

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

REPUBLIQUE ALGERIENNE DE MOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE

جامعة ابن خلدون تيارت

UNIVERSITE IBN KHALDOUN TIARET

المعهد الوطني للبيطرة

INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

قسم الصحة الحيوانية

DEPARTEMENT DE SANTE ANIMALE



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master complémentaire

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Vétérinaires

Présenté par

LOURDJANE Sarra

Thème

**Traitement de candidose avec une association
de miel et de safran naturel**

Soutenu publiquement le

Jury :

Président : BORABAH Akila

Encadreur : AISSET Ahmed

Co- encadreur : MOUSSA Ahmed

Examineur I : MAHOUZ Fatima

Grade:

Grade: MCA

Grade: MCA

Grade: MCA

Grade: MCB

Année universitaire 2018/2019

Remerciements

Avant tout, je remercie dieu tout puissant qui m'a guidé tout au long de ma vie ,qui m'a permis de m'instruire et d'arriver aussi loin dans mes études, et qui m'a donné courage et patience pour passer toute les moment difficiles , et qui m'a permis d'achever ce travail.

Mes remerciement s'adressent tout particulièrement à :

Mon promoteur Dr Aissat Saad , pour avoir accepté de m'encadrer et de diriger ce présent travail, pour ces conseils et surtout pour m'avoir consacré son temps à fin de réaliser ce travail.

Mon copromoteur Dr Ahemad Moussa , pour avoir accepté de m'encadrer.

Je tiens également mes vifs remerciements à Aissa Mohamed amine pour ces conseils et surtout pour m'avoir consacré son temps à fin de réaliser ce travail .

Mes remerciements et Ma reconnaissance au président de jury BOURABAH AKILA

Mes remerciement et Ma parfaite gratitude à Mahouz Fatima , d'avoir accepté de se joindre à ce jury comme examinateur

En fin je présente mes remerciements à tout un petit monde de personnes qui ont rendu possible la présent étude et qui ont contribué à son élaboration sous quelque formes que ce soit .



D édicace

A la plus belle perle du monde...ma tendre mère, En témoignage de votre affection, votre sacrifices et votre précieux conseils qui mon conduit à la réussite dans tous ce que je fais, je t'aime maman...BH MK

A mes cher frères Abdrhm Med, Aissa ;Sido surtout Khelifa Qui n'a cessé d'être pour moi l'exemple de persévérance, de courage et de générosité.

A mes aimables sœurs Fouzia tima, Zahra Naima Zinbe Touha ke dieu toutpuissant, vous donne santé et bonheur.je t'aime très fort...,

A mes très chères et merveilleuse amies que je l'aime profondément, , qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de courage et de générosité, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de prospérité et beaucoup de succès.

A tous mes proches

A tous ceux qui mon aidé afin de réaliser ce travail, et à tous ceux que j'aime et qui m'aiment.



Liste des abréviations

- F1:** Miel
F2: Miel +CMC
F3: Safran
F4 : Miel + Safran + CMC Na
CMC : Na carboxy méthyle cellulose sodique

Liste des figures

- Figure 01 :** Aspect général de *Crocus sativus L.* (Arvy et Gallouin, 2003).....05
Figure 02 : Description schématique de la pharmacocinétique09
du safran (Hosseini et al., 2017).....
Figure 03 : Variété de miel utilisée = miel de jujubier.....15
Figure 04 : Safran16
Figure 05 : spectrophotomètre17
Figure 07 : Les Evaluations De L'activité Antimicrobienne18
Des Souches Bactériennes Testés18
Figure 08 : L'incubation des souches bactériennes évaluée.....19
(miel safran mélange) vis-à-vis des souches testées.....
Figure 09 : Diamètre D'Inhibition (23 mm) de Safran Vis-À-Vis S.Aureus21
Figure 10 : Diamètre D'Inhibition (17 mm) le complexe22
(Miel, Safran, Gel) Vis-À-Vis S.Aureus22
Figure 11 : Diamètre D'Inhibition (22 mm) le mélange (Miel + Gel) Vis-À-Vis S.Aureus
Figure 12 : Diamètre D'Inhibition (17 mm) Miel Vis-À-Vis S.Aureus.....22
Figure 13 : Diamètre D'Inhibition (19 mm) le complexe (Miel Gel Safran) Vis-À-Vis
candidat23
Figure 14 : Diamètre D'Inhibition (15 mm) le Miel Vis-À-Vis candidat23
Figure 15 : Diamètre D'Inhibition (18 mm) le mélange (Miel Gel) Vis-À-Vis candidat15
Figure 16 : Diamètre D'Inhibition (18 mm) le Zafran Vis-À-Vis candidat16

Liste des tableau

- Tableau 01 :** Résumé des propriétés et indications du safran (Palomares, 2015).....08
Tableau 02 : Résultats des concentrations minimales inhibitrices bactériennes.....19

Liste des figures

- Graphe 01 :** Représente le diamètre des zones d'inhibition des19

SOMMAIRE

Remerciement

Dédicace

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

I. Introduction générale.....02

CHAPITRE – I –

Généralité

1.Safran :	04
1.1. Définition :	04
1. 2. Nomenclature :	04
1. 3. Description botanique :	04
1.4. Récolte et rendement du safran :	06
1.5. Principaux composant du safran :	06
1.6. Effets antinociceptifs et anti-inflammatoires :	07
1.7. Activité anxiolytique :	07
1.8. Activité antioxydante	07
1.9. Activité antibactérienne et antifongique :	08
2.Miel.....	10
2.1. Définition	10
2.2. Origines et variétés du miel :.....	10
2.3. Composition du miel :.....	10
2.4. Quelques Propriétés physico-chimique du miel :.....	11
2.4.1.La coloration :.....	11
2.4.2. PH	11
2.4.3. Acidité :.....	11
2.5. Propriété antibactérienne :.....	11
2.6. Variation de l'activité antibactérienne	12
2.7. L'activité antifongique :.....	12
2.8. Activité sur les mycoses cutanées :	12

Partie expérimentale : Matériels et Méthodes

Chapitre : Matériels et méthodes

Matériels et Méthodes	15
Matériels et Méthodes :	15
1. L'objectif :.....	15
2. Présentation du lieu de l'étude expérimentale	15
3. Matériel expérimental :.....	15
3.1. Matières premières :.....	15
3.1.1. Le miel :	15
3.1.2. safran	16
3.1.3. Carboxymethyl cellulose sodique (CMCNa) :	16
3.2. Les souches étudiées :.....	16
4. Appareillages et verreries :	16
4.1. Les matériels utilisés sont :	16
4.2. Les méthodes de travail :	16
5. Mesure de la densité bactérienne :.....	17
5.1. Préparation de la suspension bactérienne et standardisation :	17
6. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de puits :.....	17
6.1. Protocole expérimental	17
6.2. Préparation des puits :.....	18
7. la lecture :.....	18

Chapitre – III –

Résultats et discussion

1. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes :	21
1.1. Méthode des puits :.....	21
1.1.1. Effet du miel safran et mélange sur <i>Staphylococcus aureus</i> :.....	21
1.1.2. Effet du miel safran et mélange sur condidat	23
Discussion :	24
Conclusion	26
Liste des références	28
Résumé	

Introduction générale

Introduction générale

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances (**Boukhatem, 2013**).

En effet, le développement de la résistance des micro-organismes aux divers antibiotiques préoccupent les spécialistes en médecine. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne (**Bouazize et Ramdane, 2006**).

De nos jours, avec l'essor des médecines complémentaire et alternatives, le miel délaissé avec l'avènement des antibiotiques est « redécouvert ». Bon nombre de miels naturels et de préparation à base de miel ont été homologués à travers le monde pour le traitement des plaies et des brûlures.

Vu le problème mondial causée par la résistance de candida albicans en particulier et des SARM (S.aureus résistant à la méthicilline), de nombreuses recherches sont entreprises pour y pallier.

C'est dans ce contexte que s'inscrit notre étude. Notre objectif est de tester l'action du miel et de préparation à base de miel safran et le gel contre ces deux germes

Chapitre – I –

Généralité

1. Safran :

1.1. Définition :

"*Crocus Sativus Linnaeus*" est connu sous le nom de "safran" qui est dérivé de l'arabe "Zaeferân" dont la racine exprime une notion essentielle, la couleur jaune. Aussi, vient du Grec "krokus" qui veut dire "filament", par allusion aux stigmates de la plante. Le terme "sativus", quant à lui, signifie "cultiver", car le *Crocus sativus*, par sa reproduction végétative, ne peut se multiplier sans la main de l'homme. C'est une petite plante herbacée appartient à la famille des "Iridacées" et au genre "Crocus". (Dupont, 2001 ; Jan S et al., 2014).

Le safran est une épice rare d'une grande valeur commerciale (Ait Oubahou et Al Otmani, 2002). On estime que 75.000 fleurs ou 225.000 stigmas triés à la main sont nécessaires pour faire une seule livre de safran, ceci explique en partie son prix sur le marché (Aytekin & Acikgoz Acikgoz, 2008). Il est cultivé dans plusieurs régions tels que : L'Iran, Grèce, Maroc, l'Espagne, l'Inde et l'Italie. (Modagheh, 2008 ; Ebrahim-Habibi MB., 2010 ; Pintado, 2011).

1. 2. Nomenclature :

- Nom scientifique : *Crocus sativus* L.
- Noms communs : safran, fleur de *Crocus sativus*
- Anglais : Safran crocus
- Français : safran, safran cultivé, safran de Gâtinais
- Arabe : Azzaàfarane AzzaàfaraneAlhorr, Azzaàfarane Chaàra (Rahmouni et Reghis, 2016).

1. 3. Description botanique :

Crocus sativus.L est la seule espèce de *Crocus* produisant le safran. Elle fait partie de la grande famille des Iridacées et au genre *Crocus* qui comprend plus de 80 espèces de plantes bulbeuses de petites tailles (Chahine, 2014 ; Pitsikas, 2016) ; Selon (Saxena, 2010 ; Srivastava et al., 2010) leur classification taxonomique est la suivante :

- Royaume : Plantae
- Division : Spermatophyte
- Sous-division : Angiosperme
- Classe : Monocotylédone
- Sous-classe : Liliidae
- Famille : Iridaceae
- Genre : *Crocus*

- Espèce : *Crocus sativus*.L

Le *Crocus sativus*.L est une plante triploïde, géophyte stérile et pérenne (**Esmaeili N et al., 2010**).

Elle est une plante monocotylédone, herbacée et vivace qui a une floraison automnale et qui est inexistante à l'état sauvage. C'est une plante rustique, à cause de sa morphologie et de sa physiologie. Elle peut atteindre de 10 à 25 cm de hauteur. Cependant, c'est une plante dont le bulbe souterrain, aussi appelé corne mesure de 3 à 5 cm de diamètre qui accumule les substances de réserve nécessaires à la floraison et au bourgeonnement. Les fleurs, au nombre de 1 à 8 par bulbe, possèdent 6 pétales de couleur mauve. La fleur possède 3 étamines de couleur jaune et c'est le pistil, formé d'un style long et fin et de 3 stigmates de couleur rouge-orangé qu'ils ont un aspect brillant à l'ouverture de la fleur, fins à la base et plus larges à l'extrémité, très odorants et constituent le safran du commerce une fois desséchés. Les fleurs étant stériles, la plante ne peut se reproduire que par multiplication végétative des bulbes. Les feuilles sont longues et étroites : 2 à 5 cm de largeur pour 300 à 400 mm de long et sont au nombre de 6 à 10 par bulbe (**Winterhalter P & Straubinger M., 2000 ; Ait Oubahou & Al Otmani, 2002**).

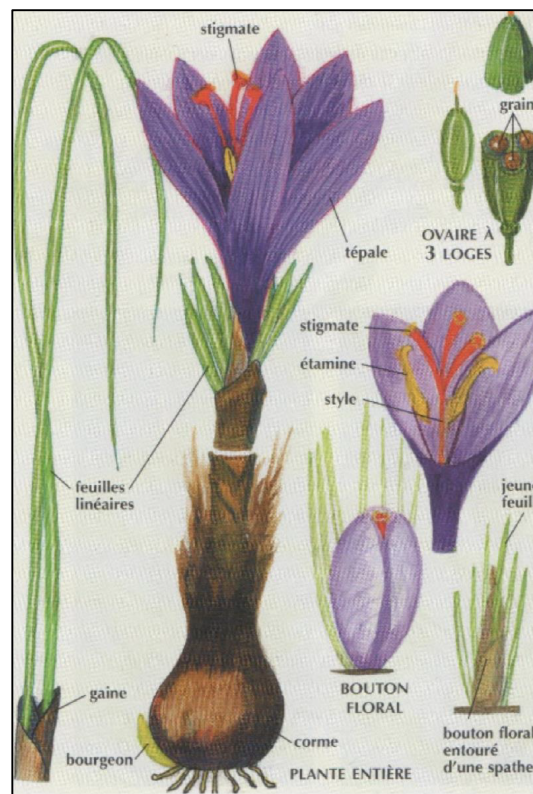


Figure 01 : Aspect général de *Crocus sativus* L. (Arvy et Gallouin, 2003)

1.4. Récolte et rendement du safran :

Ce sont les stigmates orange vif de la fleur qui constituent le safran. Il faut environ 120 000 fleurs pour obtenir 1 kg de safran sec. La récolte étant entièrement manuelle, on comprendra que c'est la plus chère de toutes les épices. En début de floraison, en septembre ou octobre, les fleurs sont coupées puis les stigmates sont prélevés et mis à sécher dans un local aéré. Ils sont ensuite conservés dans un bocal hermétique (**Polese et Devaux, 2001**).

Le rendement moyen d'un hectare de safran dépend des conditions du milieu et de l'âge de la safranière et peut atteindre plus de 10 kg/ha. La durée de stockage du safran est longue si les conditions de conservation sont optimales. La qualité du safran peut être maintenue durant plus de 3 ans. Comme c'est une épice hygroscopique, elle doit être conservée dans un endroit sec, à l'abri de la lumière et de l'air. L'utilisation des conteneurs en verre colorés ou opaques, fermés hermétiquement et placés dans un endroit sec constitue une bonne méthode de préservation de la qualité du safran (**Chahine, 2014**).

1.5. Principaux composant du safran :

Le safran contient par excès de 150 composés volatiles aromatiques (terpènes, alcools terpènes, esters...). Il possède également des composés actifs non volatiles : caroténoïdes, flavonoïdes (Quercitine et kaempferol), Zéanxanthine, Lycopène, Bêta carotènes et Polysaccharides. Parmi les caroténoïdes qui sont des composés non volatiles, il existe 3 métabolites secondaires : crocin et leurs dérivés, picrocrocin et le safranal (**Liakopoulou-Kyriakides M & AKyriakidis D., 2002**).

- **Crocins (C₄₄H₆₄O₂₄)** : sont des esters glucosyliques de la crocétine, solubles dans l'eau et sont responsables de la couleur jaune-orangée de l'épice.
- **Picrocrocin (C₁₆H₂₆O₇)** : C'est un glycoside et précurseur du safran al, responsable de la saveur et le goût amère de l'épice.
- **Safranal (C₁₀H₁₄O)** : C'est un composant principal de l'huile essentielle distillée, aldéhyde mono-terpénique, responsable de l'odeur et l'arôme (**Tarantilis PA., 1995 ; Kanakis CD., 2004; Srivastava et al., 2010**).

Les pétales de cette plante sont constitués des anthocyanes, glycosides et flavonoïdes (**Gil MI & kaber AA., 2002**). Kaempférol glycoside est le majeur flavonols (84,0% du teneur total en flavonols) chez *C. sativus* (**Goupy et al., 2013**). Les analyses chimiques faites sur les stigmates de *Crocus sativus* ont révélé la présence de plus de cent-cinquante éléments, avec une composition approximative de :

- 10 % d'eau.
- 12 % de protéines et d'acides aminés.
- 5 % de graisses, - 5 % de minéraux (Mn, Mg, P, Cu, Ca, Zn, Fe...).
- 5 % de fibres brutes.
- 63 % de sucres incluant l'amidon, les sucres réduits, les pentosanes, les gommes, les pectines et les dextrines.
- Des quantités infimes de vitamine B2 (riboflavine) et de vitamine B1 (thiamine).

Cependant, les proportions de ces constituants peuvent varier en raison des conditions de croissance et du pays d'origine (**Melnyk J et al., 2010**).

1.6. Effets antinociceptifs et anti-inflammatoires :

Les stigmates du safran et les extraits de pétales ont présenté des effets antinociceptifs dans le test de la douleur chimiquement induite ainsi que l'activité anti-inflammatoire aiguë et / ou chronique, et ces effets peuvent être dus à la présence de flavonoïdes, de tanins, d'anthocyanines, d'alcaloïdes et de saponines (**Srivastava et al., 2010**).

1.7. Activité anxiolytique :

Le rôle du safran serait semblable à l'activité du diazépam puisque le safran, comme le diazépam en tant que benzodiazépine, présente des effets anxiolytique, sédatif et myorelaxant.

Il a été suggéré l'implication de certains systèmes inhibiteurs comme le système GABAergique. la réponse diffère selon que l'on consomme le safran entier ou que l'on absorbe ses composants séparément. les effets synergiques des différents composés peuvent contribuer à promouvoir le safran dans le traitement de l'insomnie et de l'anxiété (**Palomares, 2015**)

1.8. Activité antioxydante :

Les caroténoïdes, dont font partie la crocine et la crocétine, jouent un rôle important sur la santé en agissant en tant qu'antioxydants naturels. Ils protègent les cellules et les tissus des effets préjudiciables des radicaux libres et des espèces réactives de l'oxygène (EROs) (**Palomares, 2015**). Cette activité antioxydante serait devolue à la La crocine qui est le principe actif le plus étudié pour ses propriétés anti-oxydantes du safran. Son effet est cependant potentialisé par autres composants tels que le safranal, la diméthyl-crocétine et les flavonoïdes (**Bathale et al., 2013**)).

1.9. Activité antibactérienne et antifongique :

En utilisant la méthode de diffusion (**Vahidi et al., 2002**) ont montré que L'extrait à l'acétate d'éthyle de diverses parties du safran (à l'exception des feuilles) est actif contre les bactéries (*Micrococcus luteus*, *Staphylococcus epidermitis*, *Staph. Aureus* et *E. coli*) et les champignons (*Candida albicans*, *Aspergillus niger* et *Cladospourium sp*). Le safran et ses composants, le safranal et la crocine, ont montré également une activité antibactérienne, en particulier contre *Salmonella* (**Pintado et al., 2010**).

Tableau 01 : Résumé des propriétés et indications du safran (**Palomares, 2015**)

Propriétés	Indications
Antidépresseur	<ul style="list-style-type: none"> - Dépression nerveuse - Fragilité émotionnelle - Stress - Anxiété - Angoisse - Manque de sommeil
Régulateur de satiété en cas de surcharge pondérale	Excès pondéral
Stimulant	<ul style="list-style-type: none"> - Surmenage - Perte de mémoire - Fatigue générale, physique et mentale - Asthénie
Tonique	<ul style="list-style-type: none"> - Manque d'énergie, de tonus - Pratique sportive (entraînement, compétition, récupération)
Revitalisant	Terrain infectieux
Aphrodisiaque	<ul style="list-style-type: none"> - Impuissance masculine - Frigidité féminine
Antispasmodique	Tension nerveuse
Antalgique Analgésique	Douleur menstruelle
Anti-inflammatoire	Douleur articulaire
Tonique digestif	Paresse digestive
Tonique hépatique	Paresse hépatique
Immunostimulant	Immunodépression
Hypoglycémiant	Diabète non insulino-dépendant
Hypocholestérolémiant	<ul style="list-style-type: none"> - Excès de cholestérol - Excès de triglycérides - Prévention des accidents cardiovasculaires
Antioxydant Anti-radicalaire	<ul style="list-style-type: none"> - Vieillesse prématurée et accélérée de l'organisme - Sevrage tabagique

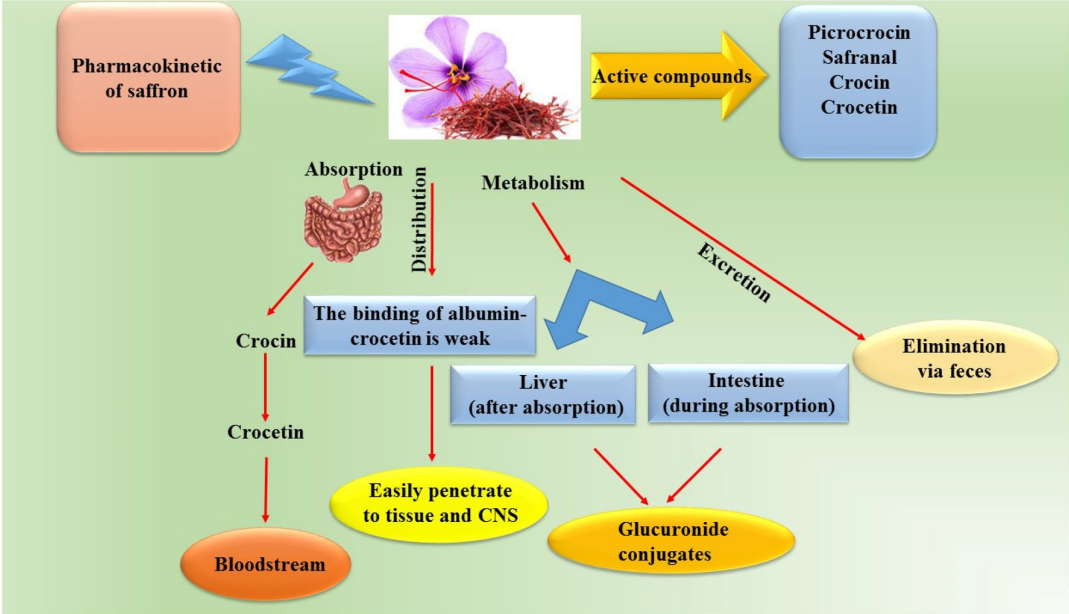


Figure 02 : Description schématique de la pharmacocinétique du safran (Hosseini et al., 2017)

2. Miel

2.1. Définition :

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par l'abeille *Apis mellifera*, à partir du nectar de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**Codex., 2001**). Le miel est défini comme étant la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. En effet, elles butinent, transforment, combinent avec des matières propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée » (**Blanc., 2010**).

2.2. Origines et variétés du miel :

L'origine de miel est importante vis-à-vis de l'évaluation de sa qualité par les consommateurs. Son origine botanique et géographique influence sur ses caractéristiques organoleptiques (**Baroni et al., 2008**).

Il existe deux grandes variétés de miel, distinguées en fonction de leur origine sécrétoire :

Le miel issu de substances végétales (nectar) et le miel provenant de substances animales (miellat) (**Schivre, 2006**).

2.3. Composition du miel :

Rémy Chauvin donne un excellent raccourci en écrivant : « *Il y a autant de variétés de Miels que de fromages.* » C'est dire que les pourcentages que nous donnons ici ont des valeurs moyennes, de sensibles nuances existant d'une variété à l'autre.

Le miel contient :

- 20% d'eau, souvent moins, mais jamais plus de 22%.
- De 75 à 79% de sucres, dont environ 70% de sucres simples, glucose (ou dextrose) et lévulose (ou fructose) et de 5 à 9% de sucres composés, en particulier de saccharose.
- Les substances restantes, de 1 à 5%, sont : des protéines (très peu), des sels minéraux et des oligo-éléments, des vitamines, des enzymes digestifs (invertase, amylase), des acides organiques dont l'acide formique, des substances aromatiques essentielles, une substance antibiotique (l'inhibine), des grains de pollen et des pigments (**DARRIGOL, 2007**).
- Des lipides ou corps gras en infime quantité sous forme de glycéride et d'acide aminés libres (acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, asparagine, cystine, glycine,

histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, proline, sérine, tryptophane, tyrossine et valine (**IRLANDE, 2010**).

2.4. Quelques Propriétés physico-chimique du miel :

2.4.1. La coloration :

La couleur du miel va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé en passant par toutes les gammes de jaunes, d'oranges, de marrons et même parfois de verts. Si le nectar ou le miellat n'ont pas de pigments, les miels liquides seront incolores et les miels cristallisés seront blancs (exemple du miel de colza). Dans le cas contraire, la palette de couleur est très large. Les miels de lavande, de rhododendron, et de tilleul sont ivoires, les miels de tournesol et de pissenlit sont jaune intense, les miels de châtaigner, de bruyère, et de miellat sont bruns.

Comme mentionné ci-dessus, on peut même retrouver des pigments verts dans certains miels de saule ou de sapin (**Bruneau E., 2002**).

2.4.2. PH :

Tous les miels sont acides et c'est probablement l'abeille qui leur confère cette propriété. Le pH et l'acidité libre vont influencer la stabilité du miel et ces conditions de conservation (**Mbogning et al., 2011**). Le pH se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar et entre 4,5 et 5,5 pour un miel de miellat (**Cari, 2011**).

2.4.3. Acidité :

L'acidité est un critère de qualité important qui permet d'identifier l'origine botanique des miels, ces derniers ont une réaction acide, ils contiennent des acides organiques, dont certains sont volatils et des lactones. Le problème de l'acidité des miels est très complexe, certains acides présents dans le miel proviennent sans aucun doute du nectar ou du miellat, mais leur origine principale est à rechercher dans les sécrétions salivaires de l'abeille et dans le processus enzymatique et fermentatif (**Luis et al., 2007**).

Le principal acide dérivé du glucose est l'acide gluconique, sa formation s'accompagne du dégagement d'eau oxygénée (H₂O₂). D'autres sucres tels que le maltose (7,2%), le saccharose (1,5%) et quelques oligosaccharides (4,2%) sont présent dans le miel (**Shin et Ustunol, 2005**).

2.5. Propriété antibactérienne :

Le terme antibactérien fait référence à un ensemble de composés qui ont la capacité d'éliminer (bactéricide) ou de réduire (bactériostatique) la croissance des microbes tels que les bactéries. Les propriétés antibactériennes du miel proviennent principalement des « inhibiteurs », (**Kwakman et Zaat, 2012**) dont :

- **Acidité** : Le pH très bas permet de ralentir ou d'empêcher la croissance de beaucoup d'espèces de bactéries, mais cette acidité peut être neutralisée avec les dilutions avec les solutions des liquides corporels.
- **Peroxyde d'hydrogène** : L'enzyme d'oxydase de glucose produit du peroxyde d'hydrogène qui est généralement le facteur antibactérien principal en miel. Cette enzyme devient inactivée en chauffant le miel, ou en exposant à la lumière prolongée.
- **Autres composants** : les miels de quelques sources florales contiennent de diverses substances antibactériennes, vraisemblablement produites par certaines espèces des plantes, qui dans certains cas peuvent expliquer une grande partie de l'activité antibactérienne du miel (**Hyungjae et al.,2008 ; Iurlina et Fritz,2005 ; Molan,1992**).

2.6. Variation de l'activité antibactérienne :

Il existe une variation importante de l'activité antibactérienne selon le type de miel. En effet, certains miels voient leur efficacité accrue en raison de la présence d'un composant phytochimique particulier (**Adams et al., 2008 ; Mavric et al., 2008**) d'une grande quantité de composés phénoliques et flavonoïdes (miel de sarrasin), ou encore d'un taux élevé de glucose oxydase (**Van den Berg et al., 2008**).

Les traitements éventuels et le mode de conservation du miel doivent également être pris en compte. En effet, si un miel est choisi pour son activité antibactérienne peroxyde, il faut s'assurer qu'il n'ait pas été pasteurisé et qu'il ait été conservé à l'abri de la chaleur et de la lumière pour éviter dégradation de la glucose oxydase (**Dimins et al., 2006**).

2.7. L'activité antifongique :

Le miel est capable d'éliminer et d'inhiber complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida Albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (**Molan, 1992**).

Malcolm Richardson, professeur de mycologie médicale à l'Université de Manchester explique que Le miel a été utilisé depuis l'antiquité pour le traitement de plusieurs maladies. Mais seul un nombre limité d'étude se sont penchée sur son effet sur les champignons pathogènes.

2.8. Activité sur les mycoses cutanées :

L'essai clinique mené par **Alwaili en 2004** qui est utilisé une mixture composée à parts égales ; de miel, d'huile d'olive et de cire d'abeille, pour traiter pendant un mois trois *Versicolor* et à *Epidermophyton Inguinale*.

Les résultats cliniques qu'il a obtenus sont : 86% des cas pour les patients atteints par *Pytiriacis Versicolor*, et dans 79% des cas chez ceux touchés par *Epidermophyton Inguinale*. Une guérison complète a été observée dans 79% des cas pour *Pytiriacis Versicolor* et dans 71% des cas pour *Epidermophyton Inguinale* (Clémence, 2005).

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

Matériels et Méthodes :

1. L'objectif :

Détermination de l'effet de Safran (*Crocus sativus*) et son effet synergique éventuel avec le miel sur l'activité anti microbienne.

2. Présentation du lieu de l'étude expérimentale :

Notre étude expérimentale a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie, Université Ibn- Khaldoun, Tiaret, durant le mois Décembre 2019.

3. Matériel expérimental :

3.1. Matières premières :

3.1.1. Le Miel :

Une variété de miel d'euphorbe provenant de la récolte 2019, ayant été conservée à température ambiante du laboratoire.



Figure 03 : Variété de miel utilisée = miel de jujubier

3.1.2. Safran :

Le safran a été obtenu auprès d'un marchand d'épices (**Origine supposée : Maroc**)



Figure 04 : Safran

3.1.3. Gel (Carboxymethyl cellulose sodique (CMCNa) :

Le Gel utilisé est commercialisé par ANALAR NORMAPUR

3.2. Les souches étudiées :

Les deux espèces microbiennes testées (*Candida albicans* (*C.albicans*) et *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) dans notre étude sont des souches pures, isolées et identifiées au niveau du laboratoire de microbiologie II . un repiquage de ces souches a été réalisé sur des milieux sélectifs afin d'obtenir des cultures jeunes.

4. Appareillages et verreries :

4.1.Le matériel utilisé

Etuve, bain marie, spectrophotomètre bec bunsen, pipette pasteur en plastique et en verre, tube à essai stérile, boîte de pétrie (45mm).

4.2. Méthode de travail :

Préparation de quatre formulations a base de Miel(F1) Miel +CMC Na(F2) ; Safran (F3) ;Miel + Safran + CMC Na(F4)

- Evaluation *in vitro* de l'effet antifongique du miel (Méthode des puits)
- Evaluation *in vitro* de l'effet antifongique du safran (Méthode des puits)
- Evaluation *in vitro* de l'effet synergique entre le miel et le Safran (Méthode des puits)



Figure 05 : spectrophotomètre

5. Mesure de la densité bactérienne :

5.1. Préparation de la suspension bactérienne et standardisation :

A partir des cultures jeunes (18 h), sur les milieux Mueller Hinton, prélever 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5ml d'eau physiologique stérile, agiter au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à 10⁶ UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 625 nm.

Selon Mac Ferland, on admet une DO (625nm) comprise entre 0,08 et 0,13 qui correspondent à une concentration de 10⁷ à 10⁸ germes/ml ; la suspension d'inoculum est diluée à 1/10 dans de l'eau physiologique stérile pour avoir une concentration de 10⁶germes/ml.

6. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode des puits :

6.1. Protocole expérimental :

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Muller Hinton (MH) en surfusion (45°C) dans des boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte. Laisser refroidir et solidifier sur la paillasse. Préparer une suspension bactérienne de 10⁶ UFC/ml à partir d'une culture jeune de 18 heures.

Tromper l'écouvillon dans la suspension bactérienne puis ensemer en surface les boîtes coulées déjà par MH.

6.2. Préparation des puits :

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, réaliser des puits d'environ 6mm de diamètre sur la gélose MH bien refroidie. Remplir les puits avec du miel, Zafrans et les mélanges (miel + gel et miel + Zafrans). Et puis remplir par témoin eau distillé Les boîtes de pétris sont ensuite laissées sur paillasse pendant 30 mn et mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures



Figure 06 : Remplir Les Puits Par Miel Et Zafron Et Mélange

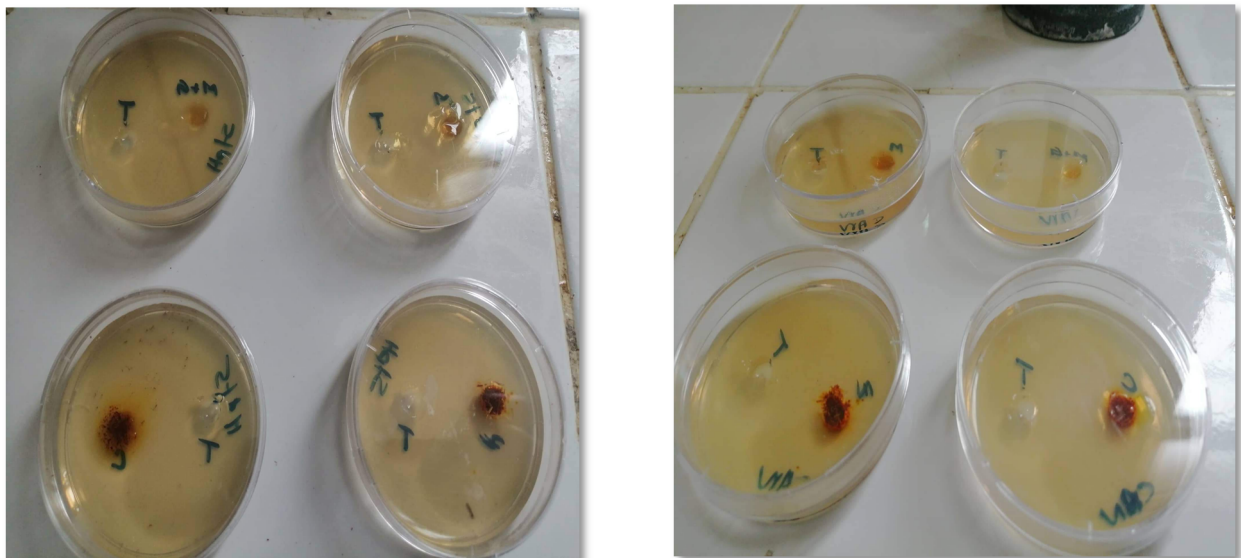


Figure 07 : Les Evaluations De L'activité Antimicrobienne
Des Souches Bactériennes Testés

7. la lecture :

L'activité antibactérienne de produit a été déterminée en mesurant à l'aide d'une règle transparente. (Ahmed 2014).

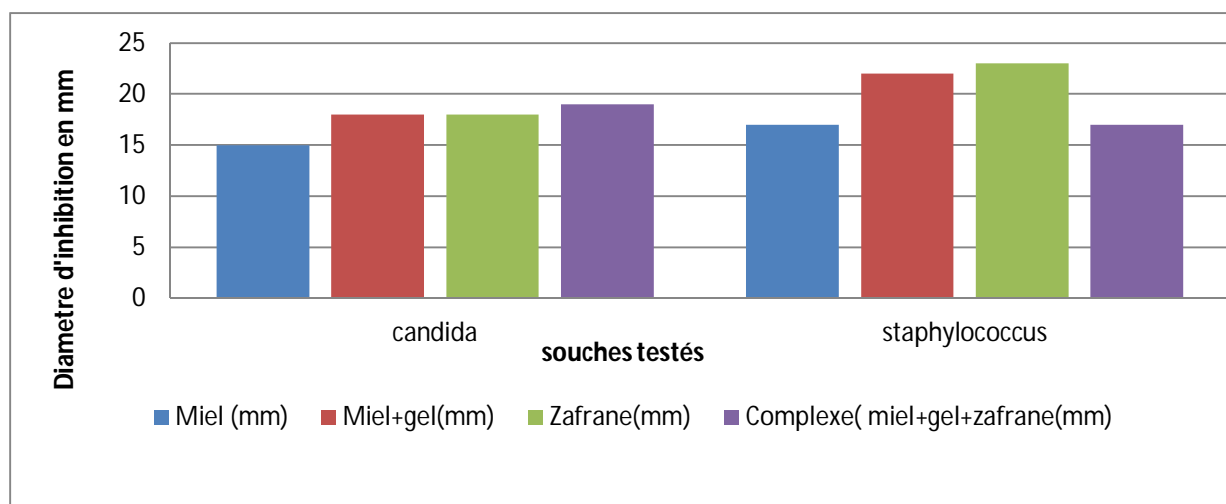


Figure 08 : L'incubation des souches bactériennes évalué

Chapitre – III–

Résultats et discussion

1. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes :



Graph 01 : représente le diamètre des zones d’inhibition des (miel safran mélange) vis-à-vis des souches testées

Tableau 02 : Résultats des concentrations minimales inhibitrices bactériennes

Echantillons	Miel	Zafran	Miel+ gel	Complexe
Albicans	1.5cm	1.8cm	1.8cm	1.9cm
Aureus	1.7cm	2.3cm	2.2cm	1.7cm

1.1. Méthode des puits :

1.1.1. Effet du miel safran et mélange sur *Staphylococcus aureus* :

Les résultats de la mesure des diamètres d’inhibition de l’activité antibactérienne du miel et zafrans sur la souche testée est présentés dans les figures ci-dessus

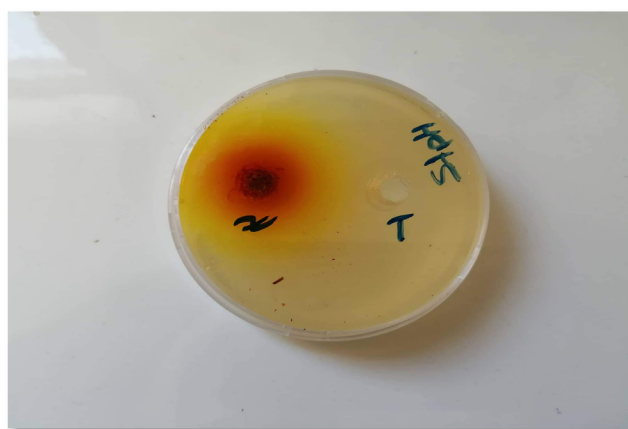


Figure 09 : Diamètre D’Inhibition (23 mm) de Safran Vis-À-Vis S.Aureus

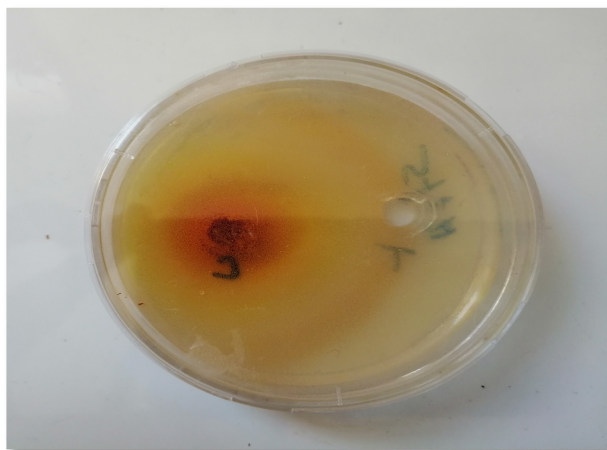


Figure 10 : Diamètre D’Inhibition (17 mm) le complexe (Miel, Safran, Gel) Vis-À-Vis S.Aureus

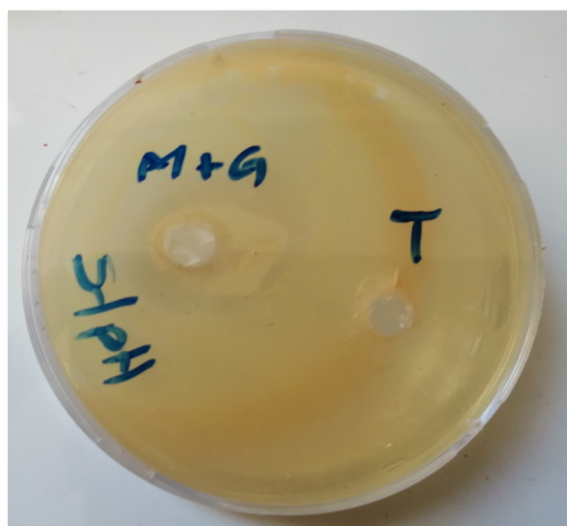


Figure 11 : Diamètre D’Inhibition (22 mm) le mélange (Miel + Gel) Vis-À-Vis S.Aureus

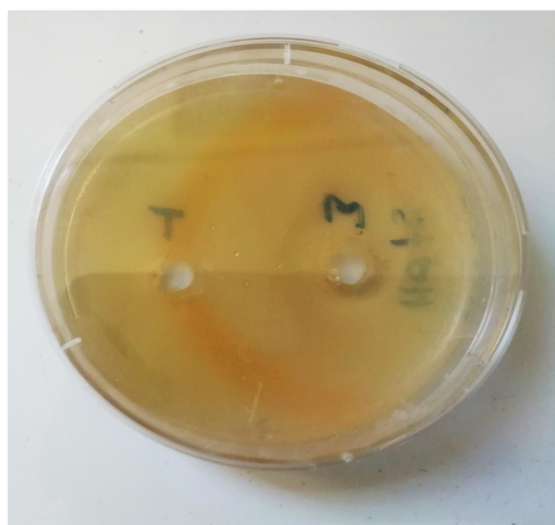


Figure 12 : Diamètre D’Inhibition (17 mm) Miel Vis-À-Vis S.Aureus

La comparaison des moyennes démontre que l'inhibition est variable d'une bactérie à une autre pour l'ensemble de miel et safran analysés. Les résultats de l'activité antibactérienne montrent que les souches sont affectées par miel et safran, Les diamètres d'inhibition de l'activité antibactérienne comprise entre 17mm à 22mm dans les échantillons.

1.1.2. Effet du miel Zafrans et mélange sur candidat :

Les résultats de la mesure des diamètres d'inhibition de l'activité antibactérienne des d du miel et Zafrans mélanges sur les souches testées sont présentés dans les figures ci-dessus

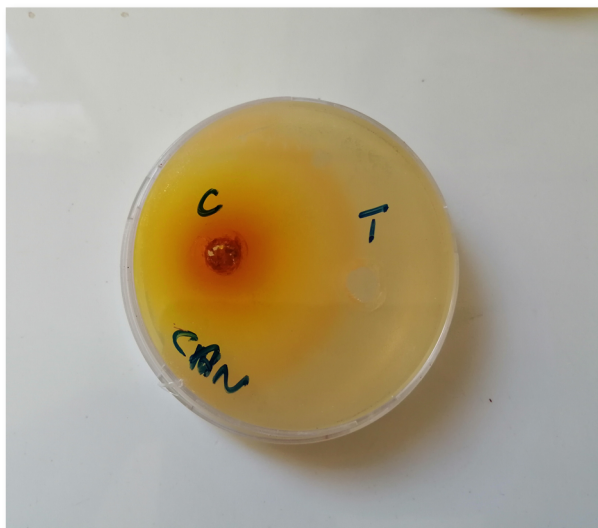


Figure 13 : Diamètre D'Inhibition (19 mm)
le complexe (Miel Gel Safran) Vis-À-Vis candidat



Figure 14 : Diamètre D'Inhibition (15 mm) le Miel Vis-À-Vis candidat

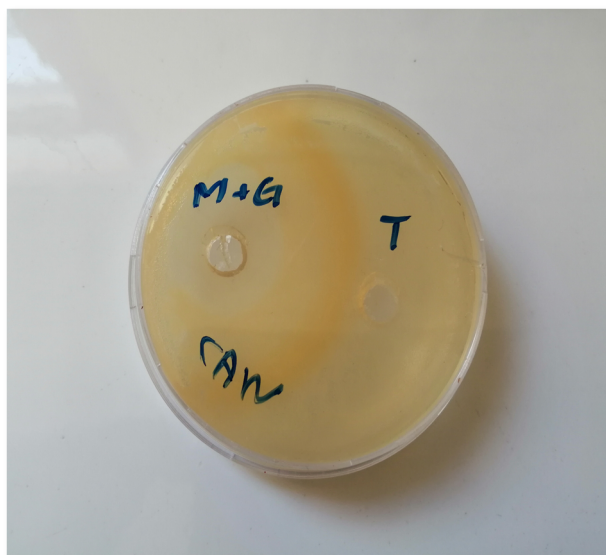


Figure 15 : Diamètre D’Inhibition (18 mm) le mélange (Miel Gel) Vis-À-Vis candidat

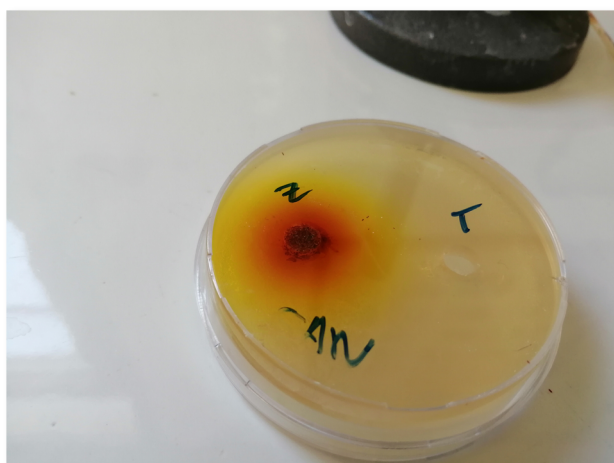


Figure 16 : Diamètre D’Inhibition (18 mm) le Zafran Vis-À-Vis candidat

Discussion :

Le miel possède des propriétés antibactériennes connues dans de nombreuses civilisations depuis des millénaires.

Plusieurs études ont été réalisées *in vitro* pour mettre en évidence les propriétés thérapeutiques et antimicrobiennes des produits naturels. Cependant, l’analyse des différents résultats rapportés sur les inhibitions de croissance microbiennes causées par ces produits à des extraits et concentrations variables révèle à la fois des similitudes et des divergences. Cette étude expose les résultats relatifs à l’action de miel et de safran sur la croissance de deux souches microbiennes (*S.aureus* et *C.albicans*) qui présentent un intérêt médical en médecine vétérinaire et humaine.

L'évaluation de l'effet inhibiteur des produits testés sur les deux souches microbiennes est exprimée par le diamètre de l'auréole d'inhibition. Les résultats obtenus pour les différentes souches testés sont résumés dans le tableau 1

Pour *S. aureus*, les zones d'inhibition obtenues peuvent aller de 17 à 23 mm de diamètre. La valeur maximale a été attribuée au safran testé. Pour *C. albicans*, les zones d'inhibition obtenues peuvent aller de 15 à 19 mm de diamètre. La valeur maximale a été attribuée au miel d'euphorbe testé.

Sur l'ensemble des tests réalisés, les résultats ont montré que sur les 4 formules, seule la formule 3 (F3) a présenté une zone d'inhibition efficace sur *S. aureus*.

Plusieurs causes sont attribuées au pouvoir antimicrobien du miel (osmolarité, faible pH, H₂O₂, méthylglyoxal...), toutefois, l'ensemble des mécanismes antibactériens mis en jeu restent encore à approfondir.

Des études récentes ont montré que le safran aurait des effets thérapeutiques dans plusieurs domaines (effet antioxydant, Effets sur la rétine, Effets sur la résistance à l'insuline et effet satiétogène, Effet hypolipémiant, Effet clinique sur les troubles menstruels, Effets sur le système nerveux, Effets cardiovasculaires, effet sur les cellules anticancéreuses)(**Crozet 2012**).L'effet anti-infectieux par des extraits éthanoliques et méthanoliques de *Crocus sativus* (stigmates) ayant une activité antibactérienne in vitro sur une souche de *Brucella melitensis* résistante aux antibiotiques(**Motamedi et al.2010**).Le safran possède donc de nombreuses activités thérapeutiques. Les chercheurs se basent actuellement sur les vertus attribuées au safran dans l'Antiquité afin de découvrir les molécules actives de cette épice. (**Bergoin 2005**)

Ainsi, les résultats de notre étude ont mis en évidence l'efficacité d'une formule sur les deux germes testés. Toutefois, des études supplémentaires sur cette formule doivent être menées afin de confirmer et compléter ce résultat, et notamment des tests sur un modèle *in vivo*. Il serait également envisageable de poursuivre les tests sur autres bactéries et champignons. Des travaux supplémentaires doivent être envisagés afin de confirmer et compléter ces résultats, principalement sur F3, avant de pouvoir suggérer une quelconque utilisation clinique.

Conclusion générale

Conclusion générale

Les résultats de l'évaluation de potentiel bactérien indiquent selon Murat et al, 2004 que nos miels safran ont une activité antibactérienne élevée.

La sensibilité variable observée des miels et safrans nous a permis de dire que les miels de *Globulariaalypum*, *Ajuga reptans* et *Eruca sativa* sont plus actifs envers la bactérie *staphylococcus aureus* formatrice de biofilm car ils ont dévoilé une meilleure activité bactériostatique à toutes les concentrations testées dont le pourcentage d'inhibition élevée.

Donc, on peut déduire que nos miels et safran sont de bonne qualité thérapeutique.

A travers nos résultats, il est possible d'utiliser le miel et le safran comme des antibactériens naturels pour traiter les maladies provoquées par des germes pathogènes

Vu l'importance thérapeutique prouvée du miel safran en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique il serait intéressant de compléter ce travail par la recherche d'autre variété de miel et safran à activité antibactérienne.

- Faire des applications cliniques de nos échantillons (essais in vivo).
- Tester l'efficacité ces miels et safran contre les souches formatrices de biofilm

Références bibliographiques

- Adams CJ., Boulton CH., Deadman BJ., Farr JM., Grainger MNC. And Manley-Harris M. Agathi G. Pritsa a, Maria Liakopoulou-Kyriakides b, Dimitrios A. Kyriakidis,c,* a** Laboratory NMR analysis adjusted by the addition of the proper amount of a 0.5 M ... is stoichiometric with the amount of lactose and D- galactose, respectively. *Thermus thermophilus* genome ana- *Biotechnol Lett* 2002;24:185–9.
- Ait Oubahou A & Eloutman M.**, 2002. Fiche technique la culture du safran. Bulletin mensuel d'information et de liaison du PNTTA N°91.MADREF /DERD. 4p.
- and anti-inflammatory properties buckwheat. *Journal of Wound Care*, 17(4):172-178.
- Arvy M., Gallouin F.** Epices, aromates et condiments. Belin Ed. 2003, pp.216-219.)
- Blanc M.**, 2010. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges
- Codex.**, 2001. Programme mixte FAO/OMS sur les normes alimentaires. Commission du codex Alimentarius. Alinorm 01/25, 1-31 *de l'abeille*, Tome 3. Édition Masson de Cie, Paris. 324 - 361 p. Baroni M. V., Arrua C., Nores M.L., Fayé P., Del Pilar Diaz M., Chiabrando
- G.L. et Sanz M.L., Gonzalez M., De Lorezo C., Sanz J. and Martinez-Castro I.** (2008). A contribution to the differentiation between nectar honey and honeydew honey. *Food Chemistry*.91:313-317.
- Schivre E. (2006). L'abeille, ses produits de Sécrétion et leurs utilisations thérapeutiques. *Thèse de Doctorat*. Université de Nancy : 1-73.
- Irlande D.** (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques utilisation dans les plaies cutanées. 6p.
- Darrigo L, Jean-Luc.** (1979). Le miel pour votre santé, St-jean-de-Braye (France), Edition Dangles, 140p.
- Emmanuelle.** (1996). Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. Apiservices, Galerie Virtuelle apicole.
- François, L.** (2017). «La texture du miel. Journal aliments naturels et biologiques». En ligne www.essentielle-coop. Consulté le 5 mai 2017.
- Bogdanov, S., Bierri, K., Gallman, P.** (2005). Miels monofloraux suisses, Centre de recherches apicoles. Station de recherches en production animale et laitière. 55p.
- Bouaziz A.** (2007). La Sardinelle (*sardinellaaurita*, Valenciennes, 1847) des côtes algériennes, distribution, biologie et estimation des biomasses. Thèse de Doctorat d'Etat, U.S.T.HB. 135p. broché : 127 pages; Editeur : Artémis Editions (16 avril 2001); Collection : Découverte nature; Langue : Français; ISBN-10 : 2844160670; ISBN-13 : 978- ...
- Bruneau E.,** 2002. Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, rustica. 354-384 p.

Cari. (2011). «Les paramètres physico-chimiques du miel. L'apiculture Wallonne et Bruxelloise». En ligne <www.cari.be/article/les-parametres-physico-chimiques>.

Chahine, N. (2014). Effet protecteur du safran contre la cardiotoxicité de la *Chemistry* 103(2007) 1032-1043.

Clémence, H. (2005). « Le miel: de la source a la thérapeutique ». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri-Poincaré-Nancy. *Food Research International*, 38: 721-728.

Crozet, A. 2012 *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran (II). *Phytothérapie* 10, Issue 3, pp 186–193
Crozet, H. de Sus-Rousset, S.-J. de Durfort. *Crocus sativus* L. (Iridaceae), le safran (I). *Phytothérapie* (2012) 10:121–125 of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food*

Dupont J., 2001. Dimensions culturelles et culturales du safran en France, *Empan*, 41:34 38.

Grilli Caiola and Canini, 2010; Winterhalter and Straubinger, 2000). (Baba et al., 2015; Baghalian et al., 2010; Kabiri et al., 2017; Melnyk et al., 2010). ... Crocins, a series of hydrophilic compounds, are considered to be the main ...

Hoekstra, M. J. and Benkelman, C. J. (2008). An invitro examination of the antioxidant
Hosseini A, Razav BM, Hosseinzadeh H (2017) Pharmacokinetic Properties of Saffron and its Active Components. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet*. DOI 10.1007/s13318-017-0449-3
Hyungjae L., Churey J.J et Worobo R.W, (2008). Antimicrobial activity of bacterial isolates from sources of honey. *International of Food Microbiology*. 126, 240-244.

Kanakis CD., 2004 ; Srivastava et al., 2010). Les pétales de cette plante sont constitués : des anthocyanes, glycosides et flavonoïdes (*Gil. MI&kaber AA., 2002*).

Kwakmanp.H.S., Zaat S. A. Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 2012, 64 (1), pp.48-55

Limoges. En français.

Luis F. Cuevas-Glory, Jorge A. Pino, Louis S. Santiago, E. Sauri-Duch (2007). A review manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydrate Research*, 9: 343-651.

Marjorie BERGOIN (2005). Application du concept de raffinage végétal au safran du quercy (*crocus sativus*) pour la valorisation intégrée des potentiels aromatiques et colorants. <http://ethesis.inp-toulouse.fr/archive/00000251/01/bergoin.pdf>

Ahmed Moussa (2014) Caractérisation, Propriétés Physico-chimiques, Qualités Microbiologiques et Valeur Thérapeutique de Quelques Miels de l'ouest Algérien
Eucast. (2000). Definitive Document E. Def3.1.2000. «Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) of antibacterial agents by agar dilution». European Committee for

antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) of the European society of clinical microbiologie and infection diseases

Mbogning, E. Tchoumboue, J. Damesse, F. Sanou-Sobze, M. Canini, A. (2011). «Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'ouest de l'Adamaoua Cameroun». *Tropicultura*, vol.29, n°3, p. 168-175.

Melnyk et al. ... findings of the Supply Chain Management 2010 and Beyond research initiative, which since its inception in 2005 has ...

Molan, P.C. (1992). «The antibacterial activity of honey. 1. the nature of the antibacterial

Motamedi H, Darabpour E, Gholipour M, et al. (2010) In vitro assay for the anti-brucella activity of medicinal plants against Tetracycline resistant *Brucella melitensis*, *J Zhejiang Univ Sci B* 11(7): 506–11.

Palomares (2015). Le safran, précieuse épice ou précieux médicament. Thèse pour le Diplôme d'État de Docteur en Pharmacie, UNIVERSITÉ DE LORRAINE

Pintado C, de Miguel A, Acevedo O, Nozal L, Novella JL, Rotger R. 2010. Bactericidal effect of saffron (*Crocus sativus* L.) on *Salmonella enterica* during storage. *Food Control* 22: 638–642

Rahmouni, S & Reghis, S (2016). Etude phytochimique et évaluations des activités antioxydantes et antibactériennes des espèces : *Lavandula stoechas*, *Glycyrrhiza glabra* L., *Crocus sativus* L. et *Linum usitatissimum* L. Mémoire de master en Métabolisme secondaire et molécules bioactives. Université des Frères Mentouri Constantine 53

Rossant, A. (2011). «Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie.

Rossant, A. (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Doctorat en Pharmacie. Université de Limoge, Faculté de pharmacie : 73, 77-86. Saffron, *Crocus Sativus* L. is a perennial bulbous herb. The plant ... Baghalian K, Sheshtamand MS, **Jamshidi AH** (2010). *Srivastava R, Ahmed H, Dixit RK, Dharamveer, Saraf* *Nair SC, Kurumboor SK, Hasegawa JH* (1995). 288. *Kanakis CD, Daferera DJ, Tarantilis PA, Polissiou MG.* (2004).

Saxena, R. B. (2010). Botany, Taxonomy and Cytology of *Crocus sativus* series. *AYU* (An international quarterly journal of research in Ayurveda)

Schweitzer, P. (2005). Encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France* N°917. Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 03p.

Shin, H.S & Ustunol, Z. (2005). Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro

Srivastava, Geoffrey Hinton, Alex Krizhevsky, Ilya Sutskever and RuslanmcRBM-DBN-pretrained NN (5 layers) (Dahl et *al.*, 2010). 20.5.

Vahidi H, Kamalinejad M, Sedaghati N. 2002. Antimicrobial properties of Crocus sativus L. Iran J Pharm Res 1: 33–35

Résumé

Ce travail est une évaluation de l'activité antimicrobienne du miel de jujubier seul et en association avec le Safran en vue d'une potentialisation éventuelle, et ce sur deux germes pathogènes posant problème du point de vu de résistance.

Les résultats ont été probants, quoique cette potentialisation n'a pas été remarquable

Abstract

This study was carried out to evaluate the antimicrobial activity of honey alone and in association with safran in order to seek an eventual potentialisation against C.albicans and S.aureus

It was the case although this potentialisation was not remarkable.

ملخص

هذا العمل عبارة عن تقييم للنشاط المضاد للميكروبات لعسل العناب بمفرده وبالاقتران مع الزعفران من أجل تقوية محتملة، وهذا على اثنين من الجراثيم المسببة للأمراض التي تسبب مشكلة من وجهة نظر المقاومة. كانت النتائج مقنعة، رغم أن هذا التقوية لم يكن ملحوظاً.