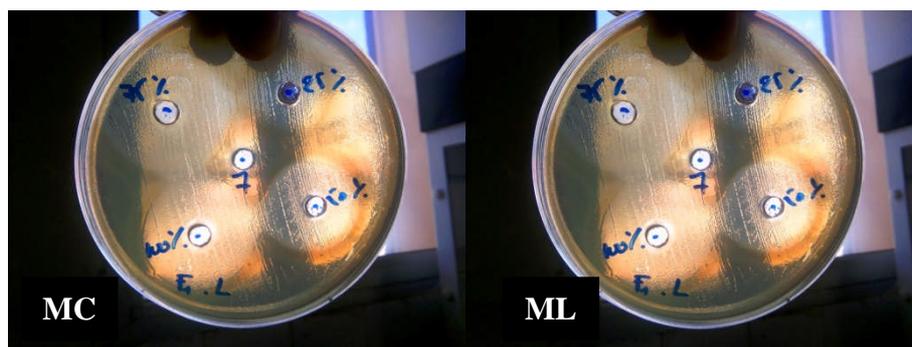


Figure N° : Méthode de puits (technique de diffusion)

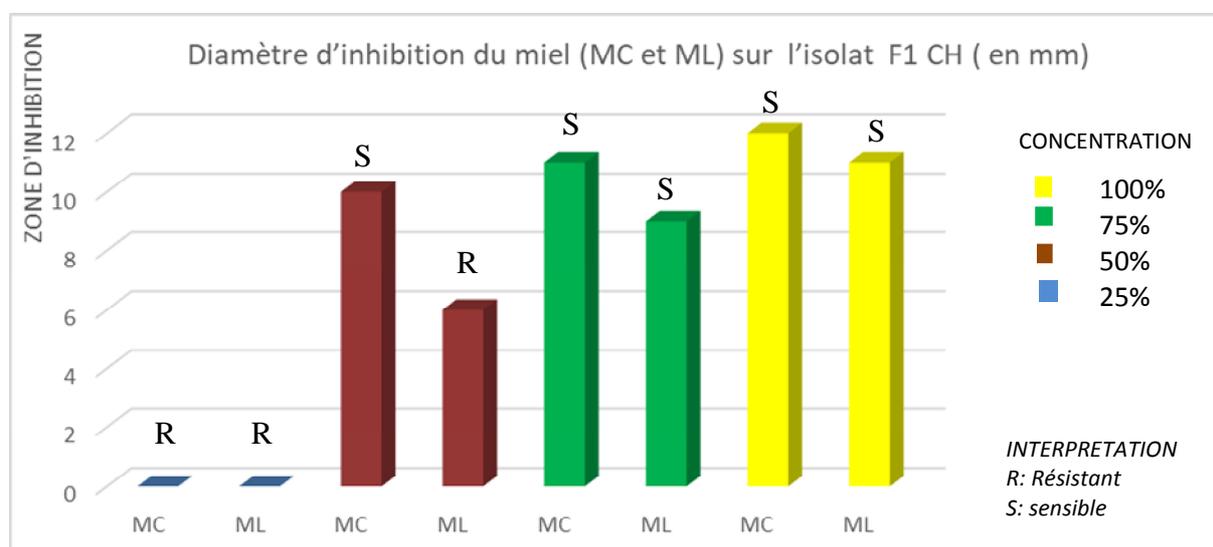


Figure N° : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat F1 CH (en mm)

Les résultats d'inhibition sur l'isolat F1 CH exprimés dans le graphique ci-dessus montrent qu'en générale, la concentration du miel a un effet antibactérien important. On remarque que quand la concentration du miel est faible (25%), le diamètre d'inhibition est nul. Par ailleurs, quand la concentration dépasse 50%, la zone d'inhibition se distingue.

On note aussi que le diamètre d'inhibition du miel de cèdre (MC) est supérieur à celui du miel d'euphorbe (ML)

Résultats : l'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R16 :

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure n° et n°:

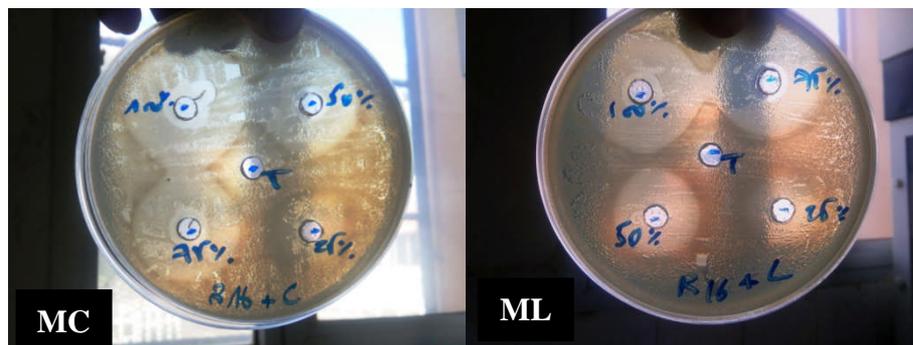


Figure N° : Méthode de puits (technique de diffusion)

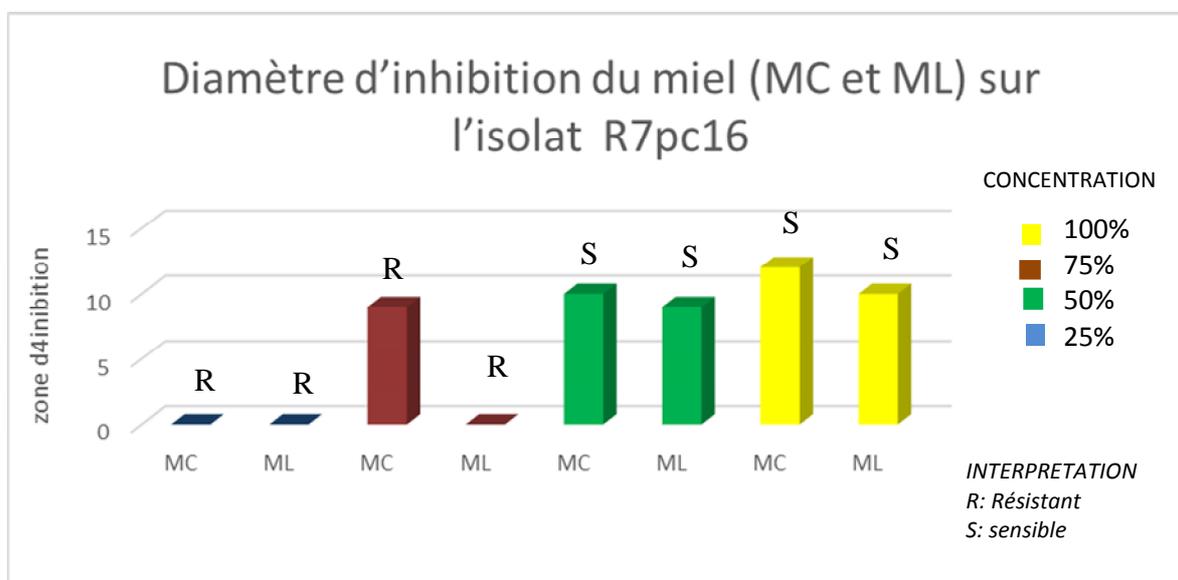


Figure N° : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7pc16.

Les résultats d'inhibition sur l'isolat R7pc16 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que elle est résiste à la concentration **25%,50%** du miel (ML-MC) et sensible pour les concentrations **75%** et **100%**. Le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration du miel.

On note aussi que le diamètre d'inhibition du miel de cèdre (MC) est supérieur à celui du miel d'euphorbe (ML).

Résultats : l'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R1 :

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure n° et n°:

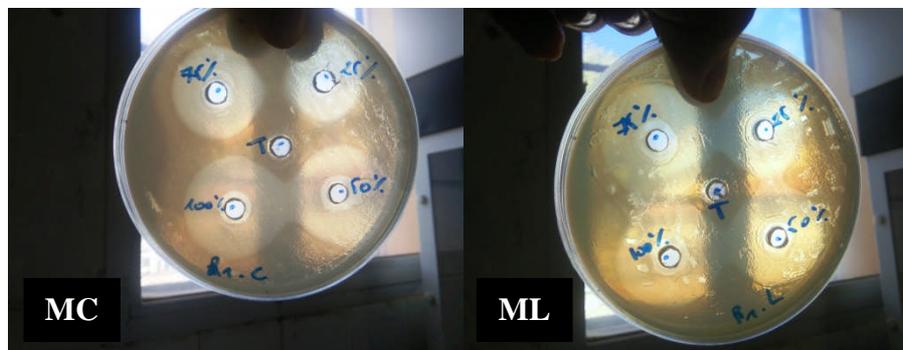


Figure N° : Méthode de puits (technique de diffusion)

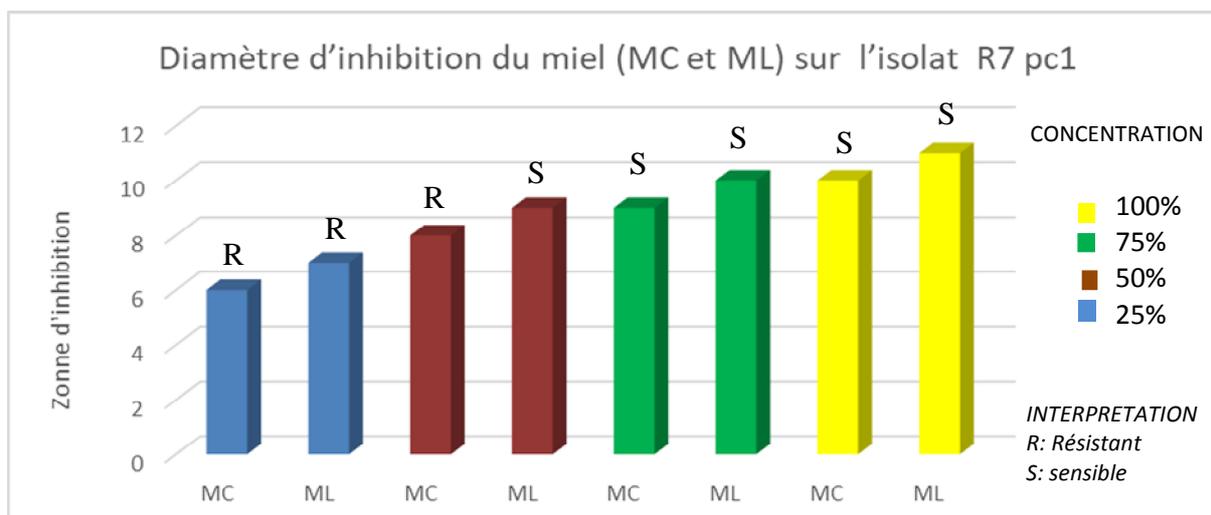


Figure N° : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc1.

D'après les résultats d'inhibition sur l'isolat R7pc1 exprimés dans le graphique ci-dessus on constate que elle est résiste à la concentration **25%** du miel (ML-MC) ainsi a **50%** du miel (MC) et sensible pour les concentrations **50%** du miel ML et **75%** et **100%** (MC, ML). Le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration du miel.

On note aussi que le diamètre d'inhibition du miel d'euphorbe (ML) est supérieur à celui du miel de cèdre (MC)

Résultats : l'effet antibactérien du miel (MC-ML) sur R4 :

Les résultats de zones d'inhibitions produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure n° et n°:

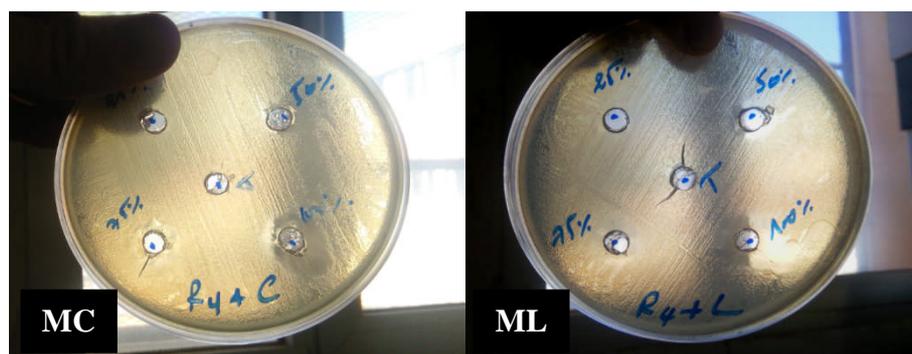


Figure N° : Méthode de puits (technique de diffusion)

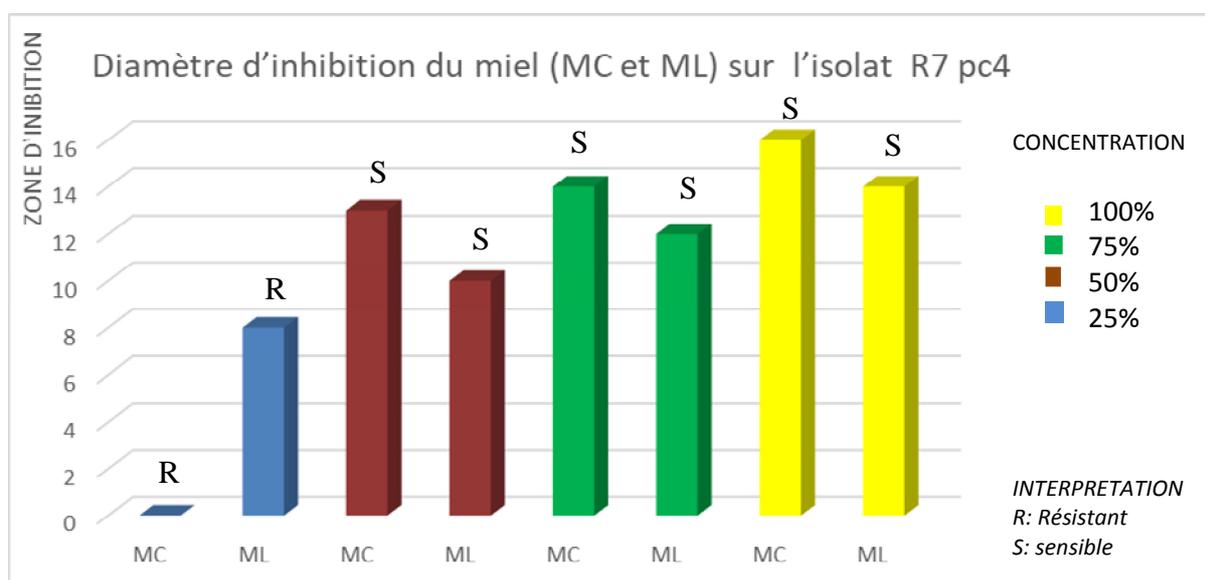


Figure N° : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc4.

Les résultats d'inhibition sur l'isolat R7 pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que elle est résiste à la concentration **25%** du miel (ML-MC) et sensible pour les concentrations **25%, 75%** et **100%**. Le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration du miel.

On note aussi que le diamètre d'inhibition du miel de cèdre (MC) est supérieur à celui du miel d'euphorbe (ML)

Discussion :

De nombreux travaux scientifiques ont rapporté l'effet antibactérien du miel. Ses propriétés antibactériennes sont éprouvées depuis plus de cent ans et ont été étudiées intensivement au cours des vingt dernières années (Jones, 2001; Molan1992).

Résultats et discussions

Dans la présente étude, Les résultats d'évaluation de l'activité inhibitrice montre que les quatre isolats à savoir : **F1, R16, R1, R4** sont sensibles à l'action antibactérienne des deux échantillons de miel naturel (**ML, MC**)

Des différences d'inhibition ont été notées d'un type de miel à un autre et d'un isolat bactérien à l'autre.

Le diamètre d'inhibition du miel **de cèdre** sur les isolats **F1, R16, R4** est supérieur à celui du miel d'euphorbe (**Miel Loubina**) par contre 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 diamètres d'inhibition de 31,5 mm (**Belhaj et al., 2016**)

D'après Yves **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 subit et des conditions de stockage et de la conservation, qui peuvent altérer son activité antibactérienne (**Molan et Cooper, 2000**).

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**) sont poussés en présence du miel. Cela pourrait être lié à une dilution des ingrédients actifs impliqués dans l'action antibactérienne, le rendant ainsi inefficace (**Nassar et al., 2012**)

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 a testé.

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*

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.

Résultats et discussions

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 de 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 autre 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*, il 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 (**Deb Mandal et Mandal, 2011**), notamment l'osmolarité, le pH acide, le système peroxyde d'hydrogène (inhibine) (**Efem, 1988**) et des substances non peroxydes comme méthylglyoxal (MGO) (**Weston RJ, 2000**) ainsi qu'à la présence de composés phénoliques (**White et Subers, 1963**), et la présence de substance 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

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**).

Résultats et discussions

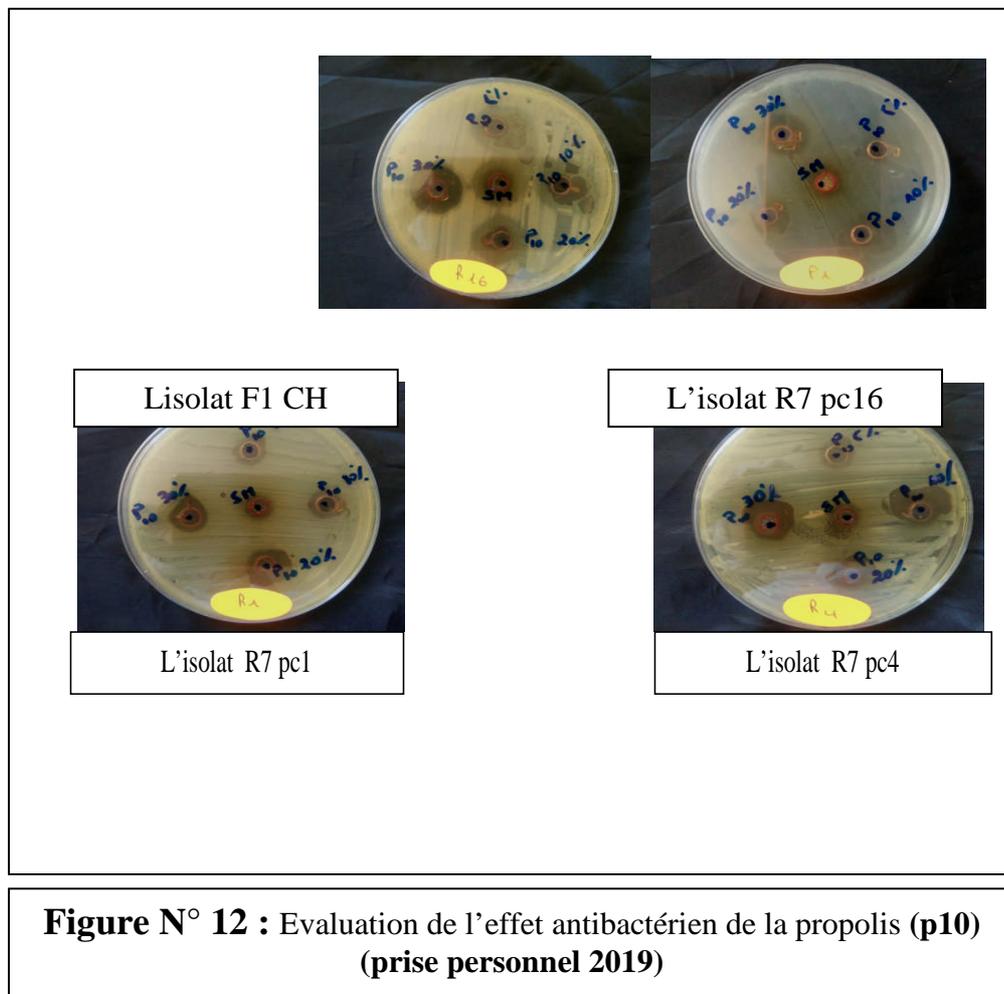
Selon **Weston et al (2000)**, La plus part des types de miels génèrent le peroxyde d'hydrogène quand ils sont dilués.

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**)

Toutefois, des composés volatils et aromatiques participent également au pouvoir inhibiteur du miel (**Manyl- Loh et al., 2011**).

Résultats : effet antibactérien de la propolis (p10)



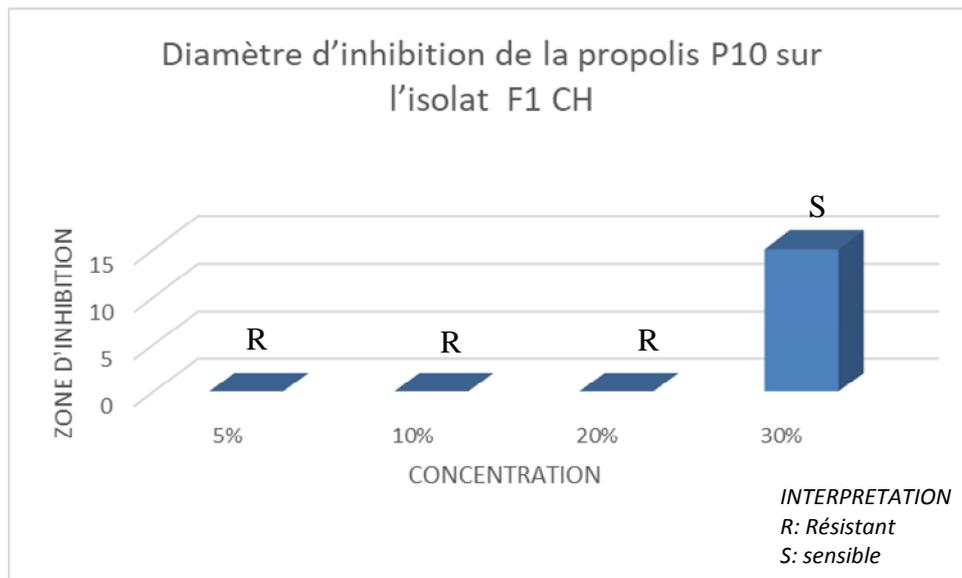


Figure N° : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat F1 CH

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 est résiste à la concentration **5%, 10% et 20%** et est inhibé a **30%**.

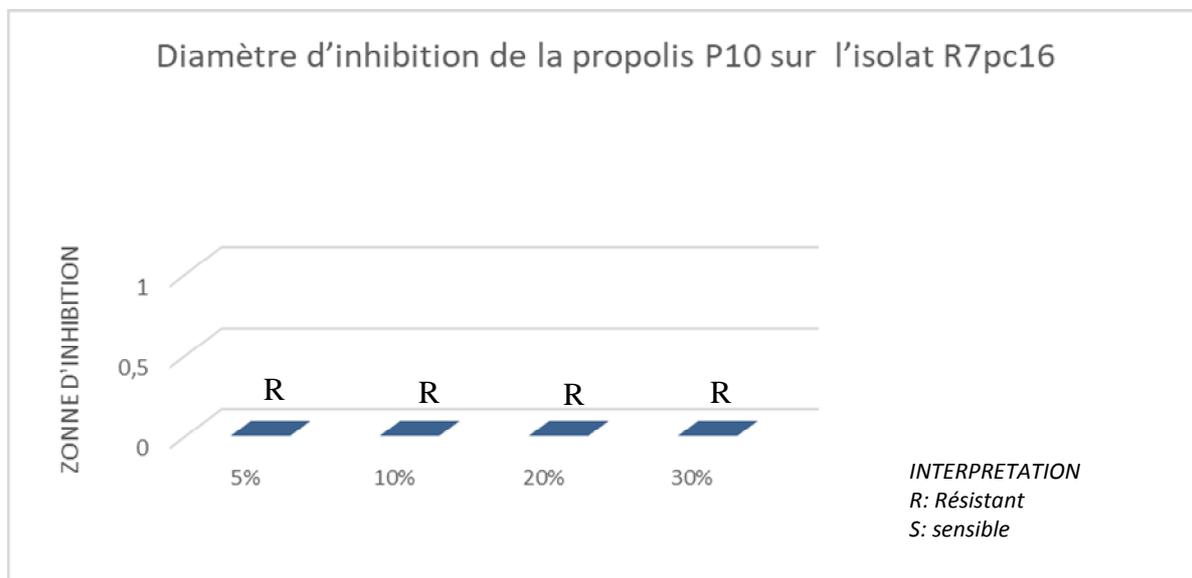


Figure N° : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7pc16

Les résultats d'inhibition de la propolis p10 sur l'isolat R7pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que l'isolat testé résiste a toute les concentrations

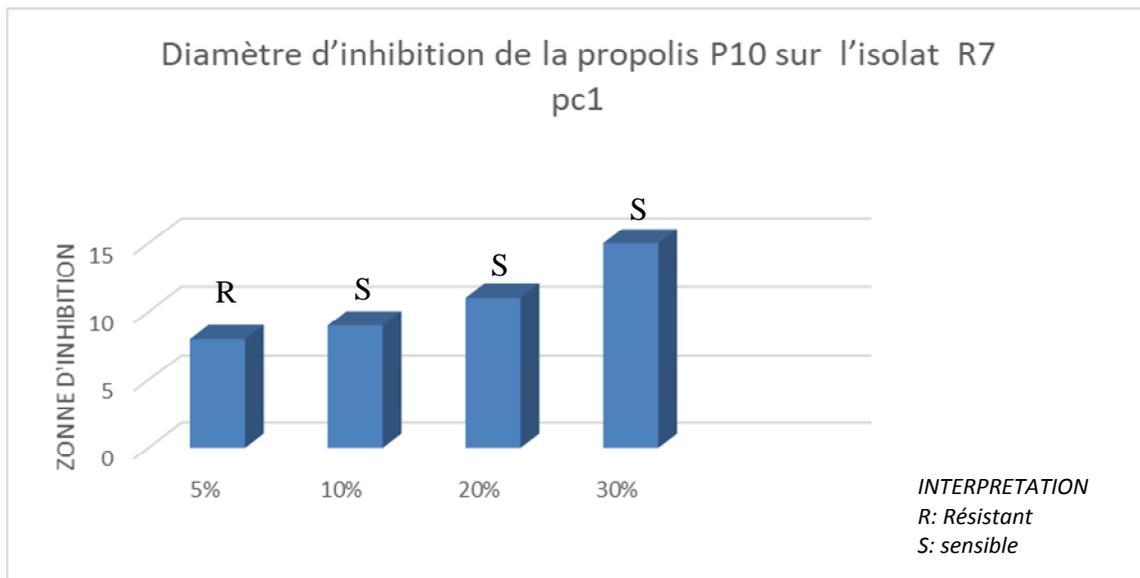


Figure N° : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc1

Les résultats d'inhibition de la propolis p10 sur l'isolat R7pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que l'isolat testé est résiste a la concentration **5%** et est inhibé a **10%,20%** et **30 %**. Le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de la propolis

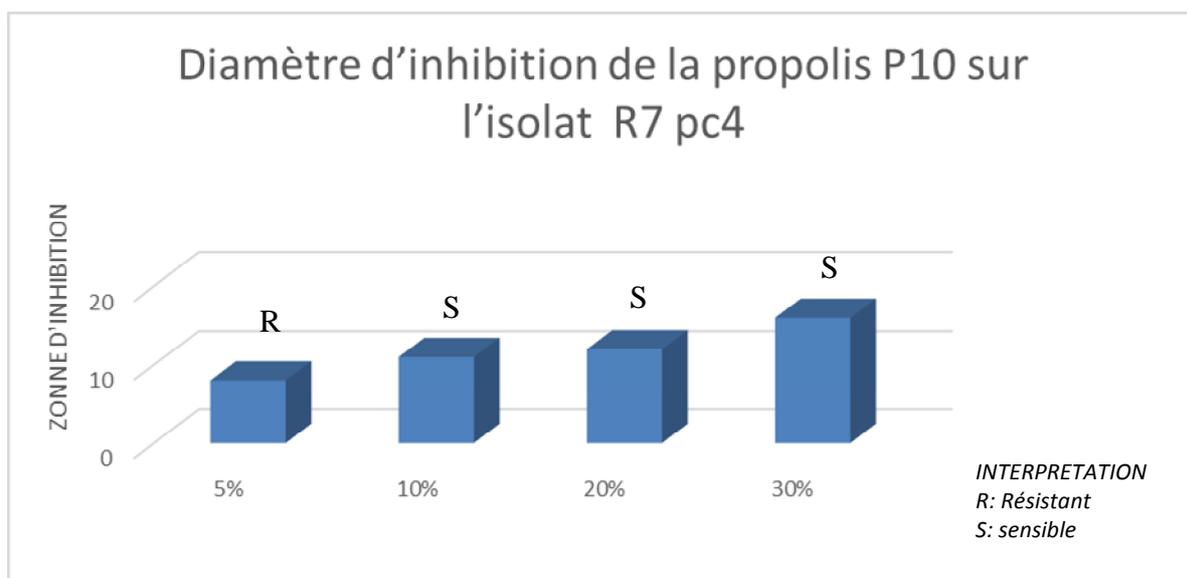


Figure N° : Diamètre d'inhibition de la propolis P10 sur l'isolat R7 pc4

Les résultats d'inhibition de la propolis p10 sur l'isolat R7pc4 exprimés dans le graphique ci-dessus montrent que l'isolat testé est résiste a la concentration **5%** et est inhibé a **10%,20%**

et 30 %. Le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration de la propolis

Discussion propolis :

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 extraits éthanoliques 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 active sur les trois isolats F1, R4, R1 et inactive vis-à-vis 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 le type de l'abeille productrice, ce qui pourrait affecter ses propriétés biologiques notamment antibactériennes **Hegazi (2001)**.

On constate que les EEP à 5%, 10%, 20% et 30% d'éthanol de la P10 donnent des diamètres d'inhibitions allant de 8 mm à 16 mm pour les isolats R4 et R1, alors que le F1 n'a été inhibé sauf à la concentration de 30%. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont proportionnels 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 diamètres d'inhibitions qui varient de 6 à 16mm ce qui concorde avec nos résultats **Athmani et al (2018)**

D'après **Nedji (2015) Silici et Kutluca, 2005**, 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 actifs contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif (**Rahman et al., 2010**).

Dans ce même optique, certains auteurs pensent que les bactéries gram -négatives 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.

Comparaison :

Encore faut-il rappeler qu'aucun effet n'a été noté par L'Amoxicilline + Acide clavulanique, l'Ampicilline, kanamycine , Triméthoprime + Sulfaméthoxazole, Tétracyclines et l'Acide nalidixique.la Gentamicine, la Colistine et le Chloramphénicol se sont révélés 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 supérieur à celle des antibiotiques les plus actifs (Gentamicine et la Colistine) mais inférieur à celle du Chloramphénicol.

Résultats et discussions

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)

Résultats de la propolis p06

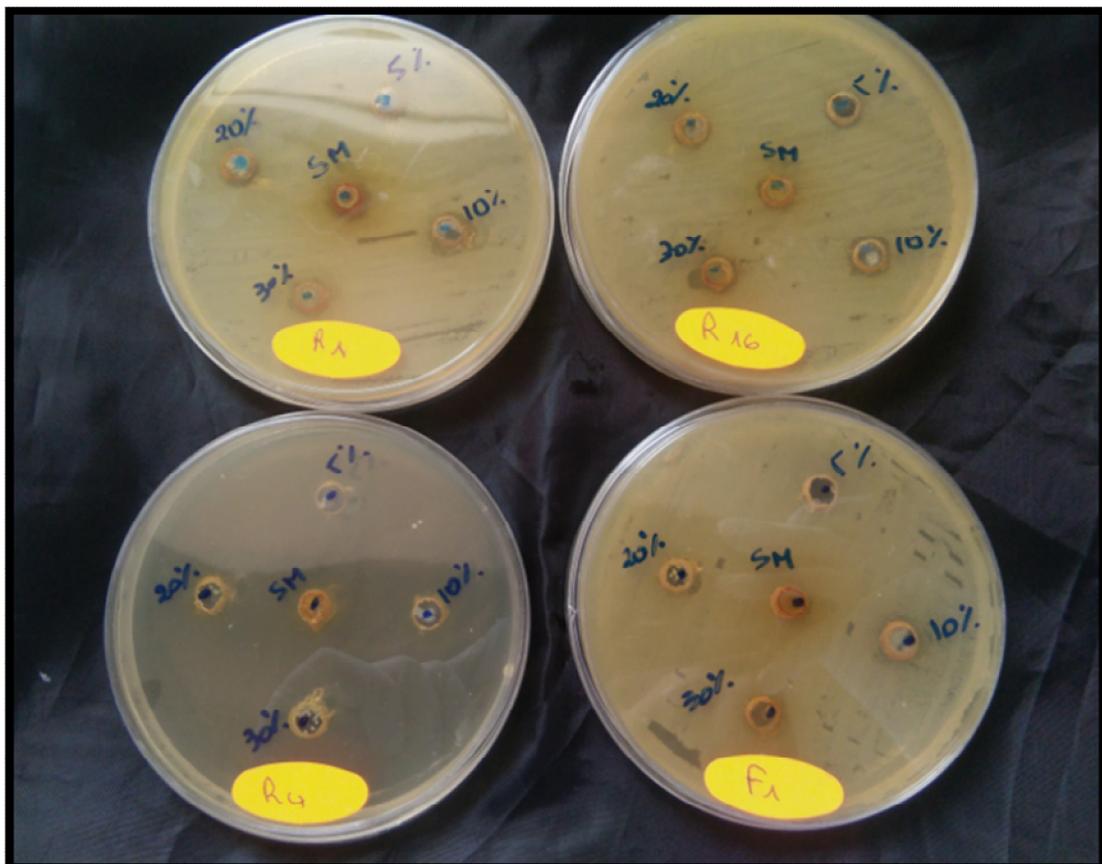


Figure N° 13 : Evaluation de l'effet antibactérien de la propolis (P6) sur les quatre isolats (prise personnel 2019)

Tableau N° 10: Diamètre d'inhibition de la propolis P6 sur les quatre isolats utilisés

Résultats et discussions

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

Résultats : l'effet antibactérien du pollen

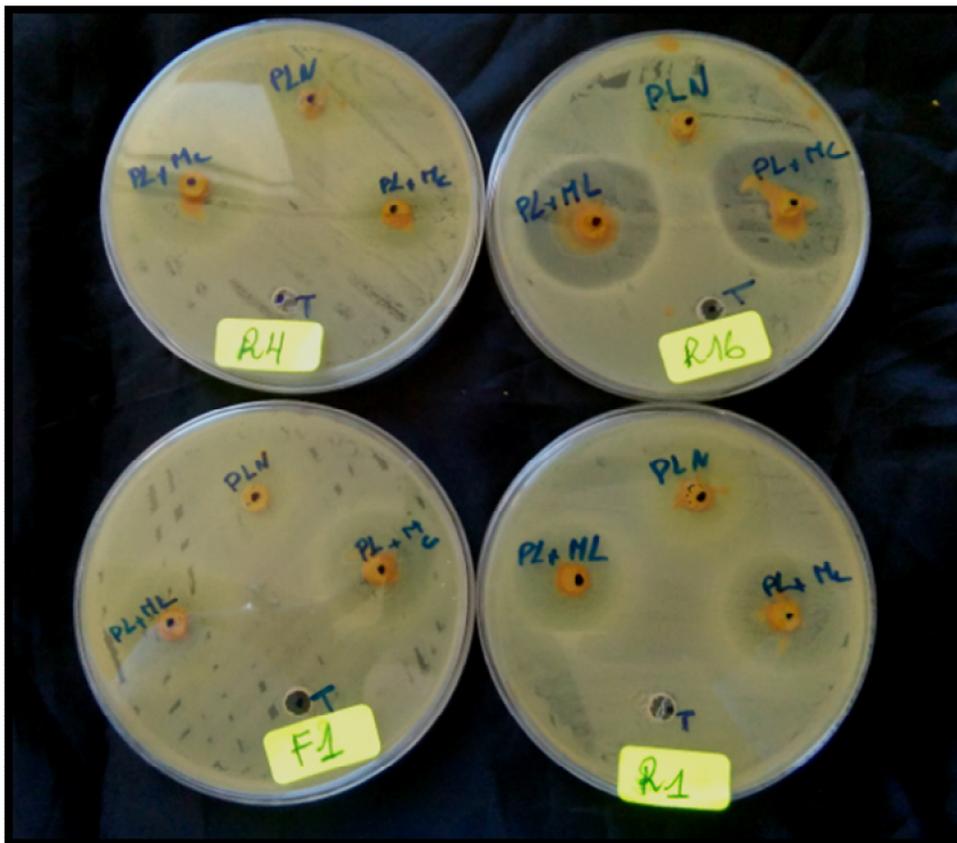


Figure N° 14 : Evaluation de l'effet antibactérien du pollen seul et additionné au miel sur les quatre isolats (**prise personnel 2019**)

Tableau N°11 : 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°11** : toutes les isolats testées sont résistantes au pollen

Discussion

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

L'évaluation de l'activité antibactérienne du pollen pur et additionné au miel par la méthode des puits, n'a pas donné un résultat significatif. 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.

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

On pense que l'action du pollen sur les microorganismes dépend, d'une part de l'antibio-résistance 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)**

Conclusion

Conclusion

✚ Conclision

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.

Cette présente étude a été effectuée afin de mettre en évidence l'activité antibactérienne **in vitro** de la propolis, du miel et du pollen d'origine algérienne, à l'égard de quatre isolats les plus résistantes de la souche *E.coli aviaire pathogène*. 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-résistantes.

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 diamètres 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 tous montré une activité antibactérienne accentuée (ou 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

Conclusion

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 thérapeutiques des produits de la ruche.

Résumé :

Cette étude vise à évaluer *in vitro* l'effet antibactérien de deux variétés de miel, deux échantillons de propolis et un échantillon de pollen, récoltés de différentes régions algériennes à l'égard de quatre isolats **d'E. coli** aviaire en utilisant des concentrations de miel à **25, 50, 75** et **100%** et de la propolis à différents pourcentages d'éthanol : **5, 10, 20** et **30%** par la méthode de puits sur gélose.

Pour identifier les principes actifs du miel responsables de son effet antibactérien sur ces isolats, des 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.

Ainsi les résultats de l'activité antibactérienne obtenus révèlent que :L'effet inhibiteur des deux variétés de miels utilisés (**loubayna et cedre**) est plus prononcé avec les échantillons concentrés (la dilution de **100%**), mais il a diminué dans les dilutions de (**75%, 50%, 25%**). Contrairement au pollen, qui n'a pas donné un résultat significatif ce qui est lié à une faible diffusion dans le milieu. Pour la propolis **P6**, aucune activité n'a été constatée sur tous les isolats, mais la **P10** a été active sur les trois isolats **F1, R4, R1** et inactive vis-à-vis **R16**.

Mots clés : Effet antibactérien, E. coli aviaire pathogène, miel, propolis, pollen.

Références

Références bibliographiques

- 1- **Abdel-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.* 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.* 101: 695-703
- 3- **Adeleke O.E., Olaitan J.O., Okepekpe 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.* ;4(3)303-306
- 5- **AI-Namma R.T. 2009.** Evaluation of in vitro inhibitory effect of honey on some microbial isolate. *J Bacteriol Res* ; 1(6): 64-67.
- 6- **Aloe magazine. 2011. Récolte de la propolis.** <http://www.aloemagazine.com/propolis-abeille/>
- 7- **Andreani R., Nigelle E. 2017.**le pollen et ces pouvoirs. Edition Andrillon p 09-10
- 8- **Assie B. 2004.** Le miel comme agent cicatrisant. 79 p. Thèse Pour Le Diplôme D'état de Docteur En Médecine. Toulouse : Toulouse III
- 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* 68: 695–701 doi: 10.1691/ph.2013.2907
- 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.* 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.* 51(5-6):277-80.

Références

- 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*. 16-2
- 14- **Barnes J., Nolan L., Vaillancourt J. 2008.** Colibacillosis. *Diseases of Poultry*. SaifYM. Iowa, Blackwell Publishing Professional. 12:716-762
- 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., pp. 347-365). England, UK : John Wiley and Sons Ltd.
- 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* Vol.10(42), pp. 1792-1797
- 18- **BioMérieux. 1980.** Produits et réactifs de laboratoire. Morcy l'Etoile.France.
- 19-
- 20- **Bogdanov S. 1997.** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie* 30 (7): 748-753
- 21- **Bogdanov S., Blumer P. 2001.** Propriétés antibiotique naturel de miel, centre suisse de recherche apicole
- 22- **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 : 1-6
- 23- **Borrelli F., Maffia P., Pinto L., Ianaro A., Russo A., Capasso F., Ialenti A. 2002.** Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*. 53-63
- 24- **Bradbear N. 2005.** Apiculture et moyens d'existence durables. Edition Organisation des Nations Unies pour l'alimentation et l'agriculture.p ;30-32

Références

- 25- **Brudzynsk K. 2006.** Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, Volume 52. N° 12. pp. 1228-1237(10).
- 26- **Bruneau E. 2009.** Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément H. et al. *Le Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, Paris, 354-387.
- 27- **Buckley R.C. 1987a.** Interactions involving plants, homoptera, and ants. *Annu. Rev. Entomol.*, 8,111-135.
- 28- **Buckley R.C. 1987 b.** Ant-plant-homopteran interactions. *Adv. Ecol. Res.*, 16, 53, 85.
- 29- **Boukraâ L., Sulaiman S.A .2009.** Rediscovering the antibiotics of the hive *Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov.* 4(3):206-13.
- 30- **Cardinault N., Cayeux MO., Percie du Sert P. 2012.** La propolis : origine, composition et propriétés. *Phytothérapie.* 298-304
- 31- **CA-SFM. 2013.** Comité de J'Antibiogramme de la Société française de microbiologie. <http://www.sfm.asso.fr/>.
- 32- **Cayet C. 2007.** La propolis : hier et aujourd'hui. Thèse de pharmacie. Université de Picardie Jules Vernes. 81p.
- 33- **Catherine Branger. 2007.** DCEM1, enseignement dirigé de bactériologie, Univ. Paris7, faculté de médecine Denis Diderot.
- 34- **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*, 4(4), 629-638.
- 35- **Chauvin R. 1968.** *Traité de biologie de l'abeille : Biologie appliquée.* Edition Masson et Cie. France: p 126 ; 241 ; 237
- 36- **Choi Y.M., Noh D.O., Cho SY, et al. 2006.** Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *LWT.* 756-761

Références

- 37- **Cimpoi 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* ; 10 :1010-1016
- 38- **Clement H. 2005.** Le Traité Rustica de l'Apiculture, 2° Edition, Paris, Editions Rustica, 528p.
- 39- **Clément H. 2014.** Les bons gestes de l'apiculteur: Tout le savoir-faire apicole en photos-gestes. Edition Rustica .p :12 ; 39-45
- 40- **Codex Alimentarius. 2001.** Revised codex standard for honey. Codex standard 12 1981, Revue, 1(1987). Vol (12): 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*; 1(2): 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. Lattès 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., 2006) 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. 5éme Ed Maloine S.A. Paris ;10 :17-31
- 51- **Donadieu Y. 2008.** La propolis. Editions Dangles. 90p

Références

- 52- **Efem S.E.E. 1988.** Clinical observations on the wound healing properties of honey. British Journal of Surgery. Vol (75): 679-681.
- 53- **Ela M.A., El-Shaer N.S., Ghanem N.B. 1996.** Antimicrobial evaluation and chromatographic analysis of some essential and tixed olls. Pharmazie; 51 pp.993- 995
- 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- **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
- 56- **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.* 422:115–124.
- 57- **Ghedira K., Goetz P., Le Jeune R. 2009.** Propolis. Phytothérapie. 100-105
- 58- **Goldmann DA., Huskins W.C. 1997.** Control of nosocomial antimicrobialresistant bacteria: a strategic priority for hospitals worldwide. Clin Infect Dis;24(Suppl 1):S139 45.
- 59- **Gordon D. M., Cowling A. 2003.** The distribution and genetic structure of Escherichia coli in Australian vertebrates: host and geographic effects. Microbiology. 149 (12):3575-3586.
- 60- **Grange J.M., Davey R.W. 1990.** Antibacterial properties of propolis. Journal of the Royal Society of Medicine, 83:159-60
- 61- **Gregory S.R., Piccolo N., Piccolo M.T., Piccolo M.S., Heggors JP. 2002.** Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. J Altern Complement Med. 77-83
- 62- **Groupement des producteurs de gelée royale. 2006.** <http://www.geleeroyale-gpgr.fr/>
- 63- **Guerriat H. 2000.** « Etre performant en Apiculture ». Édition Rucher du Tilleul. 415p
- 64- **Hafed Z., Benguedour R., Aouane M., Berrid N. 2016.** Profil d'antibioresistance d'Escherichia Coli d'Origine Aviaire :cas de poulet de chair dans la region de grande Casablanca-Maroc. American Journal of Innovative Research and Applied Sciences.

Références

- 65- **Hamadene S. 1988.** Influence de la flore mellifère principale sur les propriétés physicochimiques de quelques miels de la Mitidja. Mém, Ing, Agr, Ina, Elharrach.
- 66- **Hegazi A.G. 2001.** Biological activity of royal jelly in Apimondia.
- 67- **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, P16
- 68- **Jean-prost P. 1987.** Apiculture. Edition J.B Bailliere Paris. p:142-143 ;348-349
- 69- **Jean-Prost P., Le Conte. 2005.** Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition, Tec & Doc Lavoisier, 698p.
- 70- **Jean-Prost P., Medori P. 2005.** Matière première. In Apiculture. Lavoisier : Yves le conte. Paris, pp : 161-183
- 71- **Joffin J.N., Leyral G. 2005.** Microbiologie Technique. Tome 1 Dictionnaire des techniques. Académie de bordeaux et crdp d'Aquitaine, 171-189.
- 72- **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
- 73- **Journal Officiel de la République Française. 1977.** Arrête du 15 février 1977 relatif aux méthodes officielles d'analyses du miel p 6.7.8
- 74- **Kerkvliet J.D. 1996.** Screening method for the determination of peroxide accumulation in honey and relation with HMF content. J. Apicult. Res, 35: 110-117
- 75- **Lavie P. 1960.** Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*apis mellifica* L) (fin). In Annales de l'Abeille, (EDP Sciences), pp. 201-299
- 76- **LeBlanc B.W., Davis O.K., Boue S., Delucca A. and Deeby T. 2009.** Antioxidant activity of Sonoran Desert bee pollen. Food Chemistry, 115 : 1299-1305
- 77- **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., 26:51-76

- 78- **Louveaux J. 1980.** Les abeilles et leur élevage. Ed. Hachette Paris, P325
- 79- **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. 73-7p
- 80- **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. 12: 9514-32
- 81- **Marchenay P., Bérard L. 2007.** L'homme, l'abeille et le miel Edition De Borée 223p
- 82- **Marouf A., Reynau J. 2007.** La Botanique de A à Z .éd. DUNOD p. 238, 239
- 83- **Maurizio A. 1968.** La formation du miel in Chauvin et al. Traité de biologie de l'abeille Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 264-276
- 84- **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.
- 85- **Mickaël B. 2010.** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de Limoges.
- 86- **Molan P.C., Russell K.M. 1988.** Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. Journal of Apicultural Research, 27(1):62-67
- 87- **Molan P.C. 1992.** The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. Bee World. Vol 73(1):5-28.
- 88- **Molan P.C., Cooper R.A. 2000.** Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers. Trop Doct ; 30: 249-250.
- 89- **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
- 90- **Moussa Ahmed., Djebli Nouredine., Meslem Abdelmelek., Aissat Saad. 2012.** Antibacterial activity of various honey types of Algeria against Pathogenic Gram-Negative Bacilli: Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa

- 91- **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.
- 92- **Nair S. 2014.** Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université d'Oran. 192p.
- 93- **Nassar H.M., Li M., Gregory R.L. 2012.** Effect of honey on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* Vol 78(2):536-40
- 94- **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 .
- 95- **Nolkemper S., Reichling J., Sensch K.H., Schnitzler P. 2010.** Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. *Phytotherapy Res.* 132- 8.
- 96- **Nostro A., Cellini L., Di Bartolomeo S., Cannatelli M.A., Di Campi 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.* 187-90
- 97- **Okutan H., Ozcelik 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.* 191-6
- 98- **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.* 101:493-497.
- 99- **Oukala N., Salmi A., Belmahdi M., Touati A. 2014.** Study of antibiotic resistance of *Escherichia coli* strains isolated from broiler attained by colibacillosis iii eme symposium de la recherche avicole 20-21 octobre 2014 Batna-Algerie : p33.
- 100- **Ozcan M. 2004.** Inhibition of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. *J Med Food.* 114-6

Références

- 101- **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* 63, 233–239
- 102- **Pavilonis A., Baranauskas A., Puidokaite L., Mazeliene Z., Savickas A., Radziūnas R. 2008.** Antimicrobial activity of soft and purified propolis extracts. *Medicina (Kaunas)*. 977-83.
- 103- **Percie du Sert P. 2009.** Les pollens apicoles. Pollenergie SAS, La Grabe`re, F-47450 Saint-Hilaire-de-Lusignan, France
- 104- **Pohl F. 2003.** L'élevage des abeilles. Edition Franckh-kosmos Verlags et Cokg Stuttgart. P :18-21
- 105- **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. P333-335.
- 106- **Rahman M., Richardson A., Azirun S. 2010.** Antibacterial activity of propolis and honey against *Staphylococcus Aureus* and *Escherichia coli*. *African Journal of Microbiology research*.vol 4(16) P.1872-1878.
- 107- **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 » .24/05/2014. 7ème journée scientifique de l'AMPA (association Marocaine de pathologie aviaire).
- 108- **Rebai H., Saidi sief 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
- 109- **Renault-Myskovsky J., Petzold M. 1992.** Spores et pollen. Ed. La Duralie ,248p
- 110- **Resapath. 2010.** Données du réseau d'épidémiosurveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes animales en France
- 111- **Richard Daniel., Chevolet Patrick., Fournel Sylvie. 2012.** Biologie. éd. 2. p 606-610

Références

- 112- **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*. 530-5.
- 113- **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*. 91, 313- 317.
- 114- **Scazzocchio F., D'aurai F.D., Alessandrini D., Pantanella F. 2006.** Multifactorial aspects of anti-microbial activity of propolis. *Microbiol Res*. 327-33
- 115- **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
- 116- **Shigenori K., Hamasaka T., Nakayama T. 2004.** Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*. 329-339
- 117- **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*. 99:69–73.
- 118- **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*. 60(3):222-7
- 119- **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* ; 69: 217-225
- 120- **Tenaillon O. 2010.** The population genetics of commensal *Escherichia coli*. *Nat Rev Microbiol*. p. 207-17.
- 121- **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 – Béjaia
- 122- **Ugur A., Arslan T. 2004.** An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food*. 7:90-94
- 123- **Vaissiere B. 2002.** Abeille et pollinisation. *Le Courrier de la nature–Spécial Abeilles*(196) :24-27

Références

- 124- **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.
- 125- **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*, 90, 197-201.
- 126- **Waring C., Waring A. 2012.** Abeilles tout savoir sur l'apiculture. Artemis éditions. 179p.
- 127- **Way M.J. 1963.** Mutualism between ants and honeydewproducing Homoptera. *Annu. Rev. Entomol.*, 8, 307-344.
- 128- **Weston R.J. 2000.** The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* ; 71: 235 – 239
- 129- **Xu., Luo L., Chen B., Fu Y. 2009.** Recent development of chemical components in propolis. *Frontiers of Biology in China*. P385-391.
- 130- **Yao I., Akimoto S.I. 2001.** Ant attendance changes the sugar composition of the honeydew of the drepanosiphid aphid *Tuberculatus quercicola*. *Oecologia*, 128, 36-43.

Annexes

Annexes

Annexe N° 01 : Résultats des paramètres physicochimiques des miels (Teneur en cendres, teneur en eau).

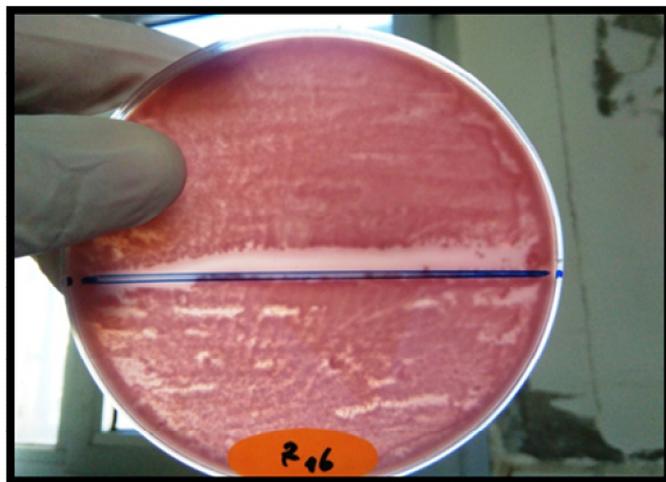
Tableau N 01 : Les valeurs de la teneur en cendres des échantillons du miel

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



Annexe N° 03 : 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 a l'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 a l'emploi.....25°C : 7.3±0.2.

Annexe N° 04: 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 pipette 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 à 625nm. Lensemencement doit se faire dans les 15min qui suivent la préparation de l'inoculum (Soussy et al., 2010).

ANNEXE N°05 : Résultats d'antibiogramme

Antibiotique	F1		R16		R1		R4	
	DI (mm)	IN						
Amoxicilline +Acide clavulanique	06	R	06	R	06	R	06	R
Ampicilline	06	R	06	R	06	R	06	R

Annexes

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°06 : résultats de l'effet antibactérien du miel

Tableau N°01: Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat F1 CH

Concentration	25%		50%		75%		100%		Témoin	
	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML
Miel										
Zone d'inhibition	0mm	0mm	10mm	6mm	11mm	9mm	12mm	11mm	-	-
Catégories clinique	R	R	S	S	S	S	S	S	-	-

Tableau N°02: Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7pc16

Concentration	25%		50%		75%		100%		Témoin	
	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML
Miel										
Zone d'inhibition	0mm	0mm	9mm	0mm	11mm	19mm	12mm	10mm	-	-
Catégories clinique	R	R	R	R	S		S	S	-	-

Tableau N°03 : Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc1

Annexes

Concentration	25%		50%		75%		100%		Témoin	
Miel	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML
Zone d'inhibition	6mm	7mm	8mm	9mm	9mm	10mm	7mm	11mm	-	-
Catégories clinique	R	R	R	S	S	S	S	S	-	-

Tableau N°04: Diamètre d'inhibition du miel (MC et ML) sur l'isolat R7 pc4

Concentration	25%		50%		75%		100%		Témoin	
Miel	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML	MC	ML
Zone d'inhibition	0mm	8mm	13mm	10mm	14mm	12mm	16mm	14mm	-	-
Catégories clinique	R	R	S	S	S	S	S	S	-	-

Annexe N°07 : 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	-

Annexes

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	-