

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de L'enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université IBN KHALDOUN – TIARET



INSTITUT DES SCIENCES VETERINAIRES

MEMOIRE

En vue l'obtention du diplôme de

MAGISTER

Option : Microbiologie Appliquée

Thème

ETUDE IN VITRO DE L'EFFET ANTIBACTERIEN ET ANTIFONGIQUE DE QUELQUES PRODUITS DE LA RUCHE

Présenté par : Mr FOUJIL Mohammed

Soutenu publiquement le : 06/07/2017

Devant le Jury :

Président : Mr Hammoudi Abdelhamid

Pr Université Ibn Khaldoun – TIARET

Promoteur : Mr Boukraa Laid

Pr Université Ibn Khaldoun – TIARET

Examineurs :

Mr Benallou Bouabdellah

Pr Université Ibn Khaldoun – TIARET

Mr Sassi Mohammed

MCA Université Ibn Khaldoun- TIARET

Membre invité:

Mm Bourabeh Akila

MCA Université Ibn Khaldoun – TIARET

Année universitaire : 2016-2017

Remerciement

« Louange à Allah pour m'avoir donné le courage pour réaliser ce travail »

Je remercie mon promoteur Pr. Boukraa. L., de m'avoir encadré, formé, dirigé et surtout de m'avoir fait confiance. Qu'il trouve ici toute ma gratitude.

Je remercie le Pr HAMOUDI. A., de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret pour m'avoir fait l'honneur de présider le Jury de ce mémoire.

J'exprime toute ma gratitude aux membres de jury :

le Pr BENALLOU. B., Dr SASSI. M.,

Dr BOURABEH. A., merci d'avoir accepté d'examiner mon travail.

J'adresse mes remerciements aussi à :

Mr.SELLES maître assistant de l'institut des sciences vétérinaires de l'université de Tiaret pour son aide et ses conseils, son encouragement aux jeunes chercheurs.

À l'équipe de laboratoire d'amélioration et de valorisation des productions animales locales l'université de Tiaret.

À tous ceux qui m'ont aidé de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

Mes parents

Pour leurs encouragements incessants et leur soutien moral aux moments difficiles. Qu'ils trouvent dans ce travail la preuve modeste d'une reconnaissance infinie et d'un profond amour.

Mes frères et sœurs.

Toute la famille FOUDIL.

À tous mes amis

Enseignants de l'institut des Sciences

Vétérinaires de Tiaret.

La promotion de Post-Graduation en

Microbiologie Appliquée (2014).

FOUDIL Mohammed

Résumé

Cette étude vise à évaluer *in vitro* l'effet antibactérien et antifongique de trois variétés de miel, un échantillon de gelée royale et un échantillon de propolis récoltés de différentes régions algériennes à l'égard de trois souches bactériennes (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*), et deux souches fongiques (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*).

Le pH, la teneur en eau, et la teneur en polyphénols et en flavonoïdes des trois miels ont été mesurés. La méthode d'incorporation sur milieu gélosé a été utilisée pour évaluer l'effet antibactérien et antifongique de divers substrats.

Tous les miels étudiés ont été acides, leurs teneurs en eau varient entre 17.2 à 18.6%. La teneur en polyphénols a été de 50.25 à 62.13mg EAG/ 100g de miel, alors que la teneur en flavonoïdes a été de 18.21 à 27.66 mg EQ/100g du miel.

L'étude de l'activité inhibitrice « *in vitro* », a montré des CMI de l'ordre 6% à 55% pour les trois miels étudiés et de 1.5 - 14% pour la gelée royale vis-à-vis des souches testées. Cependant, la propolis a été très active contre *Staphylococcus aureus* avec une CMI 0.7mg/ml, et moins efficace contre *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* ; avec des CMI 20 et 22 mg/ml respectivement. *Candida albicans* est sensible à la propolis à 4 mg/ml. Alors aucun effet n'a été observé contre *Aspergillus niger*.

Mots Clés : Miel, gelée royale, propolis, effet antibactérien, effet antifongique, CMI.

Abstract:

The aim of this study is to evaluate *in vitro* the antibacterial and antifungal effect of three varieties of honey, one royal jelly (RJ), and one sample of propolis obtained from different regions of Algeria against three strains of pathogenic bacteria (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) and two strains of fungi (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*).

The pH and water content were measured, the phenolic and the flavonoid contents of honeys were determined. The investigation of antibacterial and antifungal effect was performed by agar incorporation method.

All honeys were found to be acidic, water content ranges between 17.2-18.6%. The total phenolic content ranged between 50.25 to 62.13 mg GAE/ 100g of honey, and the flavonoids content was 18.21- 27.66 mg QE/100g of honey.

MICs of Algerian honey ranged from 6% to 55%, while royal jelly MICs ranging between 1.5 - 14% against tested strains. Propolis was more active against *S.aureus* with MIC 0.7mg/ml, and had lower activity against *E.coli* and *P.aeruginosa* with MICs 20mg/ml and 22mg/ml respectively, while *Aspergillus niger* was insensible.

Key words: honey, royal jelly, propolis, antibacterial effect, antifungal effect, MIC.

ملخص

تهدف هذه الدراسة الى دراسة و تقييم التأثير المضاد للبكتيريا و الفطريات لثلاث انواع من العسل ، عينة من الغذاء الملكي و عينة من العكبر، تم الحصول عليها من مناطق مختلفة من الجزائر و ذلك على ثلاث سلالات من البكتيريا (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*) و سلالتين من الفطريات الضارة (*Candida albicans*, *Aspergillus niger*)

تم قياس pH , محتوى الماء , وتقدير كمية المركبات الفينولية و الفلافونويدات للعسل. تم إجراء الدراسة بطريقة الدمج في الاغار لتقييم التأثير المضاد للبكتيريا و الفطريات. كل عينات العسل كانت ذات pH حامضي، حامضي و محتوى الماء قدر ب 17.2-18.6%، اما كمية المركبات الفينولية قدرت ب 50.25-62.13 مغ/ مكافئ حمض الغاليك/100غ من العسل، كمية الفلافونويدات كانت بين 18.21-27.66 مغ/ مكافئ الكرسيتين/100 غ من العسل. دراسة التأثير المضاد للمكروبات للعينات الثلاثة من العسل أظهرت قيم التراكيز الدنيا المثبطة MICs بين 6-55%، و تراوحت قيم MICs للغذاء الملكي بين 1.5-14 % . العكبر كان أكثر فعالية ضد *Staphylococcus aureus* ب MIC قدر ب 0.7 مغ/مل، أما البكتيريا السالبة الغرام كانت قيم MIC 20 و 22 مغ/مل . أما *C.albicans* فقد قدر ب 4 مغ/مل، أما بالنسبة لـ *Aspergillus niger* لم يتأثر بالعكبر. **الكلمات المفتاحية :** عسل، غذاء الملكات، عكبر، التركيز الأدنى المثبط، التأثير المضاد للبكتيريا و الفطريات .

Liste des figures

Figure 1 : Composition générale moyenne du miel	4
Figure 2 : propolis brute	10
Figure 3 : Grille de récupération de propolis en plastique	12
Figure 4 : composition générale moyenne de la propolis	13
Figure 5 : Cellule remplies de gelee royale	20
Figure 6 : composition moyenne de la gelée royale	21
Figure 7 : échantillons de miel	29
Figure 8 : échantillon de propolis	30
Figure 9 : Echantillon de gelée royale	30
Figure 10 : lieux d'échantillonnage	31
Figure 11 : Mesure de la Teneur en eau	34
Figure 12 : protocole de dosage des polyphénols	36
Figure 13 : protocole de dosage des Flavonoïdes.....	36
Figure 14 : Courbe étalon du dosage des polyphénols	37
Figure 15 : Courbe étalon du dosage des flavonoïdes	37
Figure 16 : Représentation schématique des étapes d'ensemencement	41
Figure 17 : Corrélation de la Teneur en polyphénols et flavonoïdes	45
Figure 18 : variation de l'effet antimicrobien des trois échantillons de miel.....	48
Figure 19 : variation de la CMI de propolis	49
Figure 20 : variation de la CMI de la gelée royale	50

Liste des Tableaux

Tableau 1 : Acides aromatiques de la propolis	14
Tableau 2 : Esters d'acides aromatiques de la propolis	14
Tableau 3 : caractéristiques des miels utilisés.....	29
Tableau 4 : teneur en eau des trois échantillons de miel	42
Tableau 5 : teneur en polyphenols totaux en mg GAE/ 100g de miel.....	43
Tableau 6 : teneur en Flavonoïdes en mg QE/100g du miel	44
Tableau 7 : Résultats d'antibiogramme d' <i>E.coli</i>	46
Tableau 8 : CMI de miel	47
Tableau 9 : CMI de propolis en mg/ml	48
Tableau 10 : CMI de la gelée royale	49
Tableau 11 : CMI en mg/ml de propolis de différentes régions du monde	54

Liste des abréviations

Ac : acide.

ADN : acide désoxyribonucléique

ARN : acide ribonucléique

ATCC : American Type Collection culture.

A. niger : *Aspergillus niger*

C.albicans : *Candida albicans*.

CAPE : phénélethyl caféate

CMI: concentration minimale inhibitrice

E.coli : *Escherichia coli*

EAG: équivalent d'acide gallique.

EIEC : entéro-invasive Escherichia Coli.

EHEC: entéro-hémorragique Escherichia Coli.

EPEC : Entéro-pathogène Escherichia Coli

ETEC : entéro-toxinogène Escherischia Coli

EQ : équivalent de quercétine

G.R : Gelée Royale.

HMF: L'hydroxyméthylfurfural

LPS : Lipopolysaccharides.

MRJP : Major Royal Jelly Proteins

MRSA : methicillin- résistant staphylococcus aureus.

NaCl : chlorure de sodium

NO : nitrique oxide.

PG : prostaglandine **Error! Bookmark not defined.**

pH : potentiel d hydrogène

P/V : poids/volume.

P.aeruginosa : *Pseudomonas aeruginosa*

S.aureus : *Staphylococcus aureus*

UV : ultra violet

V/V : volume/volume

10H2DA: l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque .

.

Sommaire

Remerciements	
Dédicaces	
Résumé	
Liste des Figures	
Liste des Tableaux	
Liste des abréviations	
Introduction	

Partie bibliographique

Chapitre I : Le Miel

1. Historique.....	1
2. Définition.....	1
3. Origine et production.....	1
3. a. Origine	1
3. b. Production	2
4. Récolte et conservation.....	3
4. a. Récolte.....	3
4. b. Conservation.....	3
5. Les principales variétés du miel.....	4
5. a. Le miel monofloral.....	4
5. b. Les miels multif floraux.....	4
6. Composition	4
7. Propriétés biologiques et thérapeutiques	7
7.1. Effet énergétique et nutritionnelle	7
7.2. Effet antioxydant.....	7
7.3. Effet sur le système immunitaire	7
7.4. Effet anti-inflammatoire.....	7
7.5. Effet antibactérien.....	7
7.6. Effet antifongique.....	8
7.7. Effet cicatrisant	9
7.8. Effet antiviral.....	9

Chapitre II : La Propolis

1. Historique.....	10
--------------------	----

2. Définition.....	10
3. Production par l'abeille.....	11
4. Utilisation par l'abeille.....	11
5. Récolte et conservation	11
5. a. Récolte	11
5. b. Conservation	12
6. Traitements possibles	12
7. Composition	12
8. Propriétés biologiques et thérapeutiques.....	15
8.1. Effet antibactérien	15
8.2. Effet antiviral	15
8.3. Effet antifongique	16
8.4. Effet anti-inflammatoire	16
8.5. Effet anticancéreux	16
8.6. Effet antioxydant	17
8.7. Effet immunomodulateur	17
8.8. Effet antiallergique	17
8.9. Effet antiparasitaire	17
8.10. Effet cicatrisant	18
8.11. Effet analgésique-anesthésiant	18
8.12. Effet Détoxifiant et hépatoprotecteur	18
9. Variétés de propolis	18

Chapitre III : La Gelée Royale

1. Historique.....	19
2. Définition.....	19
3. Récolte et conservation.....	19
3. a. Récolte	19
3. b. Conservation	21
4. Composition.....	21
5. Propriétés biologiques et thérapeutiques	23
5.1.Effet métabolique	23
5.2.Effet immunostimulant	23
5.3. Effet antibactérien	23
5.4. Effet antiviral et antifongique	23

5.5. Effet cicatrisant	23
5.6. Effet antioxydant	23
5.7. Effet anticancéreux	24
5.8. Autres.....	24

Chapitre IV : Généralités sur les souches testées

A- Souches bactériennes.....	25
I. <i>Staphylococcus aureus</i>	25
I.1- Classification et morphologie.....	25
I.2- Habitat	25
I.3- Culture et identification.....	25
I.4- Facteurs de virulence.....	25
I.5- Pouvoir pathogène.....	25
I.6- Résistances aux antibiotiques.....	25
II. <i>Escherichia coli</i>	25
II.1- Classification et morphologie.....	25
II.2- Habitat.....	25
II.3- Culture et identification.....	25
II.4- Facteurs de virulence.....	25
II.5- Pouvoir pathogène.....	26
II.6- Résistances aux antibiotiques.....	26
III. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	26
III.1- Définition.....	26
III.2- Facteurs de virulence.....	26
III.3- Pouvoir pathogène.....	26
III.4- Résistances aux antibiotiques.....	26
B- Souches fongiques.....	26
I. <i>Aspergillus niger</i>	26
I.1- Définition et généralités.....	26
I.2- Pouvoir pathogène	27
II. <i>Candida albicans</i>	27
II.1- Définition et généralités.....	27
II.2- Répartition et réservoir.....	27
II.3- Pouvoir pathogène	27
II.4- Sensibilité et résistance aux médicaments.....	28

Partie expérimentale

Matériels et Méthodes

1. Matériels.....	29
1.2. Echantillonnage.....	29
1.3. Matériel biologique	31
1.4. Matériel et consommables de laboratoire.....	31
2. Méthodes.....	33
2.1. Confirmation des souches bactériennes et fongiques	33
2.2. Mesure de quelques paramètres physico-chimique du miel	34
2.2.1. Mesure du pH	34
2.2.2. Teneur en eau	34
2.2.3 Dosage des polyphénols totaux.....	35
2.2.4 Dosage des flavonoïdes.....	36
2.3. Tests de sensibilité antimicrobienne	38
2.3.1. Réactivation des souches.....	38
2.3.2. Préparation de l'inoculum bactérien.....	38
2.3.3. Antibiogramme.....	38
2.3.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	39
a. Détermination de la CMI du miel	39
b. Détermination de la CMI de la propolis.....	39
c. Détermination de la CMI de la gelée royale	39
2.3.5. Inoculum fongique.....	40
2.3.6. Ensemencement.....	40

Résultats et Discussion

1. confirmation des souches	42
2. Mesure du pH	42
3. Teneur en eau.....	42
4. Teneur des polyphénols totaux du miel	43
5. Teneur des Flavonoïdes du miel	44
6. Résultats de l'antibiogramme	46
7. concentrations minimales inhibitrices (CMI) du Miel	47
8. concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la propolis.....	48

9. concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la Gelée Royale.....	49
10. Discussion.....	50
Conclusion.....	56
Références Bibliographiques	
Annexes	

Introduction

Introduction

Dans un monde séduit de l'industrialisation et des produits de synthèse le retour à la nature s'avère très nécessaire tant sur le plan de la médication que sur le plan de l'alimentation ; parmi nos meilleurs choix dans les pays de tiers monde est la valorisation des produits de la ruche. Dans ce cadre *Apis mellifera* ou l'abeille domestique est l'acteur principal, insecte appartenant à l'ordre des hyménoptères et de la famille des *Apidae* ; formidablement organisées en société, elles représentent un sujet d'études intéressant tout en apportant plaisir, santé, bonheur, revenus à tout un monde. Ainsi, les produits issus du travail de ce petit insecte sont utilisés depuis des millénaires et leurs emplois sont retrouvés dans de très nombreuses civilisations et croyances.

En effet, profitant de l'essor plus en plus important des médecines naturelles ou dites douces, les produits de la ruche s'inscrivent dans cette tendance, le plus souvent en complément des traitements conventionnels. Ces produits trouvent ainsi des applications dans des domaines thérapeutiques très variés afin de contenter les exigences d'un public désireux de retrouver des moyens simples, naturels et sains de se soigner, avec possibilité de les utiliser même en médecine vétérinaire et contrairement à certaines molécules synthétiques comme les antibiotiques par exemple qui posent le problème de l'antibio-résistance.

De plus en plus pratiquée dans le monde, l'apithérapie ou l'usage médical des produits de la ruche fait l'objet de plusieurs études scientifiques mais qui restent toutefois insuffisantes (Boukraa *et al.*, 2008, Caillas, 1977), C'est à partir de la deuxième moitié du XX^e siècle que l'on trouve des écrits scientifiques plus précis sur cette utilisation et qu'apparaît sous le terme d'« apithérapie ».

Sachant les nombreuses propriétés thérapeutiques de ces produits, l'effet antibactérien et antifongique sont parmi les effets les plus importants et les plus étudiés, et dans ce cadre nous avons étudié trois produits de ruche : miel, propolis et gelée royale, produits phares de la ruche, avec un potentiel antimicrobien intéressant, notre travail s'articule autour de l'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique des produits de la ruche récoltés dans quelques régions de notre pays, étant donné l'émergence des souches multi-antibio-résistantes ces dernières années et la rareté des découvertes d'antimicrobiens d'ailleurs très coûteuses, L'exploitation de ces produits est une piste prometteuse pour remédier au phénomène de l'antibio-résistance surtout dans le traitement et la prévention d'infection des plaies et brûlures divers (Assie, 2004).

Partie bibliographique

Chapitre I

Le Miel

1. Historique :

Le miel servait déjà en -4500 à sucrer les aliments. Durant l'Antiquité (-3500 ans av JC +476ans après JC) il était synonyme de vie éternelle et possédait une grande valeur religieuse. D'ailleurs, il persiste dans les rituels de naissance et de mort en Afrique. Il est symbole de pureté pour les Indo-Iraniens, de douceur dans le judaïsme, associé à la prophétie pour les Grecs, à un médicament dans l'islam. Il était également utilisé pour sa richesse en sucre : aux Jeux Olympiques antiques, les sportifs buvaient un mélange à base de miel pour reprendre des forces rapidement, d'autres le recommandaient pour embellir la peau et soigner les blessures. En -400 ans avant JC, Hippocrate recommandait le miel dans le traitement des plaies, de la fièvre, des ulcères et dans la préparation de pâtes médicinales (Jean-Christophe D et Claude V, 2003).

D'autres médecins de l'époque le recommandaient en vue d'une amélioration de la vue, de l'activité sexuelle ou encore dans le traitement de la toux, des plaies ou des angines. Il était d'ailleurs utilisé pendant les deux guerres mondiales pour accélérer la cicatrisation des blessures des soldats. En 1962, White identifie l'inhibine qui est un composé bactéricide contenu dans le miel (Cuvillier, 2015).

2. Définition :

Le miel est une substance alimentaire naturelle. La directive européenne 2001/110/CE et le Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 le définissent comme suit :

« Le miel est la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celles-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères »

Selon la législation, et par définition, il est interdit d'accoler au mot « miel » l'adjectif « pur », puisque son origine est à 100 % naturelle (Nicolay J, 2015).

3. Origine et Production :

3. a. Origine :

Il existe deux types de miel selon son origine :

1. miel de nectar : produit à partir de nectar des plantes. Le nectar est un liquide plus ou moins sucré destiné à attirer les insectes pollinisateurs dont l'abeille mellifère. Il constitue

la matière première de la majorité des miels. Le nectar a une composition qui dépend bien entendu de l'espèce florale mais aussi des conditions hygrométriques de l'air et du sol et des conditions climatiques en général. L'eau représente de 40 à 80% de sa composition et sa composition en sucre varie entre 7 et 60 % la nature des sucres diffère selon l'origine botanique (Domergo *et al.*, 2009 ; Jean-Prost, 2005).

2. miel de miellat : produit à partir de miellat. Le miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des insectes parasites (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Ces insectes piqueurs perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève, et rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés : le miellat. Lorsque le nectar abonde, les butineuses le préfèrent au miellat (Clément, 2002).

3. b .Production:

Une fois la source de nectar ou de miellat choisie, les butineuses la diluent avec de la salive. Ceci facilite l'aspiration du liquide, devenu moins visqueux, par les muscles pharyngiens (Marchenay et Berard, 2007 ; Maurizio, 1968).

Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demande environ 15 minutes. Le rayon d'action moyen se situe entre 500 mètres et 2 kilomètres, de la végétation des alentours du rucher. La butineuse prélève sur les fleurs le nectar liquide sucré et sécrété puis excrété par des glandes dites nectarifères présentes sur de nombreuses plantes (Cuvillier, 2015).

Le jabot des abeilles peut se remplir d'un butin pouvant atteindre 40 à 70 mg, soit presque leur propre poids. A son retour, la butineuse régurgite sa charge et la passe aux ouvrières qui, elles-mêmes, la communiquent à d'autres et ainsi de suite (La trophallaxie). Les ouvrières s'échangent le contenu de leur jabot de nombreuses fois. La trophallaxie répétée assure d'une part la déshydratation du nectar ou du miellat et d'autre part son enrichissement en enzymes (invertase, diastase, et glucose-oxydase) *via* la salive.

Une fois que la teneur en eau du liquide avoisine les 40-50%, l'abeille le dépose dans une alvéole où se terminera sa transformation en miel. La maturation peut durer de 2 à 5 jours. L'évaporation est rendue possible par la haute température qui règne dans la ruche (environ 35°C) et Les ouvrières qui favorisent la déshydratation du futur miel par des mouvements rapides de leurs ailes. Une fois le miel a atteint une teneur en eau de 17-18%, les ouvrières ferment l'alvéole avec un opercule de cire (Huchet *et al.*, 1996; Bruneau 2009 ; Jean-Prost 2005; Marchenay et Bérard, 2007).

4. Récolte Et Conservation :

4. a. Récolte :

Avant l'élevage des abeilles, on récoltait le miel dans les troncs d'arbres ou en broyant les ruches. L'apiculture a permis de fournir une ruche aux abeilles. Le miel est plus ou moins liquide lors de l'extraction, saturé en sucre qui cristallise plus ou moins rapidement en fonction de sa teneur en sucre principal : plus il est riche en fructose, plus il restera liquide longtemps, comme le miel d'acacia, Plus il est riche en glucose, plus il cristallisera vite, comme le miel de colza (Cuvillier, 2015).

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

4. b. Conservation :

Pour une bonne conservation du miel, pendant de nombreux mois, il faut faire attention à 3 facteurs : l'humidité, la chaleur et la lumière. Si celui-ci est soumis à une température trop importante, il s'en suivra une dégradation des sucres, une perte d'arôme et une augmentation de l'acidité (Blanc, 2010).

Le miel doit être conservé à 15°C, à l'abri de la lumière, de l'air et de l'humidité et doit être préférentiellement consommé dans l'année qui suit sa récolte (Clément, 2006).

Au cours du vieillissement et à la température ordinaire, on note des transformations très sensibles sur une période de un à deux ans :

- la coloration s'intensifie.
- l'acidité libre augmente.
- la teneur en enzyme diminue (Assie, 2004).

L'hydroxyméthylfurfural (HMF) est un indicateur d'âge c'est un produit de dégradation des monosaccharides et plus particulièrement du fructose, ce produit n'est pas présent lors de la récolte du miel par les abeilles. Il se forme très lentement au fil des jours et évolue exponentiellement dans le temps. La production de HMF est liée à l'acidité du

milieu et est favorisée par une forte teneur en fructose. Un chauffage excessif simule l'action du vieillissement, il accélère également la production de HMF (Bruneau, 2009).

5. Les principales variétés du miel :

5. a. Les miels monofloraux :

Cette variété du miel se réfère au site principal de butinage des abeilles, et prend le nom de la plante sur laquelle elles se sont concentrées : issu en grande partie (plus de 45%) d'une seule variété de fleur. Les types de miel monofloraux courants proviennent du trèfle, de l'acacia, du tilleul et du tournesol. Le miel monofloral est plus cher que le miel multifloral (Bradbear, 2010).ex : miel de lavande, miel de romarin, miel d acacia, miel de cidre, miel de sapin.

5. b. Les miels multifloraux :

Les miels multifloraux proviennent de plusieurs sources botaniques. On peut trouver des miels de fleurs mélangées, les miels de châtaignier et tilleul, les miels de fleurs de montagne, etc. Les abeilles recueillent le nectar des fleurs distantes jusqu'à 2 km de la ruche. Quand deux floraisons arrivent en même temps, les abeilles préfèrent le nectar qui possède la plus grande concentration de sucre. (Romano, 2009).

6. Composition:

A l'heure actuelle, tous les constituants n'ont pas encore été identifiés. On y retrouve en majorité des sucres simples (ou oses) et de l'eau (Figure 1).

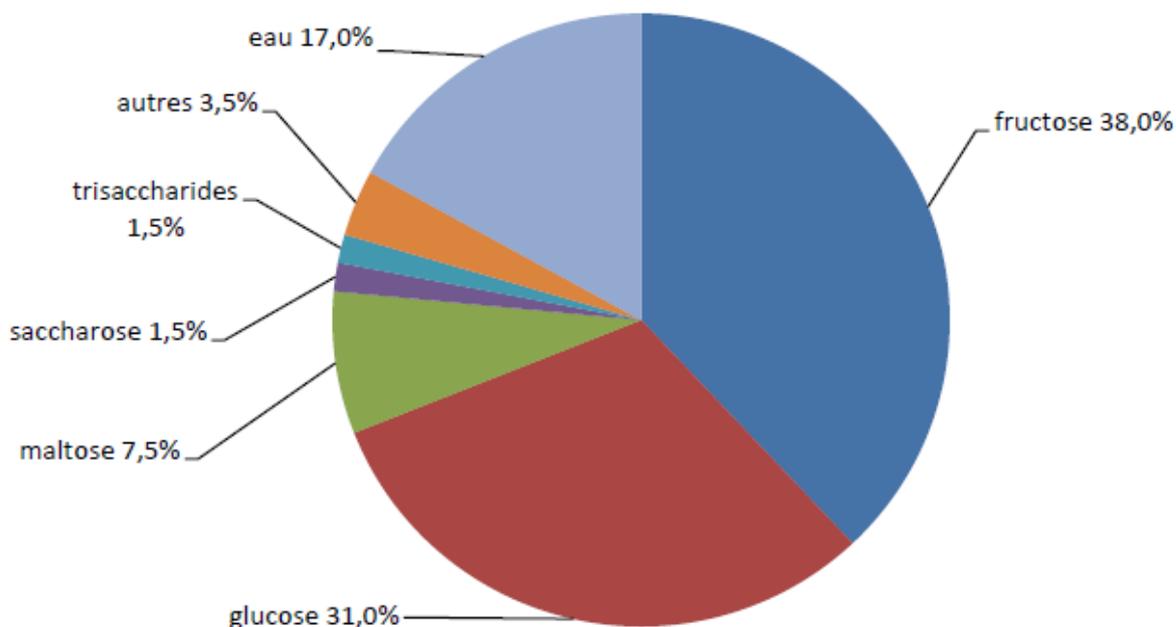


Figure 1: Composition générale moyenne du miel

D'après Bruneau 2009

Eau:

La teneur en eau dans le miel s'élève le plus souvent à moins de 20 %. Il dépend de la miellée, du climat, du type de ruche et d'autres facteurs. La teneur en eau détermine de façon prépondérante la conservation du miel. Seuls les miels avec une teneur en eau inférieure à 17% sont stables lors de la conservation et ne fermentent pas (Bogdanov *et al.*, 2006).

Les glucides :

Des glucides ou sucres, présents en grande quantité : 78 à 80%. La majorité sont des sucres simples (environ 90% des sucres totaux) avec une prédominance pour le fructose, davantage que le glucose. Une petite quantité de disaccharides (saccharose, maltose, isomaltose), Trisaccharides et oligosaccharides sont également présents et caractéristiques de leur origine Botanique (Delphine, 2010).

Protides :

Les protides, représentés par les acides aminés et les protéines ne sont présents qu'en très petite quantité (environ 0,3%). Ce sont le nectar des plantes, les sécrétions de l'abeille et la présence de grains de pollen qui apportent peptones, albumines, globulines et nucléoprotéines (Domerego *et al.*, 2009). Plus de 19 acides aminés sont présents.

La proline et l'hydroxyproline, sécrétée par les glandes salivaires de l'abeille, est présente dans tous les miels. De même, on retrouve quasiment systématiquement l'alanine, l'acide glutamique, la glycine et la leucine. Au contraire, le tryptophane n'est presque jamais présent ou seulement en infime proportion (Oryan et Zaker, 1998). Le miel contient également une protéine d'intérêt médical, la bee-defensin 1 (Kwakman *et al.*, 2010).

Lipides :

Mis à part le miel de tournesol, les miels ne contiennent que très peu de lipides On les retrouve sous forme de cholestérol libre et sous forme d'esters de cholestérol. Les autres lipides présents sont les triglycérides et les acides gras libres (Gharbi, 2011).

Les lipides proviennent également des microparticules de cire qui composent le miel (Domerego *et al.*, 2009).

Minéraux :

Il s'agit surtout du potassium, du sodium, du manganèse, du cuivre et du calcium. La teneur en minéraux des miels est fortement corrélée à l'origine géobotanique du Nectar et la nature des minéraux dépendent du type de Sol (Stocker *et al.*, 2005; Domerego *et al.*, 2009). Plus un miel est foncé, plus il est riche en minéraux (Huchet *et al.*, 1996).

Enzymes :

Les enzymes proviennent soit de la salive de l'abeille, soit du nectar (Domerego *et al.*, 2009). On retrouve en très grande proportion :

1. Apportées par la salive :

- Invertase : catalyse l'hydrolyse du saccharose en fructose et glucose.
- Amylase : catalyse l'hydrolyse de l'amidon en molécules de glucose.
- Glucose-oxydase : catalyse l'oxydation du glucose en acide gluconique, avec production du peroxyde d'hydrogène.

2. Apportées par le nectar :

- Catalase : catalyse la dégradation du peroxyde d'hydrogène.
- Phosphatases acides.

Ces enzymes sont dénaturées par chauffage (Gharbi, 2011).

Les vitamines :

Les vitamines sont majoritairement apportées via les grains de pollen. (Domerego *et al.*, 2009). Le miel contient peu de vitamines. On y trouve essentiellement des vitamines du Groupe B: vitamines B1, B2 B3 (appelée aussi PP), B4 et B5. Parfois on y trouve aussi de la vitamine C, ainsi que les vitamines A, Ket D. (Clemence, 2005).

Pigments :

On trouve :

Des Caroténoïdes et Flavonoïdes (0,006%) (El-Hady et Hegazi, 2001b).

Acides :

En général le pH se situe entre 3,5 et 5,5 ; cela est due à la présence des acides organiques (Bogdanov *et al.*, 2004). Les miels contiennent des acides organiques (dont certains sont volatils), ainsi que des lactones. Leur provenance est diverse : certains sont issus du nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions enzymatiques et de fermentations.

L'acide gluconique (constituant acide majoritaire, issu du glucose), les acides butyriques, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide proglutamique, l'acide malique et l'acide citrique. L'acidité totale est la somme des acides libres et des lactones (Lequet, 2010).

Les arômes

Plus de 50 substances aromatiques ont été décelées. Elles sont également en correspondance avec les plantes butinées. On y retrouve principalement des alcools, cétones, acides, aldéhydes et quinones (Gharbi, 2011).

Autres : Hydroxyméthylfurfural, Polyphénols divers, Grains de pollen, facteurs antimicrobiens appelés « inhibines » : Peroxyde d'hydrogène, Méthylglyoxal (Adams *et al.*, 2009).

7. Propriétés biologiques et thérapeutiques du miel :

7.1. Effet énergétique et nutritionnelle :

Le miel étant composé de sucres simples, il est facilement assimilé par l'organisme, il est souvent utilisé par les sportifs pour sa valeur énergétique : 310kCal / 100g. Il est cependant moins calorique que le sucre (environ 405kCal / 100g), ce qui en fait un aliment apprécié des diététiciens (Gout, 2009). Il a été prouvé que le miel favorise aussi l'assimilation du calcium et la rétention de magnésium (Chauvin, 1968).

7.2. Effet antioxydant :

Les enzymes, les acides organiques, les peptides mais surtout les composés Phénoliques, les pigments flavonoïdes et caroténoïdes jouent le rôle d'antioxydants (Gharbi, 2011; Al-Mamary *et al.*, 2002).

7.3. Effet sur le système immunitaire :

Augmentation de + 50 % de monocytes. En plus La prise orale de miel stimule la production d'anticorps durant les deux premières phases de la réponse immunitaire contre les antigènes thymus-dépendants et thymus-indépendants (Al-Waili et Haq, 2004).

7.4. Effet anti-inflammatoire :

Les flavonoïdes présents semblent provoquer la disparition des douleurs et gonflements. En neutralisant les radicaux libres qui stimulent la production de cytokines, le miel joue un rôle anti-inflammatoire (Tomczak, 2010; Van Den Berg *et al.*, 2008) .

7.5. Effet antibactérien :

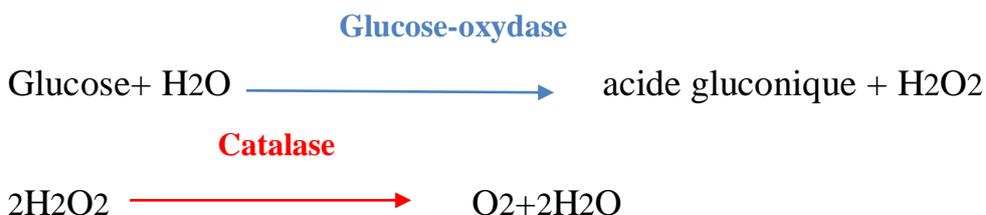
Le miel inhibe la croissance d'un grand nombre de bactéries, y compris un grand nombre de bactéries pathogènes. (Bogdanov, 1997), L'activité est plus importante quand le miel est administré de façon topique, directement sur les zones contaminées. Le miel est bactériostatique et bactéricide.

L'activité antibactérienne est due à plusieurs facteurs :

- **L'effet osmotique :** Le miel est une solution sursaturée de sucres, il est hypertonique. L'hypertonie provoque la lyse des bactéries par déshydratation et inhibe la croissance des bactéries avant d'induire leur mort.
- **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 hypopharyngiennes 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) :



L'eau est indispensable au processus d'oxydation, c'est ainsi que le peroxyde d'hydrogène se forme uniquement dans le miel non-mur ou dilué, dans le miel mur, le processus est bloqué, avec possibilité de réactivation par dilution (Bogdanov et Blumer, 2001). Le glucose-oxydase est thermolabile et sensible à la lumière.

- **Les facteurs « non peroxydes »** : Les facteurs « non peroxydes » sont nombreux et ne sont pas tous identifiés. On retrouve le méthylglyoxal, la bee-defensin, composés polyphénoliques, des flavonoïdes.

Il existe une variabilité de l'activité antimicrobienne, corrélée avec l'origine botanique du miel (teneur en glucose oxydase, composés phénoliques, flavonoïdes, composés « non peroxydes »). La concentration en miel et le traitement préalable (pasteurisation, lumière et chaleur) jouent également un rôle important. Le spectre antibactérien de nombreux miels est large, sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif et sur celles sensibles ou résistantes à des antibiotiques (Kwakman *et al.*, 2011 ; Kwakman *et al.*, 2010; Tomczak, 2010; Boukraâ et Sulaiman, 2009; Al-Waili 2005). Dans ce sens le miel de Manuka est le plus connues par ces propriétés antibactériennes non peroxyde dépendantes.

7.6. Effet antifongique :

Le miel en concentration allant de 5 à 80% a des effets inhibiteurs contre *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon* spp, *Aspergillus niger* et *Trichophyton mentagrophytes* (Koç *et al.*, 2011; Al-waili, 2005, Gharbi, 2011). De même il a un effet antimycotoxinique (El-Arab *et al.*, 2006).

7.7. Effet cicatrisant :

Le miel accélère la cicatrisation et la guérison des plaies et brûlures grâce à ces propriétés nettoyantes et désinfectantes et nutritives, il est immunomodulateur, il stimule notamment la multiplication et la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation (Descottes, 2009). Le miel induit également la synthèse de collagène et active le *transforming growth factor-B1* tissulaire. Grâce à ses propriétés hygroscopiques, et à l' H_2O_2 et à son pH acide, il tue les bactéries et favorise la détersion des plaies. (Cuvillier, 2015).

7.8. Effet antiviral :

Zeina *et al.*, (1996) ont montré une action du miel sur le virus de la rubéole *In-vitro*. De même, *in-vivo*, le miel utilisé dans l'étude de Al-waili, (2004) a révélé une activité antivirale supérieure à celle de l'acyclovir® sur des lésions dues au virus de l'herpès simplex labial et génital (types 1 et 2) chez l'homme.

Chapitre II

La Propolis

1. Historique :

Depuis des temps reculés la propolis était employée comme thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations, Les Egyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les morts, elle était réputée pour ses propriétés conservatrices et son arôme, De -700 à -600 ans av JC, les Grecs ont observé que cette substance résineuse se situait à l'entrée de la ruche comme barrière de protection contre les prédateurs. Ils ont alors donné le nom de « propolis » qui signifie pro=devant, polis=la cité. Hippocrate recommandait la propolis pour la guérison des plaies et des ulcères. Les soldats romains, eux, portaient au combat avec un morceau de propolis pour cicatriser leurs futures plaies. En Amérique du Sud, les Incas utilisaient la propolis comme antiseptique. (<http://bee.apinova.fr/pages/La-Propolis> /consulté le:5-8-2016).

Dans le moyen-âge les européens décrivent les préparations médicales à base de la propolis pour les traitements des maladies de la bouche et de respiration.

C'est surtout au XVIII - XIXème siècle que la propolis fut utilisée pour panser les plaies. Elle était très répandue sur les champs de batailles notamment lors de la guerre des Boers en Afrique du Sud pour soigner les soldats et accélérer le processus de cicatrisation (Caillas 1947; Cuvillier, 2015).

2. Définition :

La propolis est un mélange de substances résineuses récoltées par les abeilles et enrichies par leurs sécrétions. Les abeilles l'extraient des bourgeons et de l'écorce de certains arbres, notamment des conifères résineux, des peupliers, saules. Gluante et molle à haute température, comme dans la ruche (35°C) et devient solide à basse température (Cuvillier, 2015). Sa couleur varie du jaune au noir en passant par l'orange, vert, le mauve et le brun. Ces couleurs sont dues aux pigments qu'elle contient (chrysin, anthocyanes). Le goût de la propolis est très particulier, avec une sensation brûlante et pimentée (Gharbi, 2011).



Figure 2 : propolis brute

3. Production par l'abeille :

L'Abeilles d'Asie : *Apis cerana*, *A. dorsata* ne récoltent presque pas de propolis .Dans l'espèce *Apis mellifera* : *carnica* et *lamarckii* propolisent peu, *ligustica* et *mellifera* propolisent moyennement (300g/ruche), *caucasica* et *intermissa* propolisent beaucoup (1Kg/ruche).Ce sont les butineuses les plus âgées qui récoltent la propolis.

Lorsque l'abeille a repéré la source avec ses antennes, elle découpe avec ses mandibules des fragments de résine qu'elle étire comme un fil et qu'elle entasse après l'avoir pétri en boule, dans les corbeilles. Tâche effectuée au moment le plus chaud de la journée (20°C) du printemps à la fin de l'été. Dans la ruche les ouvrières déchargent la butineuse en ramollissant La résine avec leurs sécrétions salivaires entraînant une maturation organique et en y ajoutant un peu de cire. (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>. consulté le:9-1-2016).

4. Utilisation par l'abeille :

- Réparation des rayons, fissures.
- Fixation des cadres mobiles pour réduire les vibrations.
- Embaumement des cadavres des intrus.
- Aseptisation de la ruche.
- Réduction de l'entrée de la ruche en fonction des variations climatiques. Ces activités participent à l'entretien d'une isolation thermique adéquate et indispensable au bon développement du couvain (Donadieu, 2008).

5. Récolte et conservation :

5. a .Récolte :

La propolis garnit les cadres et les parois de la ruche. Il est possible d'effectuer un raclage et un grattage de ces parties mais la propolis obtenue contient alors de nombreuses impuretés (cire, bois, fragments d'abeilles, sable...) ce qui rend sa qualité médiocre Une méthode permet d'obtenir une propolis de très bonne qualité. Il suffit de placer une grille de récupération en métal ou en plastique (conçue à cet effet) au dessus de la ruche, sur la dernière hausse par exemple. La propolis servant à boucher les interstices du nid va être produite et déposée par les ouvrières entre les mailles de la grille. Une fois recouverte, la grille doit être placée au congélateur. La propolis devient cassante et se détache facilement (Gharbi, 2011; Marchenay et Bérard, 2007).

Pour avoir une propolis de la meilleure qualité possible, il faut pratiquer cette récolte au cours de la saison d'été ou au début de l'automne, après la miellée principale.



Figure 3 : Grille de récupération de propolis en plastique

Source : <http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf> (consulté le:1-9-2016)

5. b .Conservation :

La conservation de la propolis est facile, sans aucun impératif particulier pour la plupart de ses présentations. L'exposition prolongée à la chaleur et à la lumière est tout de même déconseillée (Gharbi, 2011; Donadieu, 2008). Le stockage de longue durée ne semble pas diminuer sa teneur en composants actifs.

6. Traitements possibles :

On peut obtenir des teintures officinales par dilution de la propolis dans une solution d'alcool à 70°C (contiennent 3 à 30% de propolis) (Bruneau, 2009), Les extraits qui présentent des fortes concentrations principes actifs, mais aussi des solutions aqueuses de propolis.

7. Composition :

La composition de la propolis révèle plus de 180 constituants, tous n'ayant pas été identifiés (Domerego *et al.*, 2009). La propolis est un ensemble de matières résineuses, gommeuses et balsamiques. Comme ses origines sont variées, les proportions de ses constituants changent énormément, On y retrouve cependant toujours des résine et baumes, la cire, des essences, du pollen et des éléments divers (Bruneau, 2009; Gharbi, 2011).

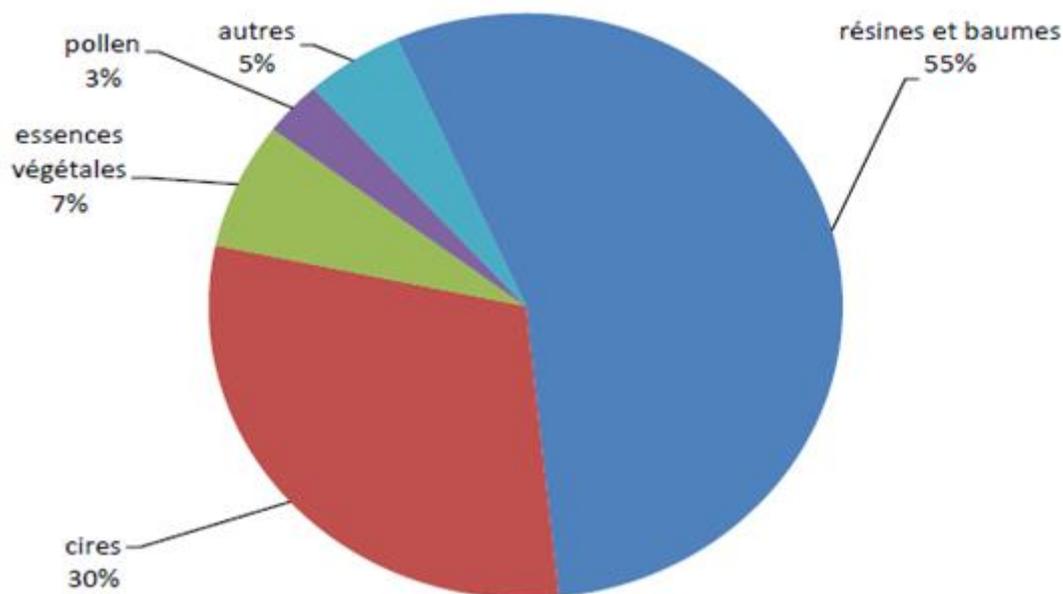


Figure 4 : composition générale moyenne de la propolis.

D'après Bruneau 2009.

La composition varie en fonction des plantes butinées par l'abeille, cependant son activité thérapeutique et ses propriétés restent inchangées (Cuvillier, 2015).

Glucides : D-glucose, D-fructose.

Acides aminés : sérine, glycine, acide glutamique, ac. aspartique, tryptophane, phénylalanine, leucine, arginine, proline.

Vitamines : B1, B2, B3, B6, B8, B12, La vitamine A (Domerego *et al.*, 2009).

Minéraux : On retrouve surtout le fer, le cuivre et le manganèse, mais aussi Aluminium, argent, baryum, bore, calcium, chrome, cobalt, étain, magnésium, molybdène, nickel, phosphore, plomb, sélénium, silicium, strontium, titane, vanadium, zinc (Cuvillier, 2015).

Lipides : les lipides issus de la cire. (Gharbi, 2011; Donadieu, 2008).

Composés terpéniques : clérodane, géranol, bisabolol, farnésol, squalène, stérols. (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>, le:1-9-2016).

Flavonoïdes :

Tels que les flavones, flavonoles, chalcones, on trouve plus de 40 Flavonoïdes les plus importants : Pinocembrine, Galangine, Kaempférol, Pinostrobin, Pinobanksine, Sakuranétine, Quercétine, Chrysin, 2,4,6-trihydroxy-dihydrochalcone. (Gharbi, 2011; Donadieu, 2008).

Alcools, aldéhydes et cétones aromatiques (vanilline, isovanilline...). (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>).

Acides aromatiques : représentés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Acides aromatiques de la propolis (Donadieu 2008;El-Hadi et Hégazi 2001b):

Dérivés de l'acide benzoïque	Dérivés de l'acide cinnamique
Ac benzoïque	Ac cinnamique
Ac 4-hydroxy- benzoïque	Ac p-coumarique
Ac 4-méthoxy- benzoïque	Ac p-méthoxy- cinnamique
Ac vanillique	Ac férulique
Ac isovanillique	Ac isoférulique
Ac gallique	Ac caféique
Ac protocatéchique	Ac 3,4-diméthoxy- cinnamique
Ac 3,4-dihydroxy- benzoïque	Ac dihydro-p-coumarique
Ac 3,4,5- trihydroxy- benzoïque	Ac dihydro- cinnamique
Ac 3,4-diméthoxy- benzoïque	Ac prényl-p-coumarique
	Ac diprényl-p-coumarique

Ac=Acide

Esters d'acide aromatiques : jouent un rôle primordial dans l'effet thérapeutique de la propolis. (Donadieu, 2008).

Tableau 2 : Esters d'acides aromatiques de la propolis (El-Hadi et Hegazi 2001b).

Esters de l'acide cinnamique	Cinnamylcinnamate
Esters de l'acide coumarique	Pentenyl-coumarate Benzyl- coumarate Phényléthyl- coumarate Cinnamyl- coumarate
Esters de l'acide férulique	Férulate de pentényl Férulate de cinnamyl
Esters de l'acide isoférulique	Pentenyl-isoférulate Benzyl- isoférulate Phényléthyl- isoférulate
Esters de l'acide caféique	Ethyl-caféate Butanyl- caféate Phénéthyl- caféate (CAPE) Pentényl- caféate Phényléthyl- caféacte Cinnamyl- caféate Tétradécyl- caféate Tétradécényl- caféate Hexadécyl- caféate

Les acides organiques aliphatiques : (Donadieu, 2008 ; Gharbi, 2011) :

- Arachidonique
- Caprilique
- Eicosenoïque
- Eptadecanoïque
- Erucique
- Laurique
- Linoléique
- Oléique
- Palmitique
- Palmaticoléique
- Stéarique
- Succinique
- Miristique
- Linoléinique

Composés prénylés : artépilline C, propolin A, B et C, Acétophénones (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>).

Les huiles essentielles :

Le guaïacol, eugénol, anéthol, le pinène ayant un rôle antiseptique (Cuvillier, 2015).

8. Propriétés biologiques et thérapeutiques:

8.1 .Effet antibactérien :

Le spectre antibactérien de la propolis est large. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus* et MRSA (Méthicillin-Résistant *Staphylococcus Aureus*) (Trusheva *et al.*, 2010), les streptocoques (*Streptococcus mutans* responsable des caries dentaires et *Streptococcus sobrinus*), *Paenibacillus alvei*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* ou encore sur les Gram négatifs comme les salmonelles, *protéus mirabilis* ou *Helicobacter pylori*, responsable d'ulcère gastroduodénal (Kim *et al.*, 2011). En revanche, on note une faible activité de la propolis sur *Escherichia coli* et les *Pseudomonas* (Cuvillier, 2015; Ghedira *et al.*, 2009).

Cette activité antibactérienne serait imputable à l'acide cinnamique, aux molécules aromatiques, aux acides diterpéniques, aux composés phénoliques et aux nombreux flavonoïdes qui composent la propolis (Ramanauskienė et Inkėnienė, 2011; Boukraâ et Sulaiman, 2009; Bankova *et al.*, 1996). Cependant, le mécanisme d'action est encore mal compris. Des chercheurs japonais pensent que l'inhibition de la croissance bactérienne serait due à la destruction de leur paroi empêchant ainsi leur division cellulaire (Domerego *et al.* 2009).

8. 2 .Effet antiviral :

L'action antivirale de la propolis a été montrée sur les poliovirus, les virus de type herpès (dont zona), les adénovirus (Donadieu, 2008), le virus de la grippe H1N1 (Takemura *et al.*, 2011), de l'hépatite B (Gharbi, 2011) et de la stomatite vésiculaire

(Donadieu, 2008). Le taux d'IFN γ y était augmenté. Les esters de l'acide caféique seraient également impliqués dans l'effet antivirale. (Shimizu *et al.*, 2011).

8.3.Effet antifongique :

La propolis possède une action contre *Candida albicans*, *Trichophyton*, *Microsporium canis* et *Cryptococcus* (Donadieu, 2008; Gharbi, 2011). Ce sont la galangine, le kaempférol, la pinocembrine et l'acide caféique qui lui confèrent cette activité. Associée à des médicaments antimycosiques, la propolis a de meilleurs effets sur les mycoses de la peau ou des muqueuses (sphère ORL et du vagin) ou encore les infections causées par *Monilia albicans* au niveau du tube digestif chez le nourrisson (Gharbi, 2011).

8.4.Effet anti-inflammatoire :

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'Aspirine, est dose-dépendant. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats. Les flavonoïdes en sont responsables, en inhibant la synthèse de NO et de PG, inducteurs d'inflammation (Paulino *et al.*, 2006) et en supprimant la production de cytokines inflammatoire par les monocytes/macrophages (Ansoerge *et al.*, 2003). Des études ont montré que son action est intéressante dans les trachéites et pharyngites liées à une intubation prolongée pendant une intervention chirurgicale. Les composés terpéniques (bisabolol en particulier) agiraient également dans l'action anti-inflammatoire (Gharbi, 2011; Donadieu, 2008).

8.5.Effet anticancéreux :

Les propriétés anti-carcinogènes de la propolis ont été démontrées par de nombreuses études sur l'animal, elles sont dues aux flavonoïdes et à un dérivé de l'acide caféique (CAPE) identifié comme étant un inhibiteur tumoral (Blanc, 2010).

Egalement, des agents cytotoxiques spécifiques pour les cellules cancéreuses comme l'Artepilline C et le diterpénoïde du Clerodane, ont prouvé leurs action dans le traitement du cancer de l'utérus, et dans le cancer du foie (Blanc, 2010).

Les composés actifs de propolis agissent par inhibition de : L'angiogénèse, métastase et par induction de l'apoptose (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>. le:1-9-2016).

Des extraits de propolis de *Trigona laeviceps* ont montré une forte activité antiproliférative *in-vitro* sur des cellules cancéreuses humaines, ces tests ont été réalisés en parallèle sur des cellules normales humaines :

hépatocytes et fibroblastes où les effets cytotoxiques n'ont pas été mis en évidence (Umthong *et al.*, 2011).

8.6 .Effet antioxydant :

Grace à la présence d'une quarantaine de flavonoïdes chez certains types de propolis, l'activité anti-oxydante est particulièrement élevée, Mais celle-ci est dose dépendante, c'est à dire qu'elle agit comme anti-oxydante à faible dose ou est pro-oxydante à dose élevée. Il est donc nécessaire d'identifier la dose efficace. Les recherches supposent également que le CAPE a des propriétés anti-oxydantes (Gharbi, 2011; Cuvillier, 2015).

Cette action est démontrée où les composés phénoliques, les flavonoïdes, et surtout l'artepilline C, s'opposent à la peroxydation des lipides et préviennent les dommages des radicaux libres (Yang *et al.*, 2011; Shimizu *et al.*, 2004; Gharbi, 2011).

8.7 .Effet immunomodulateur :

La propolis est considérée comme modulateur de la réponse biologique (BRM ou **B**iological **R**esponse **M**odifier). Elle stimule le système immunitaire à produire plus de macrophages (Donadieu, 2008). Ses effets biologiques bénéfiques sur le système immunitaire existent en partie grâce au CAPE, La propolis régule l'expression de gènes qui contribuent à la reconnaissance des microorganismes et favorise donc la réponse immunitaire (Orsatti et Sforcin, 2011).

8.8 .Effet antiallergique :

L'action antiallergique de la propolis vient en partie du fait de son activité antioxydante. En effet, chez des souris sensibilisées à l'ovalbumine, Cinq administrations intra-péritonéales de CAPE sont effectuées avant la dernière exposition à l'ovalbumine, il s'en est suivi une inhibition significative des réactions allergiques chez ces souris (Jung *et al.*, 2008). La chryisine, un flavonoïde de la propolis, possède également une action antiallergique (Gharbi, 2011).

En effet, des tests *in-vitro* et *in-vivo* ont montré qu'elle réduisait la libération d'histamine par les mastocytes et diminuait l'expression des gènes codant pour les cytokines inflammatoires. Elle atténue également l'anaphylaxie modulée par la présence d'Ig E (Gharbi, 2011; Bae *et al.*, 2011).

8.9 .Effet antiparasitaire :

La propolis est efficace dans le cas d'infections par certains parasites comme le *Toxoplasma gondii* implique dans la toxoplasmose, particulièrement dangereux Chez les femmes enceintes, ou encore contre les Trichomonas, *Trypanosoma cruzi* ou *Giardia lamblia*. Le produit de la ruche empêcherait la croissance du parasite,

sans que les principes actifs de celui-ci ne soient clairement identifiés (Dandiya P et al., 1991).

8.10 .Effet cicatrisant :

La propolis accélère la régénération des tissus abîmés (pulpe dentaire, tissus hépatiques, osseux). L'action antioxydante des flavonoïdes est sans doute à l'origine de ses capacités de régénération, favorable à la restauration du système immunitaire. La présence d'acides phénoliques et de certains acides aminés (la proline entrant dans la synthèse du collagène, de l'élastine et de facteurs intervenant dans l'élasticité de la peau, et l'arginine stimulant la division et donc le renouvellement cellulaire) sont des acteurs incontestables de la cicatrisation et de la régénération des cellules (Gharbi, 2011; Pessolato *et al.*, 2011; Gabrys, 1986). comparée à un cicatrisant classique, le sulfadiazine d'argent, la propolis montre une bien meilleure épithélialisation (étude menée dans un modèle rat avec des brûlures sur le dos au 3^{ème} degré) après applications journalières de crème à 50% de propolis (Gharbi, 2011; Han *et al.*, 2005).

8.11 .Effet analgésique-anesthésiant :

L'utilisation topique de la propolis engendre une diminution de la sensibilité cutanée. Il a été démontré que cet effet est dû en particulier à la pinocembrine, l'acide caféique ainsi qu'aux esters. D'autres tests ont été effectués sur des cornées de lapin et ils montraient que l'activité anesthésiante était 3 fois plus puissante que la cocaïne et 52 fois que la procaine, tout en ayant moins d'effets indésirables. (Cuvillier, 2015).

8.12 .Effet Détoxifiant et hépatoprotecteur :

La propolis protège contre CCl₄, HgCl₂, AlCl₃, chimiothérapie, alcool, médicament L'artepillin C protège contre la génotoxicité du méthylméthane-sulfonate (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>. le:1-9-2016).

9. Variétés de propolis :

Il existe plusieurs variétés, selon la flore butinée, on cite à titre spécifique la propolis verte (*Baccharis dracunculifolia*) de Brésil aux propriétés antitumorales, la propolis rouge de Cuba (palétuvier): antivirale, la propolis brune (peuplier) antibactérienne (<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm/pdf>).

Chapitre III

La Gelée Royale

1. Historique :

Dans l'Antiquité, les Grecs associent à la gelée royale un pouvoir d'immortalité des dieux de l'Olympe. A la même époque, les Chinois pensaient que la gelée royale augmentait la durée de vie et l'activité sexuelle. Depuis le début du XXème siècle, elle s'est imposée dans le marché chinois avec des rôles divers : traitement du diabète, des douleurs articulaires, de la fatigue physique et intellectuelle, de l'hypertension artérielle, de l'hépatite chronique, des troubles menstruels et de l'infertilité. En médecine traditionnelle chinoise, la gelée royale est assimilée à un tonique en cas de carence du Yin. Depuis le début du XXème siècle, la gelée royale est produite à un niveau industriel ce qui a permis de la diffuser et de la consommer partout dans le monde. (Cuvillier, 2015).

2. Définition :

la gelée royale est un produit sécrété par les glandes hypopharyngiennes et les glandes mandibulaires des abeilles nourricières, entre le 5ème et le 11ème ou 14ème jour d'âge (Painter and Biesele 1966; Jean-Prost, 2005). Nourriture exclusive des reines ou lors des 3 premiers jours de la vie larvaire des abeilles, d'aspect visqueux, son couleur est de blanc crémeux à jaune dore pâle (Gharbi, 2011; Blanc, 2010), Le pH de la gelée royale est acide entre 3 et 4, d'où son acidité en bouche (Cuvillier, 2015).

La gelée royale est constituée de 2 phases : phase blanche et phase claire :

-la phase blanche provient des glandes mandibulaires et hypopharyngiennes.

- la phase claire est un mélange de contenu de jabot et des glandes hypopharyngiennes. La gelée royale destinée aux larves de futures reines est différente de celle destinée aux larves d'ouvrières ou de mâles. Les larves de futures reines sont celles recevant le plus de phase blanche. Le premier jour, elles reçoivent 50% de phase blanche contre 20% pour les larves d'ouvrières. Ensuite, la proportion de phase blanche diminue légèrement pour les larves royales et fortement pour les autres. Des fluctuations existent aussi en fonction des saisons. La gelée royale est dérivée des protéines et des nutriments présents dans le pollen ingérés par les nourrices après la maturation des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires. (Gharbi, 2011).

3. Récolte et conservation :

3. a. Récolte :

A la différence du miel et du pollen, la gelée royale n'est pas stockée dans les alvéoles par les ouvrières, qui sécrètent uniquement les quantités nécessaires pour élever le couvain et nourrir la reine (Marchenay et Bérard, 2007). Pour une petite production, la

récolte consiste à prélever directement dans la ruche les cellules royales produites régulièrement (Jean-Prost, 2005). Pour une grande production de gelée royale, il est nécessaire de suivre plusieurs étapes (Marchenay et Bérard, 2007; Jean-Prost, 2005) :

- Rendre la ruche orpheline : Sans reine (tuée ou déplacée), les ouvrières vont être stimulées à créer des cellules royales et des reines.
- Installer des cellules naturelles ou artificielles. C'est ce qu'on appelle l'élevage de reines :
 - Méthode des cellules naturelles: Récolte 3 jours après
 - Méthode des cellules artificielles: Greffe dans ces cellules des larves âgées de 12-36h, Et récolte : 3 jours après.

Pour récolter la gelée royale, il est d'abord nécessaire de retirer les larves avec une pince. La substance royale est récoltée à la spatule ou aspirée à la seringue ou au compte goutte à piston. Des trompes reliées à un système aspiratif permettent de récolter plus rapidement et plus facilement le contenu des cellules. Il faut ensuite retirer les débris de cire et autres impuretés à la pince et filtrer la gelée royale (Jean-Prost, 2005). La récolte par méthode des cellules naturelles rapporte environ 50 g de gelée royale par ruche et par an. La méthode des cellules artificielles permet d'en récolter de 150 à 300 g par ruche et par an (Marchenay et Bérard, 2007).

Avec des méthodes de grandes productions, il s'est avéré que plus une ruche produisait de cellules royales, plus la récolte de gelée royale était importante mais moins la quantité de gelée par cellule était grande. La deuxième récolte est par contre plus abondante que la première. Une cellule royale offre en moyenne 100 à 300 mg de gelée (Jean-Prost, 2005; Domerego *et al.*, 2009).



Figure 5 : Cellules remplies de gelee royale .

(<http://www.miel-lerucherdelours.fr/fr/18-gelee-royale> .cosulté le 3.8.2016)

3. b. Conservation :

Après récolte, la Gelée Royale est placée en flacon de verre hermétique puis stockée au froid (température inférieure à 5°C), à l'abri de l'humidité et de la lumière. La conservation peut être de plusieurs mois.

On trouve également de la gelée royale sous forme lyophilisée en capsule ou en gélule, en ampoule sous vide, en flacon, en comprimé ou mélangée avec du miel (Cuvillier, 2015).

Des reines fécondées ont été élevées correctement avec de la gelée royale conservée à -20°C pendant un an ou à 0°C pendant 6 mois (Jean-Prost, 2005).

4. Composition :

La gelée royale est théoriquement riche en éléments nutritifs, d'où son intérêt pour la reine, Cet intérêt est dû à une composition variée, mais aussi à la présence des molécules spécifiques de la gelée royale. Les différences entre les gelées royales sont beaucoup moins marquées que pour le miel (Gharbi, 2011).

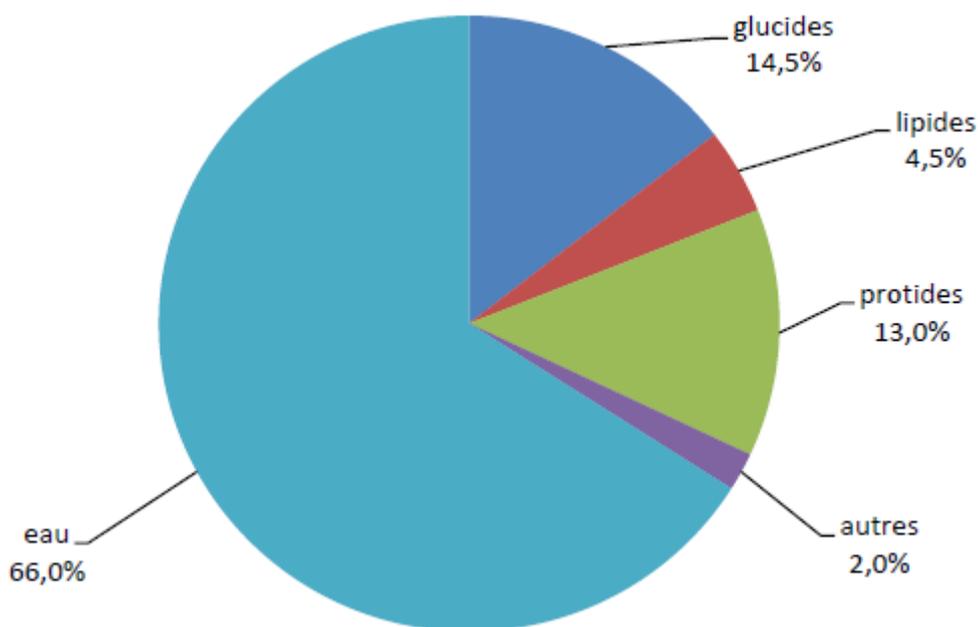


Figure 6 : composition moyenne de la gelée royale

D'après Bruneau 2009

Glucides :

Fructose et glucose principalement, mais aussi du saccharose et du maltose.

Protéines, peptides, acides-aminés :

La gelée royale est très riche quantitativement et qualitativement en protéines et acides Aminés, les plus intéressent sont les MRJP (Major Royal Jelly Proteins) :

MRJP1, MRJP2, MRJP3, MRJP4, MRJP5 qui présentent une forte homologie séquentiel et jouent un rôle dans la nutrition des larves (Mateescu, 2016). En plus la présence d'une

γ -Globuline, La gelée royale possède tous les acides aminés essentiels et semi-essentiels (Hegazi, 2001).

Les protéines de faible poids moléculaire et les peptides sont relativement importants, La Royalisine, peptide aux propriétés antibactériennes en est la principale. Des analyses ont montré que la partie prépondérante des peptides et protéines de faible poids moléculaire provenait de coupures protéolytiques des MRJP. Ce sont principalement ces peptides qui sont biologiquement actifs (Gharbi, 2011, Mateescu, 2016).

Lipides :

La gelée royale contient 4,5% d'acides gras dont l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (10H2DA) aux propriétés antibactériennes, antifongiques, anti-germinatives. Il sert de marqueur pour contrôler la pureté de la gelée royale. On retrouve aussi les acides adipiques, pimélique, subérique et le 24-méthylène-cholestérol. (Mateescu, 2016)

Minéraux :

Calcium, Fer, Potassium, Soufre, Magnésium, Phosphore, Sodium, Zinc, Cuivre, Manganèse, et autres minéraux en en infimes quantités (Stocker *et al.*, 2005).

Vitamines : la gelée royale est riche en vitamines de groupes B, Les vitamines liposolubles A, D, E et K sont présentes en quantités négligeables (Gharbi, 2011).

Autres :

- **Pigments :** La gelée royale possède quelques flavonoïdes comme la catéchine et l'épicatéchine (Gharbi, 2011).
- **Enzymes :** glucose-oxydase, un précurseur de l' α -glucosidase et la glucose déshydrogénase (Han *et al.*, 2011).
- Acétylcholine (jusqu'à 1 mg/g) (Domerego *et al.*, 2009)
- Facteurs antibactériens (Domerego *et al.*, 2009)
- Hormones sexuelles : oestradiol, testostérone, progestérone (Domerego *et al.*, 2009)
- Facteurs hypoglycémiant et hyperglycémiant. (Gharbi, 2011).
- Substances similaires aux citoquinines et gibberelines (Gharbi, 2011)
- Gélatine : précurseur du collagène (Hegazi, 2001)
- Acides nucléiques : ADN et ARN (Hegazi, 2001).

5. Propriétés biologiques et thérapeutiques :

5.1. Effet métabolique :

La gelée royale active le métabolisme par sa richesse en éléments nutritifs et vitamines, favorise la digestion après sa prise par voie orale, stimule l'oxygénation de cerveau, avec revitalisation de santé surtout chez les sujets âgés, diminue la fatigue physique et intellectuelle ainsi que le stress. (Blanc, 2010; Gharbi, 2011).

5.2. Effet immunostimulant :

La gelée royale a des propriétés immunostimulantes, immunomodulatrices, stimule la production d'anticorps et la prolifération cellulaire (Hegazi, 2001). En augmentant l'hématopoïèse (production de globules rouges et blancs), elle augmente les défenses immunitaires contre les infections hivernales. (Gharbi, 2011).

5.3. Effet antibactérien :

D'après des scientifiques, les propriétés antibactériennes de la gelée royale sont dues à ces molécules : l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque et un γ -globuline, en plus la Royalisine, qui inhibe les bactéries à Gram positif (Mateescu, 2016). Les flavonoïdes agiraient en tant que cofacteurs de l'activité antimicrobienne de la gelée royale.

Boukraâ *et al.*, (2009) ont montré une efficacité de la gelée royale sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec des concentrations minimales inhibitrices respectives de 1,7% et 2,2%. La gelée royale a montré des effets inhibiteurs *in-vitro* sur : *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus varians*, *Pseudomonas fluorescens*, *Bacillus larvae* (Gharbi, 2011; Cuvillier, 2015; Mateescu, 2016).

5.4. Effet antiviral et antifongique :

Elle présente également une activité antivirale, utile dans les traitements des hépatites ou dans le cas de gripes, en stimulant le système immunitaire. En effet, son action directe sur les virus n'a pas été clairement démontrée (Blanc, 2010).

La gelée royale a une action inhibitrice sur *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon spp* (Koç *et al.*, 2011).

5.5. Effet cicatrisant :

Il s'est avéré que le (10H2DA) induisait la production d'un facteur de croissance. Sa teneur en gélatine, proline et arginine renforce cette action (Koya-Miyata *et al.*, 2004). La gelée royale aide à lutter contre les agressions extérieures et contre le vieillissement de notre organisme, notamment au niveau des phanères et de la peau (Cuvillier, 2015).

5.6. Effet antioxydant :

Aide à lutter contre le vieillissement de nos cellules, favorise l'oxygénation de nos

tissus et protège notre organisme des radicaux libres; Diminue le risque de maladies dégénératives chez la personne âgée, mais là encore, aucune étude réellement concluante sur l'homme n'est venu confirmer cette hypothèse (Cuvillier, 2015; Blanc, 2010).

5.7. Effet anticancéreux :

La gelée royale aurait une action sur l'ADN des cellules cancéreuses, Cette activité est due à l'acide 10-hydroxy-2-décénoïque (Blanc, 2010).

Egalement, la gelée royale est efficace dans les cas de leucémie chez l'enfant en stimulant l'appétit et donc la résistance physique. Cependant, le rôle de la gelée royale dans la prévention du cancer chez l'homme n'a pas encore été démontré (Blanc, 2010).

Le (10H2DA) inhibe la néo-vascularisation qui se fait lors de phénomène néoplasique par inhibition de facteur endothélial de croissance vasculaire et l'angiogénèse (Izuta *et al.*, 2007).

5.8. Autres :

La gelée royale favorise l'activité sexuelle, diminue les gênes menstruelles de la femme réglée grâce à ses composés ostrogéniques, à des Propriétés antirhumatismales, effet antidépressif, anxiolytique. Effet anti-inflammatoires (Cuvillier, 2015).

Chapitre IV

Généralités sur les souches testées

A- Souches bactériennes

I. *Staphylococcus aureus* :

I.1- Classification et morphologie: bactérie appartenant au genre *Staphylococcus*, Cocci Gram positif, isolés ou groupés en diplocoques ou en amas ayant la forme de grappe de raisin, de 0,8 à 1µ de diamètre. La grande majorité des souches sont capsulées, mais les souches peuvent perdre leur capsule par culture, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative (Murray *et al.*, 2003).

I.2- Habitat : *S.aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux (rhino-pharynx, intestin), peut survivre longtemps dans l'environnement.

I.3- Culture et identification: culture facile sur les milieux usuels, en 24 heures, à 37°C, le milieu de Chapman pour l'isolement. *S. aureus* est aérobie prédominant et anaérobie facultatif, et se caractérise par: Pigmentation dorée des colonies, fermente le mannitol et le glucose (Catherine B, 2007).

I.4- Facteurs de virulence:

a. Enzymes : La coagulase-libre, La fibrinolysine, DNAses, La hyaluronidase, La lipase, Phosphatase, Gélatinase.

b. Toxines: Hémolysine, Leucocidine, Entérotoxines, Exfoliatine, TSST1.

I.5- Pouvoir pathogène: provoque des septicémies, toxi-infections alimentaires et entérocolites, Syndrome de choc toxique, différentes infections (cutanéomuqueuses, osseuses, articulaires, Infections nosocomiales). (Murray *et al.*, 2003).

I.6- Résistances aux antibiotiques: résistances acquises: très nombreuses et variées, les principaux : aux β-lactamines, aminosides, macrolides, et aux fluoroquinolones. (Catherine B, 2007; Fridkin *et al.*, 2005).

II. *Escherichia coli* :

II.1- Classification et morphologie: bactérie appartenant à la famille des entérobactériaceae, Bacilles Gram négatif, 2 à 4µ de long sur 0,4 à 0,6 µ de large, mobile capable de fermenter le lactose et de produire de l'indole.

II.2- Habitat: *E.coli* est un commensal du tube digestif de l'homme et de nombreux animaux.

II.3- Culture et identification: *E. coli* est aérobie - anaérobie facultatif, pousse sur des milieux de culture ordinaires en 24 h, à 37°C, et des milieux sélectifs (Hektoen, Macconkey), fermente le glucose, réduit les nitrates en nitrites, oxydase négatif (Catherine B, 2007).

II.4- Facteurs de virulence: L'antigène O (LPS) ou endotoxine ; sécrétion d'entérotoxine (souche ETEC), verotoxines. Hemolysines, adhesines, siderophores (Baylis *et al.*, 2006).

II.5- Pouvoir pathogène: pathogène opportuniste: Infections urinaires, Infections digestives (E. coli particuliers: EPEC, EIEC, ETEC, EHEC), Méningites, infections nosocomiales, différents infections chez les animaux (Baylis *et al.*, 2006; Catherine B, 2007).

II.6- Résistances aux antibiotiques: une multitude de résistances aux antibiotiques, ex: résistances aux β -lactamines par production de β -lactamases, résistance aux sulfamides (Chao *et al.*, 2006).

III. *Pseudomonas aeruginosa* :

III.1- Définition: bacille Gram négative, De 2 à 4 μ de long, aérobie strict, très mobile, oxydase positive, saprophyte, se trouve essentiellement dans l'eau. En culture, c'est une bactérie très reconnaissable, puisqu'elle colore le milieu en vert grâce à ces deux pigments, l'un vert (la pyoverdine) et l'autre bleu-vert (la pyocyanine) (Kayser *et al.*, 2001).

III.2- Facteurs de virulence : *P. aeruginosa* (ou bacille pyocyanique) est caractérisée par :

- Pouvoir protéolytique, production de biofilm.
- Production d'une exotoxine nécrosante, une entérotoxine par certaines souches.

III.3- Pouvoir pathogène: *P.aeruginosa* provoque : infections nosocomiales, des suppurations à « pus bleu » des blessures et des brûlures, septicémies chez les brûlés, surinfection des bronches dans la mucoviscidose (Pruitt *et al.*, 1998).

III.4- Résistances aux antibiotiques: *P. aeruginosa* est une bactérie possédant de nombreuses résistances aux antibiotiques ex : Les céphalosporines (Banerjee, et Stableforth, 2000).

B- Souches fongiques

I.Aspergillus niger

I.1- Définition et généralités : champignon microscopique filamenteux (Ascomycete), fréquemment retrouvé dans l'environnement, espèce cosmopolite, xérophile, mésophile qui se développe très bien à hautes températures: La température optimale pour la croissance du mycélium est de 17-42°C, et tuée après 25 min d'exposition à 63°C (Pitt JI, Hocking AD, 1999). Cette espèce est capable de se développer sur des pH inférieurs à 2 quand l'humidité relative est élevée. Pousse bien sur des milieux de culture qui contient le glucose, ex : milieu de Sabouraud, milieu Malt-Agar (MA) avec des colonies à croissance

rapide d'aspect de velours ou de feutre, blanc cotonneux au départ, devenant poudreux avec l'apparition de spores noires, Le revers est blanchâtre, possède des fructifications asexuelles de grande taille: Les conidies sont globuleuses, noires, portées par des phialides Bisérié ou unisérié. Les conidiophores très abondants, très fragiles, longs à parois lisses, hyalines. Les vésicules sont globuleuses (Pitt JI, 1999; Calvo *et al.*, 1980).

I.2- Pouvoir pathogène : *A. niger* est une espèce toxique et pathogène opportuniste, elle provoque des otomycoses chez l'homme, Elle peut provoquer l'aspergillose du conduit auditif externe chez les sujets présentant une lésion préalable ou une malformation anatomique du conduit auditif (Perfect Jr *et al.*, 2001), des aspergillose invasives surtout chez les immunodéprimées, des allergies broncho-pulmonaires, des infections associées à des lésions tissulaires (Aspergillomes). (Young *et al.*, 1970; Londero *et al.*, 1990).

II.Candida albicans

II.1- Définition et généralités : Levure de la famille des Candidaceae, *Candida albicans* est un champignon diploïde et encapsulé classé parmi les polymorphes car il peut prendre l'aspect de levure ou l'aspect de pseudo-hyphes selon la température, le pH et les nutriments du milieu. La forme levure est associée à une production de blastoconidies et est la forme de *C. albicans* la plus couramment observée. Les pseudo-hyphes sont quant à eux caractérisés par une absence des structures propres aux hyphes vrais (parois parallèles, septum, etc.), ces derniers prenant l'allure de longs filaments et pouvant produire des chlamydospores aux parois épaisses. La reproduction asexuée se produit par bourgeonnement pour donner des blastoconidies. Les colonies apparaissent de 48 à 72 heures après la mise en culture à 37 °C sur une gélose de Sabouraud (Hazen, K. C., & Howell, S. A, 2007).

II.2- Répartition et réservoir : *C. albicans* est observé partout dans le monde, et il peut être retrouvé chez l'animal, sur les objets inanimés et dans le sol, les aliments et les hôpitaux. *C.albicans* fait partie de la flore microbienne endogène gastro-intestinale, vaginale et oropharyngée humaine, et peuvent être inactivées par une exposition de 30 secondes à l'hypochlorite de sodium (5 % ou 0,5 %), à l'iode 2% (Waltimo *et al.*, 1999; Schell W, 2006).

II.3- Pouvoir pathogène : il s'agit aussi chez l'humain d'un pathogène opportuniste, La manifestation clinique la plus fréquente de l'infection à *C. albicans* est la candidose buccale, couramment appelée muguet, qui est caractérisée par la présence de plaques

blanchâtres irrégulières uniques ou multiples sur la langue, le palais ou d'autres surfaces des muqueuses buccales. *C. albicans* peut aussi entraîner aussi : La candidose vaginale, une septicémie (candidémie), des infections cutanées, infection des ongles (paronychie et onychomycose), infections oculaires, etc. (Schell, W, 2006).

II.4- Sensibilité et résistance aux médicaments : *C. albicans* est sensible à l'amphotéricine B, à la nystatine, à la flucytosine, aux antifongiques azolés. Une résistance au fluconazole a été associée à l'usage répété de ce médicament, notamment chez les patients immunodéprimés à qui il est administré à titre de prophylaxie (Kauffman, C, article sur web : 5.12.2016).

Partie Expérimentale

Matériels et Méthodes

Matériels et Méthodes :

Notre étude est déroulée durant la période : Avril à Juin 2016 au laboratoire d'amélioration et de valorisation des productions animales locales de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

1. Matériels :

1.1. Echantillonnage :

a. **Miel** : trois variétés du miel, récoltées dans trois endroits différents. Elles sont représentées dans le tableau 3 :

Tableau 3 : caractéristiques des miels utilisés.

	type	Lieu de récolte	couleur	Année de récolte
M1	Multi florale	Constantine (région Ain Smara)	Jaune	Mai 2015
M2	montagnards	Tiaret (région Mghila)	Ambrés foncé	Juin 2015
M3	Miel De forêt	Boumerdès (région Taourga)	Marron foncé	Avril 2016

Les échantillons sont stockés dans des récipients en verre stériles, à l'abri de la lumière et à température ambiante.



Figure 7 : Echantillons de miel.

b. La propolis :

Un échantillon a été obtenu auprès d'un apiculteur de la wilaya de Tiaret. L'échantillon est trié des impuretés et broyé sous forme de poudre très fine. Sa couleur est marron, son gout est piquant avec un arôme agréable. Elle est stockée dans de petit flacon en verre de 10 gramme, opaque, hermétique, à température ambiante, et à l'abri de la lumière.



Figure 8 : Echantillon de propolis.

c. La gelée royale :

Un échantillon a été obtenu auprès d'un apiculteur de la wilaya d'Alger (Birtouta). Stockée à une température -20°C dans un flacon fermé hermétiquement et recouvert d'un papier aluminium empêchant l'altération ultérieure de produit.



Figure 9 : Echantillon de gelée royale.

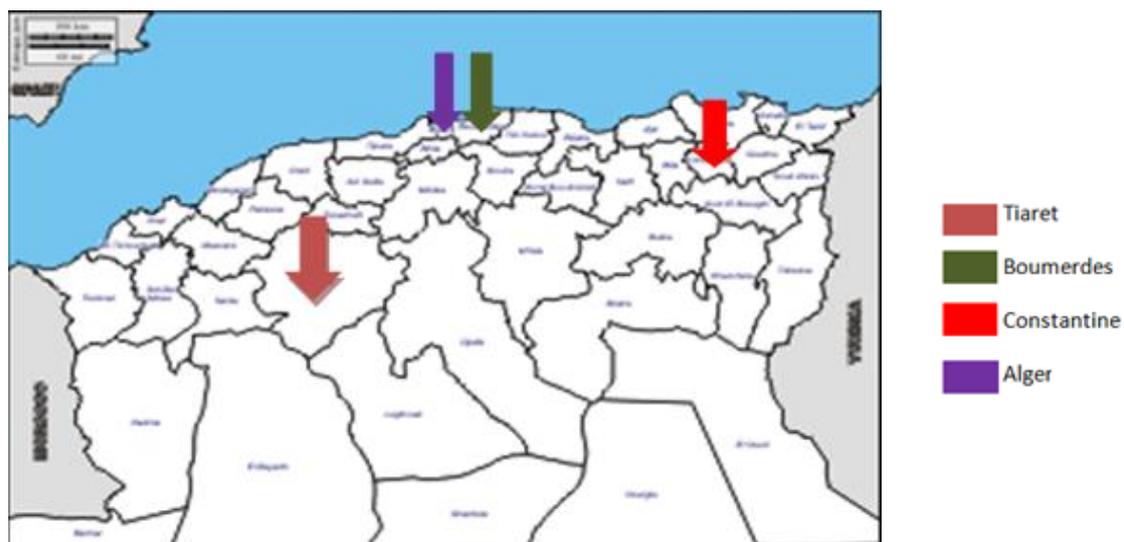


Figure 10 : lieux d'échantillonnage.

1.2. Matériels biologiques :

Souches bactériennes : il s'agit des souches pathogènes, fournies par le laboratoire d'amélioration et de valorisation des productions animales locales de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret.

Staphylococcus aureus (ATCC 25923), et *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853),
Escherichia coli : isolée d'une mammite bovine.

Souches fongiques : fournies par le laboratoire d'amélioration et de valorisation des productions animales locales de l'université Ibn Khaldoun de Tiaret :

Candida albicans : isolée d'un enfant atteint d'une candidose buccale.

Aspergillus niger (ATCC 106 404).

Les souches sont conservées dans des tubes au glycérole à 50% et à température -20°C.

1.3. Matériel et consommables de laboratoire :

Appareils :

- Spectrophotomètre Shimadzu.
- Incubateur Memmert.
- pH-mètre OHAUS.
- Balance analytique OHAUS.
- Réfractomètre.
- Bain marie GFL.

- Microonde LG.
- Agitateur vortex.
- Micropipette.
- Bec bunsen.
- Microscope Optika.

Consommables et verreries courantes de laboratoire :

- boîtes de pétrie en verre et en plastique de 60mm.
- Ecouvillons.
- Seringues de 5ml et 1ml.
- Tubes à hémolyse.
- Tubules en plastique.
- flacons en verre de 180 ml pour le stockage des milieux de culture.
- Entonnoir.
- Papille filtre.
- Galerie API20E.
- Pipette de pasteur.
- Lames.
- Disques d'antibiotique Gerona Spain.

Milieux de culture :

- Gélose nutritive.
- Gélose sabouraud.
- Milieu Muller Hinton.

Réactifs , solutions et colorants :

- | | |
|---|--------------------|
| - Réactif de Folin. | - Fushine. |
| - Eau physiologique. | -Bleu de Mytilène. |
| - Solution de Na ₂ CO ₃ (7,5%). | -Lugole. |
| - Solution de chlorure d'aluminium (2 %). | - Crystal violet. |
| - Acide gallique. | |
| - quercétine. | |
| - Eau distillé stérile. | |
| - Sérum humain. | |
| - Alcools 70. | |

2. METHODES :

2.1. Confirmation des souches bactériennes et fongiques :

Tests utilisés :

1. coloration de gram :

1.2. Mode opératoire :

- a. Réaliser un frottis et le fixer à la flamme
- b. Verser le Crystal violet sur la lame ; laisser en contact 1 minute
- c. laver à l'eau distillée et finir de la chasser par la solution de Lugol ; laisser agir le Lugol environ 1 min puis laver avec de l'eau distillée.
- d. faire couler de l'alcool sur la préparation ; rincer immédiatement à l'eau distillée.
- e. Recouvrir la préparation de Fushine, laisser agir environ 1 min. lavez abondamment.
- f. Assécher la lame à l'aide de papier buvard.

Lecture : bactéries Gram négatif (coloration rouge), bactéries Gram positif (coloration violet).

2. Autres: galeries API20E pour confirmer *E.coli*, aspect macroscopique pour *P. aerogenosa* (coloration verdâtre de la culture).

3. Test de blastèse (Test de filamentation) : utilisé pour différencier *Candida albicans* des autres *Candida spp.* Dans un milieu pauvre, *C. albicans* a tendance à former des pseudohyphes caractéristiques sans constriction.

Mode opératoire :

- a. mettre 0.5ml de sérum humain dans un tube à essai.
 - b. prélever une ou deux colonies de la culture suspecte à l'aide d'une anse stérile et faire une suspension dans le sérum humain.
 - c. incuber 2-3heures à 35 – 37°C.
 - d. placer une goutte de suspension sur une lame, recouvrir avec une lamelle et observer au microscope optique au grossissement 40X, si le teste est positif (présence des pseudo-hyphes sans constriction), il s'agit de *C. albicans*.
- 4.** aspect macroscopique (spores noirâtre) et microscopique pour *Aspergillus niger*.
- 5.** coloration simple.

2.2. Mesure de quelques paramètres physico-chimique du miel :

2.2.1. Mesure du pH :

La mesure du pH se fait à l'aide d'un pH-mètre de type OHAUS, tout simplement en plongeant son électrode dans le miel, bien homogénéisé, attendre quelques secondes jusqu'à la stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche automatiquement.

L'électrode est bien lavée et rincée à l'eau distillée entre chaque échantillon de miel.

2.2.2. Teneur en eau :

La mesure de la teneur en eau se fait très simplement au moyen d'un réfractomètre à 20°C. Le coefficient de correction 0.00023 par degré Celsius. La correction est additive, si la mesure est faite au-dessus de 20°C, soustractive dans le contraire.

Le miel à analyser doit être homogénéisé et parfaitement liquide, si le produit se trouve cristallisé, il est nécessaire de le refondre dans un flacon à fermeture hermétique en étuve ou en bain marie à 50°C.

À l'aide d'une spatule la goutte de miel est déposée sur la platine du prisme d'un réfractomètre répartie en couche mince. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre une zone claire et une zone obscure.

En se rapportant au Tableau de CHATAWAY (1935), nous obtenons le pourcentage d'eau correspondant à l'indice de réfraction (Annexe 02).



Figure 11 : Mesure de la Teneur en eau.

2.2.3. Dosage des polyphénols totaux du miel :

Le principe de ce dosage est adapté par **Singleton et Ross, (1965)** avec le réactif de **Folin-Ciocalteu**.

Principe :

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué par un mélange d'acide phosphotungstique (H₃PW₁₂O₄₀) et d'acide phosphomolybdique (H₃PMo₁₂O₄₀).

En milieu basique, Il est réduit, lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène(W₈O₂₃) et de molybdène(Mo₈O₂₃) (**Ribéreau-Gayon, 1968**). La coloration produite est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans les extraits végétaux. Ainsi, la quantité de polyphénols pour chaque échantillon est déterminée par la projection de la valeur de la densité optique à 765 nm sur une courbe étalon d'un polyphénol standard (acide gallique) réalisée dans les mêmes conditions.

Mode opératoire :

Le dosage des composés phénoliques totaux est effectué en utilisant le réactif de Folin- Ciocalteu et est réalisé selon la méthode de Chan *et al.*, (2008) avec quelques modifications apportées. L'échantillon du miel est dilué pour obtenir une absorbance finale comprise entre 0,5 et 1, on ajoutant 0.5g de miel à 5 ml d'eau distillée. On réalise une gamme étalon en milieu aqueux (6 points de concentrations de 0 à 0,1 mg.ml⁻¹) avec un standard, l'acide gallique. Pour réaliser le dosage, 200 µl d'échantillon de miel dilué sont ajoutés à 500 µl du réactif de Folin-Ciocalteu (10%). Après 5 minutes, on ajoute 1500 µl de Na₂ CO₃ (7,5%). Les mélanges réactionnels, correspondant à chaque point de gamme et échantillon, sont agités puis incubés pendant 30 min à l'abri de la lumière. La lecture de l'absorbance à 765 nm se fait grâce à un spectrophotomètre UV-visible.

La teneur en phénols totaux est donnée en mg d'équivalent d'acide gallique (EAG)/g de miel; elle a été déduite de la courbe d'étalonnage (Figure 14) provenant de la régression linéaire des valeurs obtenues pour la solution standard.

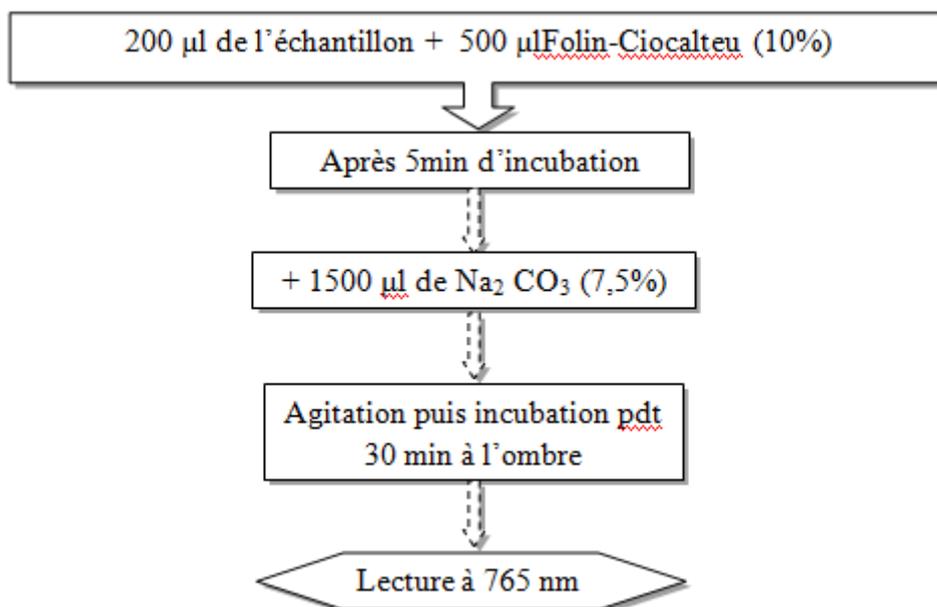


Figure 12 : protocole de dosage des polyphénols (Chan *et al.*, 2008)

2.2.4. Dosage des flavonoïdes :

La teneur en flavonoïdes totaux est évaluée par la méthode décrite par Djeridane *et al.* (2006) avec quelques modifications apportées.

Le réactif utilisé est une solution incolore de chlorure d'aluminium (2%).

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydation des flavonoïdes par ce réactif, entraînant la formation d'un complexe brunâtre qui est absorbé à 420 nm.

Mode opératoire :

On ajoute 1,5ml d'une solution de miel 10% (g/v) à 1,5 ml de chlorure d'aluminium (2 %). Après 15 minutes de réaction, l'absorbance est lue à 420 nm. La teneur en flavonoïdes, est déterminée par référence à une courbe d'étalonnage (Figure 15) obtenue en utilisant la quercétine, en milligramme d'équivalent de quercétine par 100 grammes de miel (mg EQ/100g miel).

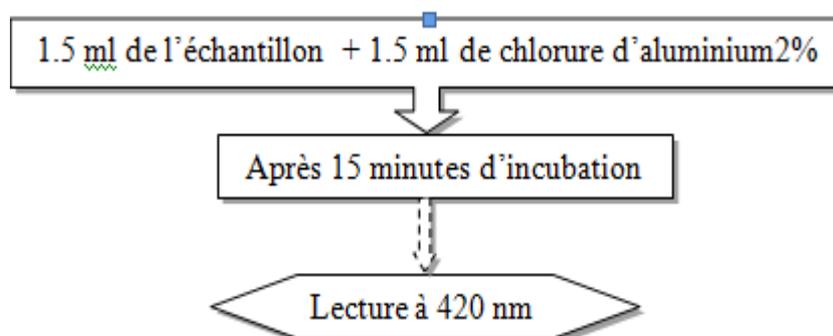


Figure 13 : protocole de dosage des Flavonoïdes (Djeridane *et al.*, 2006)

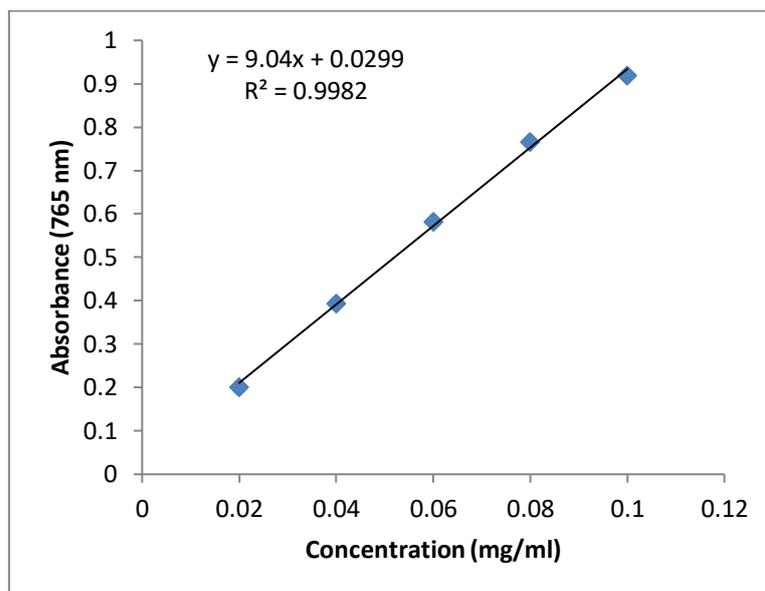


Figure 14 : Courbe étalon du dosage des polyphénols (acide gallique comme standard).

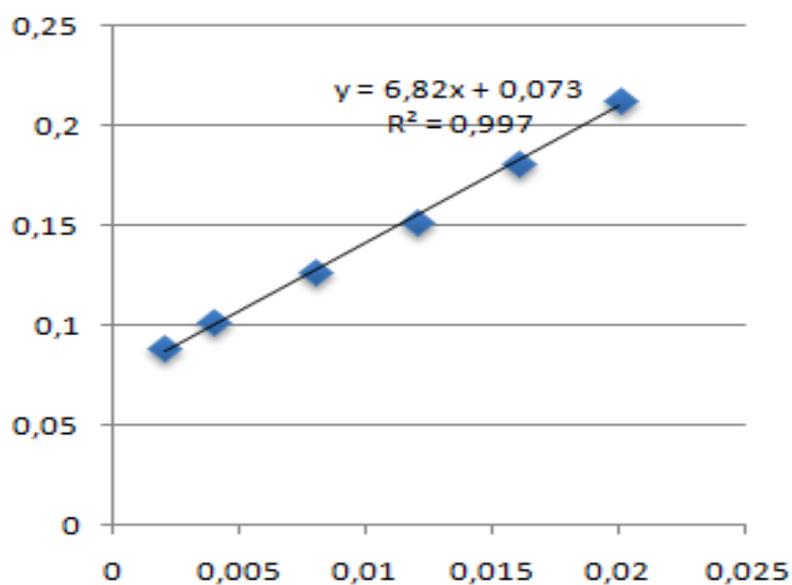


Figure 15 : Courbe étalon du dosage des flavonoïdes (quercétine comme standard)

2.3. Tests de sensibilité antimicrobienne :

2.3.1. Réactivation des souches:

Les différentes souches bactériennes sont repiquées à partir du milieu de conservation sur milieu de culture solide, non sélectif (Gélose Nutritive) : La Gélose Nutritive est fondue au bain marie puis coulée dans des boîtes de pétri. Les boîtes sont ensuite refroidies et séchées pendant 20 minutes avant d'être ensemencées, puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures.

Les souches fongiques sont repiquées dans la gélose Sabouraud et incubées pendant 48 heures pour *Candida albicans* à 37°C, et 5 jours pour *Aspergillus niger* à température ambiante.

2.3.2. Préparation de l'inoculum bactérien:

A partir des cultures jeunes (18-24h), 1 à 2 colonies pures sont prélevées à l'aide d'une anse en platine stérilisée avant le prélèvement de chaque souche bactérienne et après chaque opération de prélèvement. Pour préparer l'inoculum bactérien, Ces colonies sont dissociées dans un tube à essai stérile avec 3 ml d'eau physiologique stérile (une suspension en solution saline stérile (0,9% NaCl). La suspension est soigneusement homogénéisée.

La turbidité de la suspension est ajustée à 0.5 Mc Farland équivalent de 0.08 à 0,13 lue à 625nm au spectrophotomètre.

2.3.3. Antibiogramme :

L'antibiogramme est réalisé pour les souches bactériennes à titre préliminaire.

Listes des disques antibiotiques utilisés :

- | | |
|--------------------------------------|--------------------------------------|
| - Tétracycline (TE) | - Colistin(C) |
| - Amoxicilline-ac.clavulanique (AMC) | - Streptomycine (S) |
| - Amikacine (AK) | -Trimethoprim-sulfamethoxazole(SXT), |
| - Kanamycine (K) | - Erythromycine (E). |
| - Ampicillin (AMP) | - Gentamicin (GM) |
| - Ciprofloxacin (CIP) | - Aztreonam (AZ) |

Technique :

La gélose Mueller Hinton est fondue au bain marie puis coulée dans des boîtes de pétrie, après dessèchement Les boîtes de pétrie (90mm) sont ensuite ensemencées par étalement à l'aide d'un écouvillon stérile selon la méthode de Kerby. En suite les disques antibiotiques sont déposés à la surface de gélose avec légère pression sur chaque disque.

Les boîtes de pétri sont fermées après chaque opération puis renversées et mises en incubation dans un étuve à 37°C pendant 24 heures.

Après cette période d'incubation, les boîtes sont retirées pour faire la lecture, les zones d'inhibition sont mesurées à l'aide d'un pied à coulisse.

2.3.4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI):

La CMI est par définition la plus petite concentration qui inhibe le développement visible des microorganismes.

Méthode :

la méthode utilisée est l'incorporation sur milieu gélosé de Mueller Hinton (Hegazi, 2011), et le milieu Sabouraud pour *Aspergillus niger* (Kacaniova *et al.*, 2012).cette méthode se caractérise par une grande sensibilité .

a. Détermination de la CMI du miel :

Le miel est incorporé v/v dans le milieu de culture selon des concentrations croissantes: de 5 à 30%.

Ensuite le volume de milieu est complété à 5 ml dans des tubes à essai. La température de milieu doit être 40-45°C. Après agitation au vortex pendant 10-15 secondes jusqu' à l'homogénéisation, le milieu est coulé dans des boîtes de pétrie stériles de 60mm et laissé sécher.

b. Détermination de la CMI de la propolis :

La propolis est incorporée au milieu de culture sous forme de poudre très fine p/v (poids/volume) selon des concentrations croissantes: de 1 à 20 mg/ml.

Ensuite le volume de milieu est complété à 5 ml dans des tubes à essai. Après agitation au vortex pendant 10-15 secondes jusqu' à l'homogénéisation, le milieu est coulé dans des boîtes de pétrie stériles de 60mm et laissé sécher.

Les boîtes sont conservées 24H à 4°C avant d'êtresensemencées pour permettre au propolis de bien diffuser ses composants actives (Rahman *et al.*, 2010).

c. Détermination de la CMI de la gelée royale :

La gelée royale est incorporée v/v au milieu de culture selon des concentrations croissantes : de 1 à 5% dans un volume totale de 5ml.

La gelée royale est très sensible à la chaleur et s'altère rapidement. Avant l'incorporation la température de milieu doit être 40-45°C. Après agitation au vortex pendant 10-15

secondes jusqu' à l'homogénéisation, le milieu est coulé dans des boites de pétrie stériles de 60 mm et laissé sécher.

2.3.5. Inoculum fongique :

La même procédure pour préparer l'inoculum de *Candida albicans* que l'inoculum bactérien.

Pour l'inoculum d'*Aspergillus niger* : à partir d'une culture de 5 jours, les spores sont récupérées par l'addition d'eau physiologique stérile, et à l'aide d'une anse en platine en gratte légèrement la surface de la gélose, ensuite la suspension est filtrée à l'aide d'un papier filtre pour écarter les hyphes. La suspension (contient les spores) est soigneusement homogénéisée, et la turbidité est ajustée à 0.5 Mc Farland.

2.3.6. Ensemencement :

Les boites de pétrie incorporées des substances à tester à différentes concentrations sont ensemencées en utilisant un écouvillon stérile et à partir de l'inoculum, L'écouvillon est imbibé de la suspension bactérienne ou fongique puis essoré contre la paroi interne du tube. L'ensemencement se fait par des stries serrées, de haut en bas et l'opération est répétée trois fois, en tournant la boite de 60° à chaque fois. L'écouvillon est par la suite passé sur toute la périphérie de la gélose.

Il faut débiter l'ensemencement par la boite témoin ensuite de la plus petite concentration vers la plus grande concentration.

Les boites de pétri sont fermées après chaque opération puis renversées et mises en incubation dans un étuve à 37°C pendant 24 heures pour les souches bactériennes et pendant 48 heures pour *Candida albicans* et 5 jours à température ambiante pour *Aspergillus niger*.

La détermination des CMI est réalisée en Triplicata.

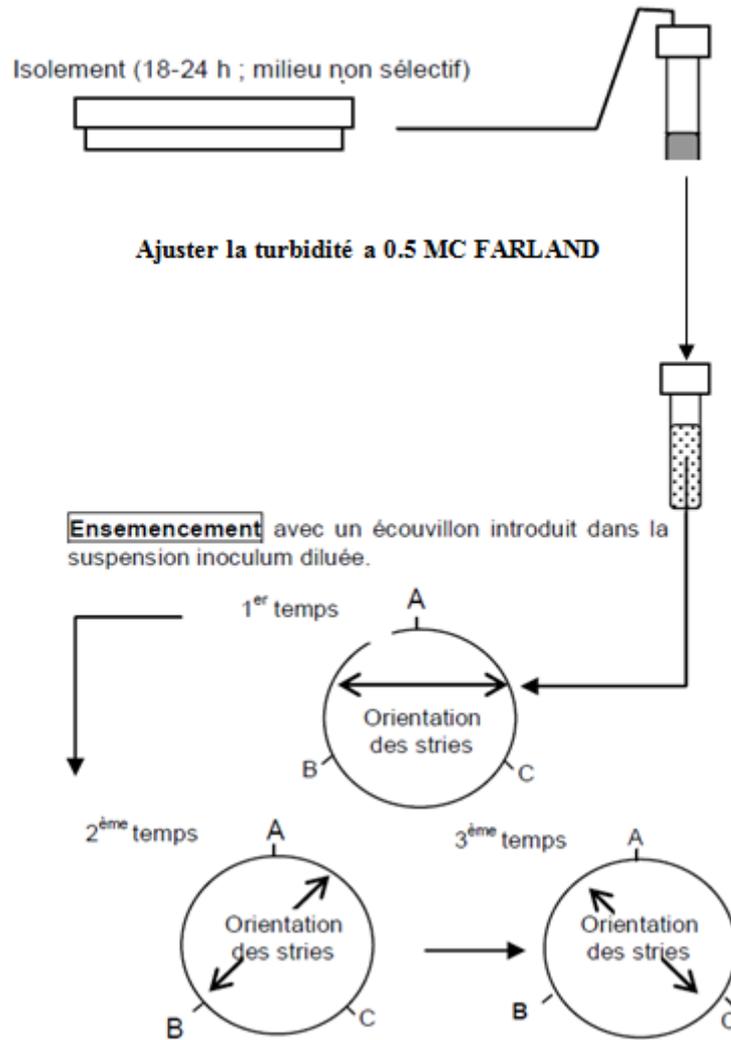


Figure 16 : Représentation schématique des étapes d'ensemencement.

Résultats et Discussion

Résultats et Discussion :

1. confirmation des souches :

Les souches testées ont été confirmées (*S.aureus*, *E.coli*, *P.aerogenosa*, *C.albicans*, *A.niger*).

2. Mesure du pH :

Les résultats de mesure du pH montrent un pH acide des trois miels, les valeurs sont :

4.05± 0.06, 3.96± 0.01, 3.72± 0.02 pour les échantillons M1, M2, M3 respectivement.

Les miels de nectar ont un faible pH (de 3,3 à 4.5) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (Pesenti et al., 2008). Le pH acide du miel dépend de la quantité d'acide gluconique produite par l'enzyme glucose-oxydase lors de l'oxydation du glucose. D'autres composés comprennent les acides non aromatiques et aromatiques, respectivement. Il a été également suggéré que les acides phénoliques sont présentés en grande quantité dans les miels sombres qui contribuent à leurs acidités (Alvarez, 2010).

Ibrahim et al., (2012), indiquent que le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne.

Le pH du miel est suffisamment bas pour inhiber la croissance de nombreuses espèces de bactéries (Malika et al., 2005). Les valeurs minimales de développement de quelques bactéries pathogènes communes sont :

E.coli (4.3), *P.aeruginosa* (4.4), *S.pyogenes* (4.5), *Salmonella spp* (4) (O'Grady et al., 1997).

3. Teneur en eau :

La teneur en eau des échantillons de miel est représenté dans le tableau suivant :

Tableau 4 : teneur en eau des trois échantillons de miel.

Echantillon de miel	Teneur en eau en %
M1	18.06
M2	17.8
M3	17.2
Moyenne ± sd	17. 68 ±0.36

On constate que les échantillons de miel étudiés ont une teneur en eau qui varie entre 17 et 18%. Ces valeurs se situent dans les normes internationales de *Codex Alimentarius* (2001) et qui ne dépasse pas 20% en général.

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

Le miel est une solution de sucre sursaturée avec une faible activité de l'eau, ce qui signifie qu'il n'y a pas assez d'eau disponible pour soutenir la croissance des bactéries et levures (Malika *et al.*, 2005).

D'après Zerrouk *et al.*, (2011), l'eau et la teneur en sucre du miel sont strictement corrélées. La teneur en eau dépend de divers facteurs tels que la saison de récolte, le degré de maturité atteint dans la ruche et les facteurs climatiques.

Les résultats de notre étude sont en accord avec l'étude effectuée par Amrouche et Kessi, (2003) sur les miels algériens qui a révélé des valeurs comprises entre 15 et 22,6 % avec une moyenne de 17,68 %. Bogdanov *et al.*, (2008) indiquent que la teneur en eau de miel varie entre 15 de 20 %.

4. Teneur des polyphénols totaux du miel :

La teneur des polyphénols totaux des échantillons de miel a été déterminée par la méthode de **Folin Ciocalteu** (adapté par Singleton et Ross, 1965) qui 'est largement utilisée pour évaluer les composés phénoliques totaux. Le réactif de Folin peut réagir avec d'autres composés réducteurs non-phénoliques et conduire à une surévaluation du contenu phénolique. Autres substances réductrices telles que certains sucres et acides aminés pourraient aussi interférer avec le test (Chouia, 2014).

Le tableau 5 montre les résultats de dosage de polyphénols des trois échantillons de miel :

Tableau 5: teneur en polyphénols totaux en mg EAG/ 100g de miel.

Echantillon de miel	Concentration des polyphénols
M1	50.25±0.05
M2	62.13±0.07
M3	51.58±0.08
moyenne ± SD	54.66±0.05

SD : standard déviation.

La valeur moyenne de la teneur en polyphénols trouvée pour les trois échantillons de miel algérien est de 54.66 ± 0.05 mg EAG/ 100g de miel, ces résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Ibrahim *et al.*, (2012) qui' ont trouvé que la concentration moyenne de polyphénols pour 4 échantillons de miel algérien a été établi à $459,83 \pm 1,92$ mg EAG/ kg. Par contre nos résultats sont inférieurs aux résultats obtenus par Beretta *et al.*, (2005) qui ont montré une teneur en polyphénols de miel qui varie de 55 à 800 mg EAG /kg selon leur origine botanique avec une teneur en polyphénols D'arbousier estimé à $789,6 \pm 13,8$ mg EAG/ kg. Saric *et al.*, (2012) déterminent que la valeur du contenu phénolique total du miel multifloral varie entre 141,14 et 247,81 mg EAG/ Kg avec la valeur moyenne de 201,14 mg EAG/ kg du miel, ce qui est inférieur à nos résultats.

Les résultats de notre étude sont similaires au miel multifloral de Matopolska de Poland (Aleksandra, 2010) avec une teneur phénolique estimé à 53.05 mg EAG/ 100g de miel. Les polyphénols sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes et constituent un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. Ils sont naturellement présents dans notre alimentation (fruits, légumes, céréales, thé, café, etc.) sous différentes formes telles que les flavonoïdes et les acides phénoliques, les stilbènes et les lignanes (Manach *et al.*, 2004; Pyrzynska *et al.*, 2009).

La composition polyphénolique des miels peut fortement varier en fonction de la source butinée ainsi qu'en relation avec les conditions géographiques et climatiques (Amiot *et al.*, 1989; Gheldof *et al.*, 2002a, 2002b; Yao *et al.*, 2003; Beretta *et a.*, 2005; Dong *et al*, 2013).

Les polyphénols manifestent de nombreuses propriétés bénéfiques telles des propriétés antiseptiques, anti-inflammatoires et antioxydantes (Hollman *et al.*, 1996 ; Al-Mamary *et al.*, 2002 ; Heim *et al.*, 2002 ; Vela *et al.*, 2007 ; Estevinho *et al.*, 2008 ; Percie du Sert, 2009 ; Uthurry *et al.*, 2011).

5. Teneur des Flavonoïdes totaux du miel :

Les résultats de dosage des Flavonoïdes des échantillons étudiés sont représentés dans le tableau 6.

Tableau 6 : teneur en Flavonoïdes en mg EQ/100g du miel :

Echantillon de miel	Concentration en Flavonoïdes
M1	18.21 ± 0.01
M2	27.66 ± 0.15
M3	22.75 ± 0.1
Moyenne \pm SD	22.87 ± 0.03

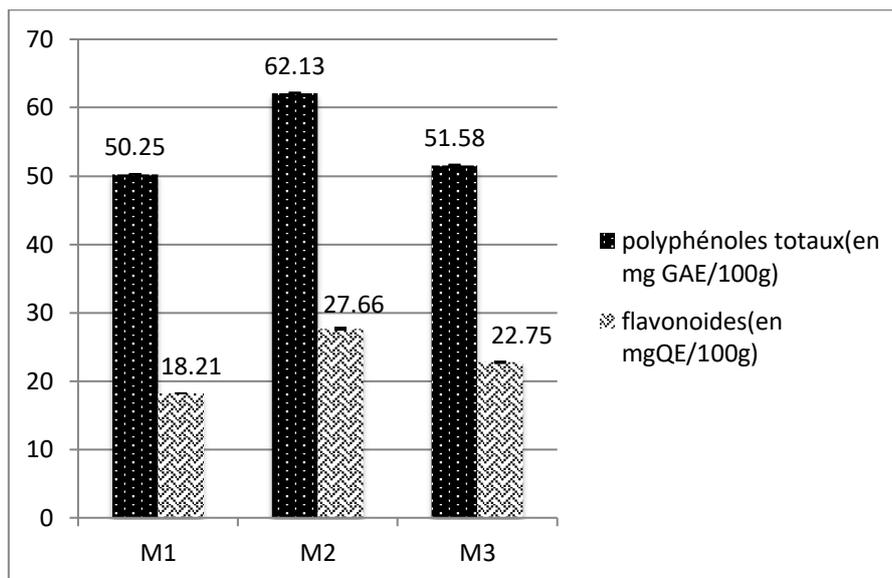


Figure 17 : Corrélation de la Teneur en polyphénols et flavonoïdes.

Du Figure 17 on observe qu'il y a une corrélation positive entre le taux de flavonoïdes et le taux des polyphénols.

La teneur en flavonoïdes des trois échantillons de miel algérien varie entre 18.21 à 27.66 mg EQ/100g de miel avec une valeur moyenne de 22.87 ± 0.03 mg EQ/100g.

Ces résultats sont similaires à ceux obtenus par Saric *et al.*, 2012, Ces derniers déterminent les valeurs initiales de la teneur en flavonoïdes totaux du miel multifloral qui varient de 19.92 à 28.65 mg EQ/100 g par rapport à la valeur moyenne 25.37 mg EQ/100g.

Les flavonoïdes sont des composés phénoliques de faible poids moléculaire, ce sont généralement de puissants antioxydants ; certains de ces composés présentent en effet une activité jusqu'à 200 fois supérieure à celle de la vitamine E (Percie du Sert, 2009).

Nos résultats sont supérieurs au miels de Roraima du Brésil, avec une teneur moyenne en flavonoïdes estimé de 27.52 mg EQ/kg, et une teneur maximale de 48.6 mg EQ/kg de miel (Pontis *et al.*, 2014).

Récemment, dans les miels de divers pays d'Europe, Tomas-Barberan *et al.*, (2001) ont identifié des composés typiques de la propolis : deux flavanones (pinobanksine et pinocébrine), cinq flavones (chrysin, galangine, techtochrysin, pigénine et genkwanine), la quercétine, des oxydes de méthyl-kaempférol, et des esters de l'acide caféique. Les concentrations de ces derniers dépendent du taux de propolis dans le miel (Yin Yang, 2014).

6. Résultats de l'antibiogramme :

Les résultats sont représentés dans le tableau suivant (diamètre des halos d'inhibition en mm):

Tableau 7 : Résultats d'antibiogramme (CLSI, 2014).

antibiotique	Charge de disque (µg)	<i>E.Coli</i>		<i>S.aureus</i>	<i>P.aerugenosa</i>
SXT	1.25/23.75	26	S	/	/
TE	30	07	R	29	/
AMC	20/10	00	R	/	/
K	30	19	S	22	/
AZ	30	20	I	/	25
S	10	13	I	17	/
CIP	5	15	R	/	/
AMP	10	12	R	28	/
AK	30	/	/	24	21
E	15	/	/	28	/
GM	10	/	/	/	20
C	10	/	/	/	16

- Trimethoprim-sulfamethoxazole(SXT), Tétracycline (TE), Amoxicilline-ac.clavulanique (AMC), Kanamycine (K) Aztreonam (AZ), Streptomycine (S), Ciprofloxacine(CIP), Ampicilline (AMP), Amikacine (AK), Erythromycine (E), Gentamicine (GM), Colistin(C) .

-**Susceptibilité :** S (sensible), R (résistante).

N.B : Pour les souches ATCC (*S.aureus* et *P.aerugenosa*) seulement le diamètre de la zone d'inhibition est mentionné.

On note qu'*E.coli* enregistre un taux de résistance estimé à 50% aux antibiotiques testés. Le phénomène de l'antibio-résistance se développe avec fréquence élevée dans le monde entier, et par conséquent l'efficacité des antibiotiques diminue. Ce problème touche même les antibiotiques de premier rang, et cela constitue une menace à la santé publique (Deb Mandel et Mandel, 2011).

7. concentrations minimales inhibitrices CMI du Miel :

Nous avons déterminé les CMI des souches bactériennes et fongiques par la méthode d'incorporation en milieu gélosé, qui implique l'incorporation de la substance testée (v/v) à différentes concentrations. Les résultats des tests de sensibilité antibactériens et antifongiques de miel (Cf photos annexe 01) sont mentionnés dans le tableau suivant :

Tableau 8: CMI de miel en (%) :

	<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
M1	23	25	15	35	55
M2	17	12	12	35	50
M3	7	6	7	30	53

Du tableau 08 on note une activité antimicrobienne variable des trois échantillons de miel, qui varie entre 6% à 55%.

Les souches bactériennes sont plus sensibles à l'action de miel que Les souches fongiques, leurs CMI varient de 6 à 25%. Alors que les souches fongiques sont moyennement sensibles, avec des CMI qui varient de 30 à 55%.

Aspergillus niger présente les CMI les plus élevées estimées de 50 à 55%, ce qui signifie que c'est la souche la moins sensible au miel parmi toutes les souches utilisées dans les tests.

Pseudomonas aeruginosa est la souche la plus sensible avec des CMI qui varient de 7 à 15%.

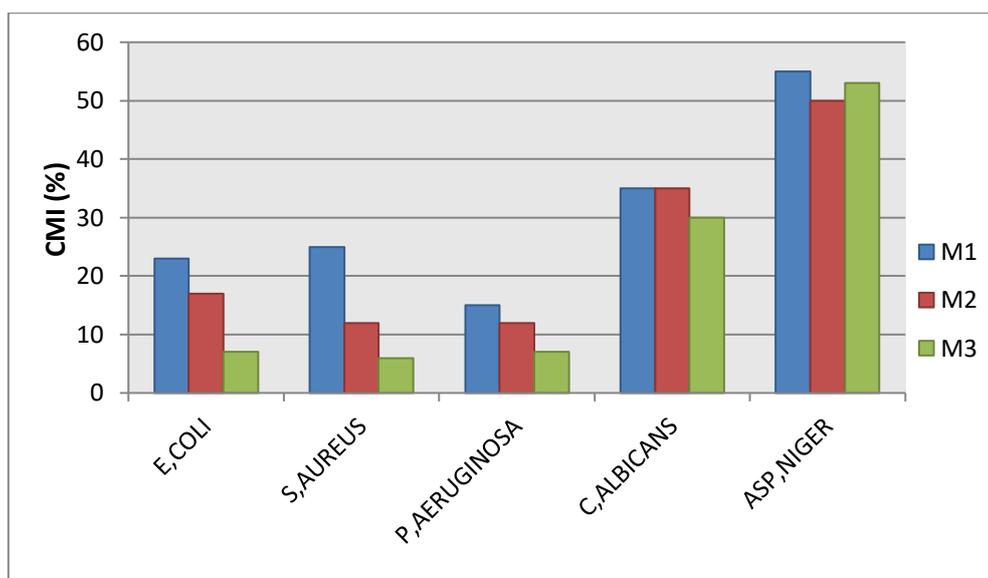


Figure 18 : variation de l'effet antimicrobien des trois échantillons de miel.

8. Concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la propolis :

L'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique de la propolis a été réalisée par la méthode d'incorporation en milieu gélosé, on a incorporé une poudre très fine de propolis P/V, selon des concentrations croissantes. les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 9 : CMI de propolis en mg/ml.

<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>C. albicans</i>	<i>A. niger</i>
20	0.7	22	4	00

La sensibilité des différentes souches à la propolis diffère d'une souche à une autre (photos annexe 01) :

S. aureus est très sensible à l'effet de propolis, *C. albicans* est sensible et par contre les souches gram-négative (*E. coli* et *P. aeruginosa*) sont moins sensibles que *S. aureus*.

A. niger est résistant.

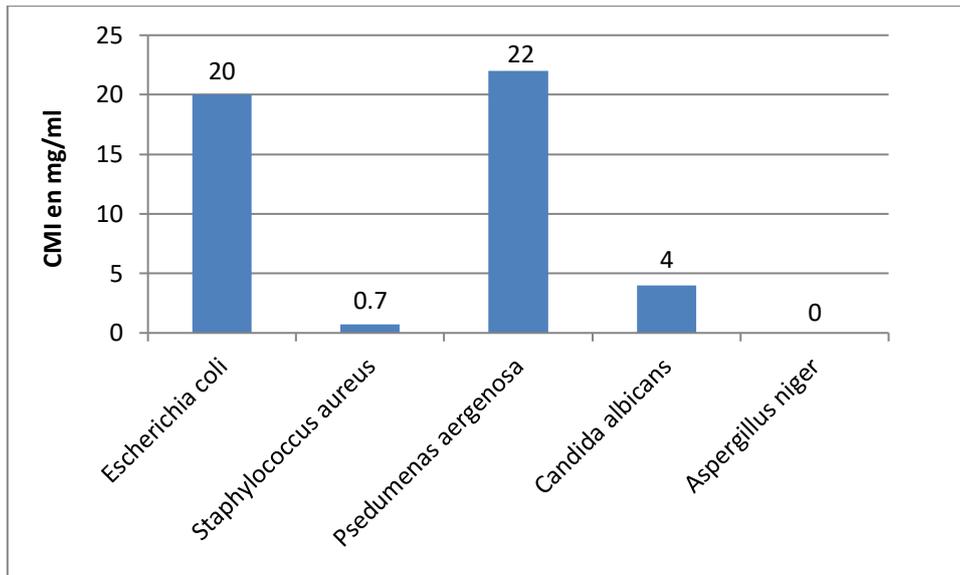


Figure 19 : variation de la CMI de propolis.

9. concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la gelée royale :

L'évaluation de l'effet antibactérien et antifongique de la gelée royale a été réalisée par la méthode d'incorporation en milieu gélosé, selon des concentrations croissantes. Les résultats sont représentés dans le tableau suivant :

Tableau 10: CMI de la gelée royale en (%) :

<i>E.coli</i>	<i>S.aureus</i>	<i>P.aeruginosa</i>	<i>C.albicans</i>	<i>A.niger</i>
4	1.5	5	4	14

Selon le tableau 10 toutes les souches testées sont sensibles et sont inhibées par la gelée royale, avec variations des CMI entre les souches.

Aspergillus niger est le plus résistant (CMI 14%), *Staphylococcus aureus* est la plus sensible parmi toutes les souches (CMI 1.5%).

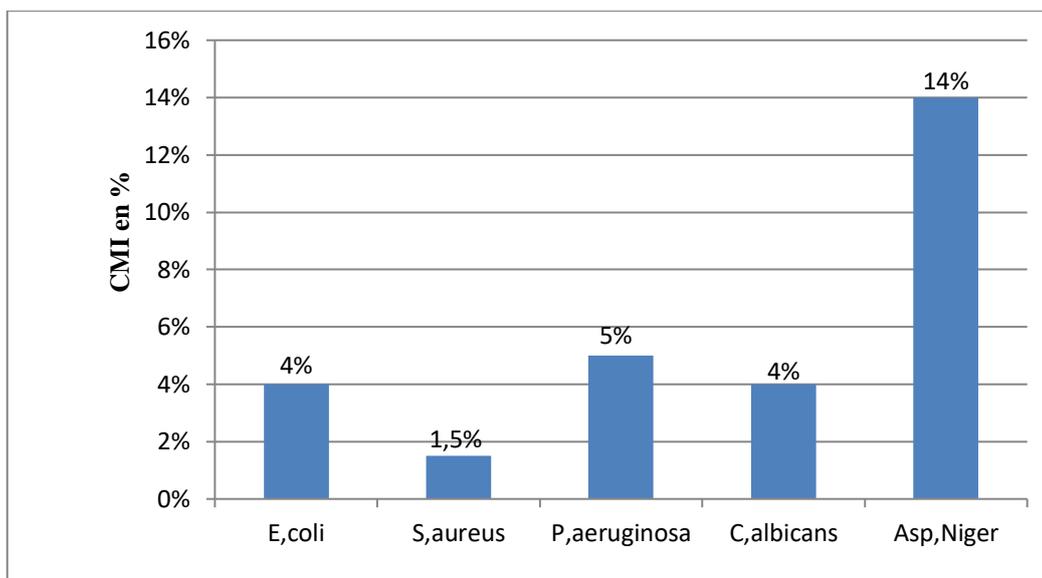


Figure 20 : variation de la CMI de la gelée royale.

10. Discussion :

Plusieurs études ont rapporté l'effet antimicrobien du miel. Ses propriétés antibactériennes sont connues depuis plus de cent ans et ont été étudiées intensivement au cours des vingt dernières années (Jones, 2001; Molan1992). L'intérêt du miel réside non seulement dans le fait qu'il est efficace contre des bactéries Gram+ et Gram- mais également parce que son mode d'action sur les bactéries met en jeu plusieurs mécanismes, qui limitent les possibilités de développement de résistances par les bactéries.

Tous les miels utilisés montrent un effet antibactérien et antifongique, avec des variations entre un échantillon et l'autre.

Les souches bactériennes utilisées montrent une grande sensibilité envers les miels utilisés (CMI 6 à 25%). Les souches fongiques montrent une sensibilité moyenne envers les trois échantillons de miel.

L'activité antimicrobienne de miel varie avec des concentrations de 3-50% (Hegazi, 2011 ; Lusby *et al.*, 2005; French *et al.*, 2005).

L'effet antimicrobien de miel varie selon la concentration du miel et la nature de la bactérie (Adeleke *et al.*, 2006; Deb Mandal et Mandal, 2011).

L'activité antimicrobienne du miel est due à plusieurs propriétés de ce dernier ,d'abord à son effet osmotique (Molan, 1992), à son pH acide (Deb Mandal et Mandal, 2011) non

favorable à la multiplication des germes pathogènes ,sa teneur en peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Halliwell et Cross, 1994; Assie, 2004), et des substance non peroxydes comme methylglyoxal (MGO)(Weston RJ, 2000 ; Deb Mandal 2011), ainsi qu'à la présence de composés phénoliques (White et Subers, 1963; Alvarez-Suarez *et al.*, 2010), et la présence de substance phytochimiques (Molan et Russel, 1988; Yao *et al.*, 2003) .

Une étude publiée en 2010 (Kwakman *et al.*, 2010) a permis de mettre en évidence l'activité antibactérienne de la défensine-1(peptide secrétée par les abeilles) ,après neutralisations successives des facteurs bactéricides déjà connus dans le miel.

Brudzynski et Sjaarda, (2015) attribuent l'activité antibactérienne du miel à des glycoprotéines qui ciblent la membrane bactérienne et provoquent par une liaison spécifique l'agglutination des bactéries, et aussi une perméabilisation non spécifique de la membrane, des modifications de la forme bactérienne (apparition des filaments et spheroplasts) concentration- et temps-dépendantes sont caractéristique de l'inhibition de la croissance microbienne.

On constate que l'échantillon M3 est le plus efficace avec des CMI de 6-7% pour les souches bactériennes et 30-53% pour les souches fongiques .selon Molan, (1992), le peroxyde d'hydrogène est le facteur antimicrobien majeur et la différence de concentration de ce composant entre les différents miels contribue à la variabilité de l'effet antimicrobien du miel. De même la variation de l'activité antimicrobienne du miel dépend de son origine géographique, de la saison et de la source botanique butinée par l'abeille mais aussi des traitements qu'il a subit et des conditions de stockage et de la conservation, qui peuvent affecter son activité antimicrobienne (Molan et Cooper, 2000).

Sachant que Les facteurs physicochimiques et la teneur en polyphénols du miel impliqués dans l'effet antimicrobien présentent des variations peu significatives, on pense que M3 (récemment récolté: 2016), sa composition est moins changée et moins altérée surtout la glucose-oxydase. M1 et M2 sont récoltés en 2015 et les conditions de conservations sont moins connues jusqu' à l'obtention et le stockage a notre niveau.

Les miels foncés ont une activité inhibitrice plus élevée (Bogdanov et Blumer, 2001). Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) est un facteur antimicrobien prédominant, il est synthétisé par la glucose-oxydase secrété par l'abeille, et dégradé par le catalase.

La plus part des types de miels génèrent le H₂O₂ quand ils sont dilués à cause de l'activation de l'enzyme glucose-oxydase qui transforme la glucose en acide gluconique et

H₂O₂ (Weston *et al.*, 2000).la glucose-oxydase se détruit facilement par chauffage ou la lumière.

Les facteurs antimicrobien du miel peuvent agir indépendamment ou en synergie contre les germes et empêchent le risque de la résistance bactérienne (Deb Mandal et Mandal, 2011).

Des études de laboratoire révèlent que le miel est efficace contre les MRSA, les streptocoques hémolytiques et les entérocoques vancomycinrésistant (VRE) (Allen *et al.*, 2000). Ainsi que le miel naturel non chauffé est active contre les bactéries impliquées dans les intoxications alimentaires (Nedji, 2011) et les infections gastriques dues à : *Helicobacter pylori*, *Salmonella typhi*, *E.coli*, et aussi les infections chroniques des plaies et infections nosocomiales (Deb Mandal et Mandal, 2011).

Nos résultats sont proches de ceux obtenus par Bourabah *et al.*, (2014) pour les souches bactériennes avec des CMI de 11-13%, et similaires avec les résultats obtenus par AL-Waili *et al.*, (2012) pour *C.albicans* avec CMI 30% mais inférieurs pour *E. coli* et *S.aureus* (CMI 30%). Boukraâ et Bouchegrane, (2007); reportent des CMI pour *C.albicans* de l'ordre de 42-46% v/v ce qui est supérieurs à nos résultats, alors qu'ils ont déterminé des CMI de 51 et 59% pour *Aspergillus niger*, ce qui est proche de nos résultats. Nos résultats sont similaires à ceux obtenus par Moussa *et al.*, (2011) pour *Aspergillus niger* avec des CMI de 53-57%.

Les CMI obtenues dans notre étude sont supérieurs à ceux obtenus par Omayya et Akharaiyi, (2010), (CMI: 4-5% v/v) pour les souches bactériennes.

La CMI du miel de Tualang est de l'ordre de 8.75% - 25%, et le miel de Manuka 8.75% - 20% contre plusieurs germes pathogènes (Tan *et al.*, 2009).

De nombreuses études ont rapporté l'effet antibactérien et antifongique de la propolis (Grange & Davey, 1990 ; Silici et Kutluca, 2005; Oliveira *et al.*, 2006; Rahman *et al.*, 2010, Al-Waili *et al.*, 2012; Astani *et al.*, 2013).

Buchta *et al.*, (2011) rapportent que la propolis brute a un effet antifongique.

L'effet antimicrobien de la propolis est dû à ses composants qui sont la plupart du temps de nature phénolique, principalement les flavonoïdes (galangine, pinocembrine, pinobanksine), les acides phénoliques (ferrulique, p-coumarique, caféique) et leurs esters qui constituent des agents antimicrobiens actifs (Bankova *et al.*, 1996; Boukraâ et Sulaiman, 2009),mais aussi les dérivés des benzophenones, les diterpenes (Kujumgiev *et*

al., 1999). Ces effets varient selon la souche étudiée, l'origine de la propolis, sa dose, et le solvant utilisé (Ugur et Arslan, 2004).

La propolis est principalement active sur les bactéries gram-positives et moins efficace ou parfois inefficace sur les bactéries gram- négatives (Marcucci, 1995, Stepanović *et al.*, 2003; Silici et Kutluca, 2005).

Certains auteurs pensent que les bactéries gram -négatives sont faiblement sensibles à l'effet de propolis à cause de la présence de pompes à efflux au niveau de membrane bactérienne qui empêche la pénétration des constituants actifs de la propolis ou assure leurs expulsion à l'extérieur de la cellule bactérienne, ou parce que la propolis contient beaucoup de substances phytochimiques issues des plantes et qui sont plus efficaces essentiellement contre les bactéries gram positives (Garedew *et al.*, 2004).

Généralement les extraits des plantes sont plus efficaces contre les bactéries gram positives que les bactéries gram négatives (Rahman *et al.*, 2010).

Le mode d'action de la propolis est moins connu, les mécanismes impliqués sont : La désorganisation du cytoplasme, l'attaque de la membrane cytoplasmique, l'inhibition de la division cellulaire, inhibition des enzymes bactériens et de la synthèse des protéines, et l'inhibition de l'ARN polymérase bactérien (Takaisi-Kikuni et Schilcher, 1994).

Rahman *et al.*, (2010) ont étudiés l'effet antibactérien de la propolis canadienne par la technique d'incorporation en milieu liquide sans utiliser l'extraction alcoolique et ils ont obtenu une CMI de 2.74 mg/ml pour *S.aureus* ce qui est supérieur à notre résultat(0.7mg/ml), et une CMI de 5.48mg/ml pour *E.coli* (20mg/ml) ce qui est inférieur à notre résultat.

Autres études utilisant la méthode d'incorporation d'EEP (Extrait Ethanologique de Propolis) avec des CMI variables représentés dans le tableau 11.

Tableau11 : CMI en mg/ml de propolis de différentes régions du monde :

origine	CMI	germe	références
République de CZECH	0.15-1	<i>S.aureus</i>	Astani <i>et al.</i> , (2013)
	0.13-1.2	<i>C.albicans</i>	
MILA et JIJEL(ALGERIE)	0.08-0.2	<i>S.aureus</i>	Segueni <i>et al.</i> , (2014)
	0.1-1.1	<i>E.coli</i>	
	0.1-1	<i>P.aeruginosa</i>	
BRAZIL	1.25	<i>S.aureus</i>	Lupatini noqueira <i>et al.</i> , (2016)
TURKEY	0.075	<i>C.albicans</i>	Arslan <i>et al.</i> , (2011)
BRAZIL (sao paulo)	0.38	<i>S.aureus</i>	FERNANDES JR <i>et al.</i> , (2001)
	12.05	<i>E.coli</i>	

Du tableau 11 on constate que nos résultats sont proches des résultats de Astani *et al.*, (2013), Lupatini noqueira *et al.*, (2016), Fernandes jr *et al.*, (2001).

Beaucoup de gens préfèrent les produits dépourvus de l'alcool, c'est dans ce cadre qu'on a utilisé la propolis sans extraction alcoolique.

Aspergillus niger est résistant, aux concentrations testées (jusqu' à 60mg/ml), cela est peut être due qu'il nécessite des concentrations plus élevées pour être inhibés, ou il est insensible à l'échantillon de propolis testé.

Buchta *et al.*, (2011) déterminent que la propolis brute montre *in vitro* une activité antifongique inférieure que leurs extraits.

De nombreux auteurs ont rapporté l'effet antibactérien et antifongique de la gelée royale : Boukraa, (2008), Dinkov et Stoyanchev, (2014, Dinkov *et al.*, (2016), Garcia *et al.*, (2013), Moselhy *et al.*, (2013).

La variation d'effet inhibiteur de la gelée royale observée entre les différentes souches, peut être reliée aux composants de la gelée Royale, associée à l'origine géographique et la variabilité génétique des abeilles (Moselhy *et al.*, 2013).

Les résultats de notre étude sont proches de ceux obtenus par Boukraa *et al.*, (2009) qui ont obtenu des CMI de 1.7 % et 2 % pour *S.aureus* et *E.coli* respectivement, et similaires à celle obtenu par Boukraa (2008) avec une CMI de 4% pour *P.aeruginosa*.

Nos résultats sont inférieurs à ceux obtenus par Dinkov *et al.*, (2016) avec des concentrations de 20-30 % pour les MRSA.

Moselhy *et al.*, (2013) déterminent des CMI de l'ordre de : 15.63-500 µg/ml pour *Staphylococcus aureus*, et 500 µg/ml contre *Escherichia coli*, et des CMI 62.5-125 µg/ml contre *Candida albicans*, 62.5 µg/ml et 125 µg/ml contre *Aspergillus niger* pour la gelée royale égyptienne et chinoise respectivement.

La gelée Royale est une mixture complexe hétérogène de sucres de nectar, de protéines (surtout les MRJP), et des sécrétions glandulaires des jeunes abeilles ouvrières, c'est une émulsion de protéines et carbohydrates et lipides et autres composants hydrosolubles.

Les composants impliqués dans l'activité antimicrobienne de la gelée royale sont un peptides nommé la Royalisine qui possède un effet antibactérien contre les bactéries gram-positive (Boukraa, 2008), en plus des acides gras : l'acide trans-10-hydroxy-2- decenoïque (10HDA) et l'acide 3- hydroxydodecanoïque , l'acide 11- oxododecanoïque, et l'acide 11-S-hydroxydodecanoïque (Boukraa, 2008; Moselhy *et al.*, 2013, Garcia *et al.*, 2013; Dinkov *et al.*, 2016), en outre la gelée royale contient des peptides courts « les jelleines : I, II, III, IV» qui présentent un large spectre antimicrobien contre les bactéries gram-positives et gram-négatives et les levures (Boukraa, 2008, Dinkov *et al.*, 2016).

La gelée royale a un effet antimicrobien supérieur que celle du miel, et a montré une efficacité nettement supérieur contre les souches fongiques, le seul problème que c'est un produit fragile et rapidement altérable, selon Boukraa, (2008) l'addition de miel à la gelée royale le préserve et permet son stockage à température ambiante pour une durée plus longue.

Conclusion

Conclusion

Le miel, la propolis, la gelée royale d'origine algérienne ont montré un effet antibactérien et antifongique élevé *in vitro* contre les souches testées (*Staphylococcus aureus*, *Eschérichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans*, *Aspergillus niger*) qui sont des souches pathogènes.

L'analyse des paramètres physicochimiques de miel montre que le miel algérien a une valeur de pH et une teneur en eau qui sont en accord avec les normes internationales (*codex alimentarius*), et par conséquent il se conserve bien et garde ses propriétés nutritives et thérapeutiques.

En même temps la teneur en polyphénols totaux et les flavonoïdes du miel montre des valeurs élevées, ces substances sont très bénéfiques pour la santé et sont très forts antioxydants, et jouent un rôle dans l'activité antimicrobienne.

Le miel est connu depuis long temps pour son effet bénéfique sur la santé humaine et il sert comme un remède naturel, cependant la propolis et la gelée royale sont moins connues et par conséquent sont moins utilisées.

Dans notre étude on a trouvé que la gelée royale est plus efficace que le miel comme un agent antibactérien et antifongique contre les souches testées *in vitro*, et dans une étude précédente Boukraa, 2008 a trouvé qu' une association des deux produits a un effet additif contre *Pseudomonas aeruginosa* souche pathogène multi-antibio-résistante et la CMI des deux produits associés a diminué considérablement.

La propolis est une substance qui suscite beaucoup de recherches et intérêt des chercheurs du monde à cause de ses nombreuses vertus et sa richesse en polyphénols et en flavonoïdes. L'effet antibactérien (surtout contre les bactéries gram positives) et antifongique de la propolis doit être valorisé, ce produit peut être une alternative thérapeutique important.

L'industrie pharmaceutique en Algérie peut se servir des produits de la ruche et les présente sous forme d'un produit fini au consommateur algérien, sachant que la tendance générale des consommateurs dans le monde estime bien les produits naturels.

L'homme utilise ces produits depuis l'Antiquité à des fins nutritionnelles et thérapeutiques sans connaissances approfondies.

L'émergence des souches microbiennes multi-antibio-résistantes, phénomène qui a apparu avec l'invention et l'utilisation abusive des antibiotiques, constitue un défi aux

chercheurs qui multiplient leurs efforts pour trouver des solutions à ce phénomène qui menace la santé humaine et animale.

Le miel, la gelée royale, et la propolis doivent être le sujet de recherches approfondies pour les utiliser sur des bases scientifiques.

Ces produits issus de travail d'un petit insecte « l'abeille » cité dans le Coran peuvent être utilisés dans le traitement des plaies et les infections cutanées à germes sensibles avec un grand succès.

L'Algérie avec sa vaste superficie et sa végétation riche et diverse donne à ces produits de la ruche une importance thérapeutique pouvant servir d'alternatives aux traitements conventionnels ayant montré leurs limites.

Références Bibliographique

Références Bibliographique

- Adams CJ., Manley-Harris M., Molan PC. (2009) *The origin of methylglyoxal in New Zealand manuka (Leptospermum scoparium) honey* Carbohydr. Res. 2009 344(8):1050-1053.
- Adeleke OE, Olaitan JO, Okepekpe EI. (2006) .Comparative antibacterial activity of honey and gentamicin against Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. Annals Burn Fire Disasters; 19:n4.
- Aleksandra W (2010). Phenolic content and antioxidant Activity Of different types of polish honey – A SHORT REPORT polish journal of food and nutrition sciences Vol. 60, No. 4, pp. 309-313.
- Allen KL, Hutchinson G, Molan PC. (2000).The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. First World Healing Congress, Melbourne, Australia; 10-13.
- Al-Mamary, M., Al-Meeri,A., & Al-Habori,M.(2002).Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey.*Nutrition Research*, 22(9), 1041-1047.
- AL-Waili. NS, HAQ .A,(2004). Effect of honey on antibody production against thymus-dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. J Med Food 7:491–494.
- Al-Waili NS. (2005) .*Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of Staphylococcus aureus and Candida albicans* Arch. Med. Res. 36(1):10-13.
- AL-Waili N , Al-Ghamdi N; Ansari M J; Al-Attal Y; Salom K (2012).Synergistic Effects of Honey and Propolis toward Drug Multi-Resistant *Staphylococcus Aureus*, *Escherichia Coli* and *Candida Albicans* Isolates in Single and Polymicrobial Cultures Int.Jour. of Medical Sciences 9(9):793-800.
- Alvarez-Suarez J.M., Tulipani S., Díaz D., Estevez Y., Romandini S., Giampieri F., Damiani E., Astolfi P., Bompadre S., Battino M. (2010). Antioxidant and antimicrobial capacity of several monofloral Cuban honeys and their correlation with color, polyphenol content and other chemical compounds. *Food Chem. Toxicol.*, 48(8-9): 2490-2499.
- Amiot,M. J., Aubert,S., Gonnet,M., & Tacchini,M. (1989). Les composés phénoliques des miels : étude préliminaire sur l’identification et la quantification par familles.*Apidologie*, 20(2), 115-125.
- Amrouche L.et Kessi L., (2003)-Etude de la qualité physico-chimique de quelques miels. Mémoire. Ingénieur. U.S.T.H.B. ALGER. 49 p.

- Ansorge S., Reinhold D., Lendeckel U. (2003) *Propolis and some of its constituents downregulate DNA synthesis and inflammatory cytokine production but induce TGF-beta1 production of human immune cells* Z. Naturforsch C. 58(7-8):580-589.
- Anderson K.E., Sheehan T.H., Eckholm B.J., Mott B.M., DeGrandi-Hoffman G. (2011). An emerging paradigm of colony health: microbial balance of the honeybee and hive (*Apis mellifera*). *Insect. Soc.*, 58: 431-444.
- Arslan S, Ozbilge H, . Kaya E G, OzgurEr, (2011). In vitro antimicrobial activity of propolis, BioPure MTAD, sodium hypochlorite, and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans*. *Saudi Med J*; Vol. 32 (5).
- Assie B., (2004). *Le miel comme agent cicatrisant*. 79 p. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Médecine. Toulouse : Toulouse III.
- 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.
- Bae Y., Lee S., Kim SH. (2011) *Chrysin suppresses mast cell-mediated allergic inflammation: involvement of calcium, caspase-1 and nuclear factor- κ B* *Toxicol. Appl. Pharmacol.* 254(1):56-64.
- Banerjee, D., & Stableforth, D. (2000). The treatment of respiratory pseudomonas infection in cystic fibrosis : what drug and which way? *Drugs*, 60(5), 1053-1064.
- Bankova V., Marcucci MC., Simova S., Nikolova N., Kujumgiev A., Popov S. (1996) *Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis* Z. Naturforsch C. 51(5-6):277-80.
- 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.
- Beretta G., Granata P., Ferrero M., Orioli M., Facino R.M. (2005) Standardization of antioxidant properties of honey by a combination of spectrophotometric/fluorimetric assays and chemometrics. *Analytica Chimica Acta* 533 : 185-191.
- Biri M. (2010). *Tout savoir sur les abeilles et l'apiculture*. 7e éd. Paris : De Vecchi. 302 p.
- Blanc M. (2010) thèse docteur en pharmacie : Propriétés et usage médical des produits de la ruche Université De Limoges.
- Bogdanov S et Blumer.P (2001), propriétés antibiotique naturel de miel, centre suisse de recherche apicole.

- Bogdanov S and Peter G A, Stefan S, Theodore C. (2006) . USA, Apitherapy Consulting, BUCAREST, ROUMANIE., produits apicoles et santé, ALP forum , N° 41f ISSN 1661-0814 page 5.
- Bogdanov S., Jurend Ic T., Sieber R. Et Gallmann P., (2008). Honey for Nutrition and Health: aReview. American Journal of the College of Nutrition, 27, 677-689.
- Bogdanov S, Ruoff. K, oddo PL. (2004): physicochemical methods for the characterisation of unifloral honeys .apidologie 35. 17p.
- Bogdanov S. (1997): Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie 30 (7): 748-753.
- Bogdanov. S. Honey Composition. In : *Book of Honey* [en ligne]. (2011).
- Boukraa L. Niar A , benbarek H , benhanifia M (2008). *Addictive action of royal jelly and honey against Staphylococcus aureus*. J Med Food,.
- Boukraa .L . (2008). Additive Activity of Royal Jelly and Honey Against *Pseudomonas aeruginosa* Alternative Medicine Review Volume 13, Number 4,
- Boukraâ et Bouchehrane, (2007). Additive action of honey and starch against *Candida albicans* and *Aspergillusniger* Rev IberoamMicol 2007; 24: 309-311.
- Boukraâ L., Sulaiman SA. (2009) *Rediscovering the antibiotics of the hive* Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov. 4(3):206-13.
- Boukraa.L , Abdelmalek Meslem, , Mokhtar Benhanifia, , and Si Mohamed Hammoudi (2009). Synergistic Effect of Starch and Royal Jelly Against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, THE JOURNAL OF ALTERNATIVE AND COMPLEMENTARY MEDICINE Volume, pp. 755–757.
- Bourabah A. et al (2014) Antimicrobial activity of Algerian honey on subclinical mastitis pathogens isolated from goat's milk, *Veterinary World* 7(4): 248-252.
- Brudzynski K, Sjaarda C (2015) Honey Glycoproteins Containing Antimicrobial Peptides, Jelleins of the Major Royal Jelly Protein 1, Are Responsible for the Cell Wall Lytic and Bactericidal Activities of Honey. Jour.PLoS ONE 10(4): e0120238.
- 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.
- Bradabear.N., (2010) : Le rôle des abeilles dans le développement rural , Manuel sur la récolte la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles , Rome, ISSM 1020-9727,p100.
- 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).

- Buchta.v, Černý.j, Opletalová. (2011). In vitro antifungal activity of propolis samples of Czech and Slovak origin, Central European Journal of Biology 160-166.
- Buttel-Reepen HV. (1906). Apistica Beitragezur Systematik, Biologie, sowie zurgeschichtlichenund geographischen Verbreitung der Honigbiene(*Apis mellifera* L.), ihrer Varietaten und der ilbrigen *Apis*-Arten.MitteilWigen aus dem ZoologischenMuseum im Berlin, 3: 121-196.
- Caillas A. (1947).*Les produits de la ruche . le miel, la cire, la propolis*. L'auteur, 3e édition,.
- Caillas A. (1977) .*Si la gelée royale m'était contée*, Editions de la pensee moderne, Orleans,
- Calvo A, Guarro J, Suarez G, Ramirez C (1980) Air-borne fungi in the air of Barcelona (Spain). III. The genus *Aspergillus* Link. Mycopathologia 71 (1), 41-43.
- Caron D. M. (1999). Honey bee biology and beekeeping. *Wicwas Press*, LLC. Cheshire, CT. 355p.
- Catherine Branger, (2007), DCEM1, enseignement dirigé de bacteriologie, Univ. Paris7, faculté de medecine Denis Diderot.
- Chao, H., Chen, C., Chen, S. , & Chiu, C. (2006). Bacterial enteric infections in children : Etiology, clinical manifestations and antimicrobial therapy. *Expert Review of Anti-Infective Therapy*, 4(4), 629-638.
- Chan EWC, Lim YY, Wong.L F, Lianto F S et Lim K K.(2008).Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of gingerspecies. *Food Chem*, 109: 477-483.
- Chauvin R. *et al.* (1968) *Traité de biologie de l'abeille Tomes 1 et 2* Edition Masson & Cie, Paris, 566p.
- Chouia A, 2014. thèse de magistère en Biologie Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout.Univ Biskra.
- Clément H., (2002) : Guide des miels. Paris, Rustica, 64 p.
- Clémence. H ., (2005). le miel:de la source a la. therapeutique thèse de docteur en pharmacie, universite henri poincare – nancy1.
- Clément H. *et al.* (2009) *Le Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, Paris 528p.
- CLSI,2014.M100S Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing.26th ed
- Codex Alimentarius., (2001) -Programme Mixte Fao/Oms Sur Les Normes Alimentaires. Commission du Codex Alimentarius. ALINORM 01/25, 1-31.

- Cornuet J.M., Daoudi A., Mosshine E.H., Fresnaye J. (1988). Étude biométrique de populations d'abeilles Marocaines. *Apidologie*, 19: 355-366.
- Cuvillier Alexandre (2015). Thèse docteur en pharmacie :
Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire
Université de Lille 2.
- Dandiya P. C., Dobrowolski J. W., Naqui s. A. H., Sharma K.,
Shaukat A.S., Vohora S.B. (1991) *Antibacterial, antifungal, antiamebic,
antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products*, Journal of
Ethnopharmacology 35, Elsevier Scientific Publishers, Ireland.
- Deb Mandal Manisha, Shyamapada Mandal, (2011). Honey: its medicinal property and
antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed*; 1(2): 154-160.
- De Rodriguez G.O., De Ferrer B.S., Ferrer A and Rodriguez B. (2004). Characterization
of honey produced in Venezuela. *Food Chemistry*, 84: 599-502.
- Descottes. B., (2009): Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. *Phytothérapie*, vol.
7, n°2, p. 112-116.
- Dinkov.D and Todor Stoyanchev (2014) Antibacterial effect of Royal jelly, mix from
Royal jelly and rape honey (1:100), rape and oak honeydew honeys against *Escherichia
coli* (ATCC 25922) *African Journal of Pharmacy and Pharmacology* Vol. 8(11), pp. 321-
326.
- Dinkov.D, Stratev D, Balkanska R, Sergelidis D. (2016). Antibacterial Activity Of
Royal Jelly And Rape Honey Against Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*
Strains. *Journal of Food and Health Science*, 2(2): 67-73
- Djeridane A, Yousfi M, Nadjemi B, Boutassouna D, Stocker P, Vidal N. (2006).
Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic
compounds. *Journal of Food Chem* 97, pp. 654-660.
- Domerego R., Imbert G., Blanchard C. (2009) *Les remèdes de la ruche* Editions Alpens,
Monaco, 95p.
- Domerego R. (2009) *Chapitre X : Santé, bien-être, apithérapie in Clément H. et al. Le
Traité Rustica de l'apiculture* Editions Rustica, Paris, 390-417.
- Donadieu Y. (2008) *La Propolis* Editions Dangles, Paris, 90p.
- Dong,R., Zheng,Y., & Xu,B. (2013). Phenolic profiles and antioxidant capacities of
chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food and
Bioprocess Technology*, 6, 762-770.

- _El-Arab AME., Girgis SM., Hegazi EM., El-Khalek ABA. (2006) Effect of dietary honey on intestinal microflora and toxicity of mycotoxins in mice *BM Complementary Altern. Med.* 6(6).
- El-Hady FA., Hegazi A. G. (2001a) *Chemical composition of honey in Apimondia* (2001).
- El-Hady FA., Hegazi AG. (2001b) *Chemical composition of propolis in Apimondia* (2001).
- Estevinho, L., Pereira, A. P., Moreira, L., Dias, L. G., & Pereira, E. (2008). Antioxidant and antimicrobial effects of phenolic compounds extracts of Northeast Portugal honey, *Food and Chemical Toxicology*, 46(12), 3774-3779.
- Fernandes JR.A , L. Leomil, A.A.H. Fernandes, J.M. Sforcin, THE ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF PROPOLIS PRODUCED BY *Apis mellifera* L. AND BRAZILIAN STINGLESS BEES. *J. Venom. Anim. Toxins* vol.7 no.2 Botucatu Dec. 2001
- French, V.M., Cooper, R.A. and Molan, P.C. (2005) The antibacterial activity of honey against coagulase-negative staphylococci. *J. Antimicrob. Chemother.* 56: 228-231.
- Fridkin, S.K., Hageman, J.C., Morrison, M., Sanza, L.T., Como-Sabetti, K., Jernigan, J.A., Harriman, K., Harrison, L.H., Lynfield, R., Farley, M.M., (2005). Methicillin-Resistant-*Staphylococcus aureus* diseases in three communities. *The New England Journal of Medicine*, 352(14), 1436.
- Gabrys J., Konecki J., Krol W., Scheller S., Shani J. (1986) *Free amino acids in bee hive product (propolis) as identified and quantified gas-liquid chromatography* *Pharmacol. Res. Commun.* 18(6):513-518.
- Gallai N., Salles J.M., Settele J., Vaissiere B.E. (2008). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econom.*, 68: 810- 821.
- Gallai N., Salles J.-M., Settele J., Vaissiere B.E. (2009). Economic valuation of the vulnerability of world agriculture confronted with pollinator decline. *Ecol. Econ.*, 68: 810- 821.
- Garcia .Mariana C, Mónica S. Finola, Juan M. Marioli, Bioassay Directed Identification of Royal Jelly's Active Compounds against the Growth of Bacteria Capable of Infecting Cutaneous Wounds . 2013 *Scientific Research*. 138-144.
- Garedew A, Schmolz E, Lamprecht I. Microbiological and calorimetric investigations on the antimicrobial actions of different propolis extracts: an in vitro approach. *Thermochimica Acta*. 2004; 422:115–124.

- Gharbi M.(2011) these : Les produits de la ruche :Origines - Fonctions naturelles – Composition,Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d’emploi en médecine vétérinaire, Vetagro sup Campus Veterinaire de Lyon.
- Ghedira K., Goetz P., Lejeune R. *Propolis*. Phytothérapie Springer, April 2009, Volume 7, p 100-105.
- Gheldof,N., & Engeseth,N. J. (2002a). Antioxydant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal ofAgricultural andFood Chemistry*,50(10),3050-3055.
- Gheldof,N., Wang,X. H., & Engeseth,N.J. (2002b). Identification and quantification of antioxydant components of honeys from various floral sources. *Journal ofAgricultural andFood Chemistry*,50(21), 5870-5877.
- Gout .J , 2009: Le miel. Editions Jean-Paul Gisserot, Paris, 64p.
- Grange J.M., Davey R.W. (1990). Antibacterial properties of propolis. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 83:159-60.
- Halliwell B., Cross C.E. (1994). Oxygen-derived species: their relation to human disease and environmental stress. *Environ. Health Perspect*, 102(10): 5-1.
- Han MC., Durmus AS., Karabulut E., Yaman I. (2005) *Effects of Turkish propolis and silver sulfadiazine on burns wound healing in rats* Med. Vet. 156(12):624-627.
- Han B., Li C., Zhang L., Fang Y., Feng M., Li J. (2011) *Novel royal jelly proteins identified by gelbased and gel-free proteomics* J. Agri. Food Chem. Sep 1.
- Hazen, K. C., & Howell, S. A. (2007). *Candida, Cryptococcus, and Other Yeasts of Medical Importance*. In P. R. Murray (Ed.), *Manual of Clinical Microbiology* (9th ed., pp. 1762-1788). Washington D.C.: ASM Press.
- Hegazi AG. (2001) *Biological activity of royal jelly in Apimondia* (2001).
- Hegazi, A.G. (2011) Antimicrobial activity of different Egyptian honeys as comparison of Saudi Arabia honey. *Res. J. Microbiol.* 6(5): 488-495.
- Heim,K.E., Tagliaferro,A.R., & Bobilya,D.J. (2002). Flavonoid antioxydants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *The Journal of Nutritional Biochemistry* , 13(10),572-584.
- Huchet E., Coustel J. Guinot L. (1996) *Les constituants chimiques du miel, [en ligne]* .
- Hennebelle (2010). L’abeille In Doc apiculture.
- Hollman,P.C.H., Hertog,M.G.L., Katan,M.B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food Chemistry*,57(1),43-46.

- Ibrahim khalil MD., Moniruzzaman M., Boukraa L., Benhanifia M., Asiful islam MD., Nazmul islam MD., Sulaiman S.A. and Hujan S., 2012 - Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honey. *Journal molecules*, 17, 11199-11215.
- Izuta H., Chikaraishi Y., Schimazawa M., Mishima S., Hara H. (2007) *10-Hydroxy-2-decenoic Acid, a major fatty acid from royal jelly, inhibits VEGF-induced angiogenesis in human umbilical vein endothelial cells* *Evid. Based Complement Alternat. Med.* 6(4):489-494
- Jean-Christophe Doré, Claude Viel. *Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche*. *Revue d'histoire de la pharmacie* 2003, Volume 91 (337).
- Jean-Prost P. et Le Conte (2005) *Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7^{ème} édition*, Tec & Doc Lavoisier, 698p.
- 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.*
- Jung WK. et al. (2008) *Caffeic acid phenethyl ester attenuates allergic airway inflammation and hyperresponsiveness in murine model of ovalbumin-induced asthma* *Life Sci.* 82(13-14):797-805.
- Kauffman, C. A. Treatment of candidemia and invasive candidiasis in adults. www.uptodate.com(consulté le : 5.12.2016).
- Kayser, F. H., Bienz, K. A., Eckert, J., & Zingernagel, R. M. (Eds.). (2001). *Medical Microbiology* (10th ed.). Stuttgart, Germany : Georg Thieme Verlag.
- Kim MJ *et al.* (2011) *Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutans streptococci isolated from Korean* *J. Microbiol.* 49(1):161-164.
- Koç AN., Silici S., Kasap F., Hörmet-Oz HT., Mavus-Buldu H., Ercal BD. (2011) *Antifungal activity of the honeybee products against Candida spp. And Trichosporon spp.* *J. Med. Food* 14(1-2):128-34.
- Koya-Miyata S. *et al.* (2004) *Identification of a Collagen production-promoting Factor from an Extrac of Royal Jelly and its Possible Mechanism* *Biosci. Biotechnol. Biochem.*, 68(4):767-773.
- Krupke C.H., Hunt G.J., Eitzer B.D., Andino G., Given K. (2012). Multiple Routes of Pesticide Exposure for Honey Bees Living Near Agricultural Fields. *PLoS One*, 7(1): e29268. doi:10.1371/journal.pone.0029268.
- Kujumgiev A, Tsvetkova I, Serkedjueva Y, Bankova V, Christov R, Popov S, antibacterial, antifongaland and antiviral activity of propolis from different origins. *journal of ethnopharmacology*. 1999;64:235-40.

- Küçük M., Kolaylı S., Karaoğlu S., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. (2007). Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.*, 100: 526-534.
- Kwakman PHS., te Velde AA., de Boer L., Speijer D., Vandenbroucke-Grauls CMJE., Zaat SAJ. (2010) *How honey kills bacteria* FASEB J. 24(7):2576-82.
- Kwakman PHS., te Velde AA., de Boer L., Vandenbroucke-Grauls CMJE., Zaat SAJ. (2011) *Two major medicinal honeys have different mechanisms of bacterial activity* PLoS One. 6(3):e17709.
- Lequet. L., 2010: du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur, thèse docteur vétérinaire, l'université Claude-Bernard - Lyon I.
- Londero, R.T, and J.M. Guadalupe-Cortés, 1990. Aspergiloses pulmonares. *J Pneumol.*, 16 :78-90.
- Lupatini Nogueira. R.J, Danopoulos. P, Swikidisa. R, V. Alves Pinheiro. Evaluation of the antibacterial activity of green propolis extract and the meadowsweet extract against *Staphylococcus aureus* bacteria: importance in wound care compounding preparations 2016 *Int. Journal of Compounding* VOL20N04.
- Lusby, P.E. and Combes, A.L. and Wilkinson, J.M. (2005) Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch. Med. Res.* 36: 464-467
- Malika N., Faid M. and El Adlouni C., 2005 - Microbiological and Physico-Chemical Properties of Moroccan Honey. *International Journal Of Agriculture & Biology*, Vol. 7, No.5, 773–776.
- Manach C., Scalbert A., Morand C., Remesy C. and Jimenez L. 2004. Polyphenols: Food sources and bioavailability. *American Journal of Clinical Nutrition* 79(5):727–747.
- Marchenay P., Bérard L. (2007) *L'homme, l'abeille et le miel* Edition De Borée 223p.
- Marcucci MC. Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*. 1995; 26:83-99.
- Martin S.J. (2001). The role of *Varroa* and viral pathogens in the collapse of honeybee colonies: a modelling approach. *J. Appl. Ecol.*, 38:1082-1093.
- 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.
- Mateescu C. (page web consultée le : 1.9.2016), les produits de sécrétions et leur rôle dans la colonies d'abeilles. ([http :www.beekeepig.com/anagercea/secretions/pdf.](http://www.beekeepig.com/anagercea/secretions/pdf/))

- Kacaniova Miroslava, N. Vukovic, R. Chlebo, P. Hscik, Katrina Rovna, J. Cubon, Malgorzuzan and Anna Pasternakiewicz. (2012), The Antimicrobial Activity of Honey, Bee Pollen loads and Beeswax from Slovakia. *Arch. Biol. Sci*, Belgrade, 64 (3), 927-934.
- Molan, P.C. (1992) The antibacterial activity of honey. 1. The nature of antibacterial activity. *Bee World* 73: 5-28.
- Molan P.C., Russell K.M. (1988). Non-peroxide antibacterial activity in some New Zealand honeys. *Journal of Apicultural Research*, 27(1):62-67.
- Molan PC, Cooper RA. Honey and sugar as a dressing for wounds and ulcers. *Trop Doct* 2000; 30: 249-250.
- Moritz F., De Miranda J., Fries I., Le Conte Y., Neumann P., Paxton R.J. (2010). Research strategies to improve honeybee health in Europe. *Apidologie*, 41: 227-242.
- Moselhy, W. A., Fawzy, A. M. and Kamel, A. A An evaluation of the potent antimicrobial effects and unsaponifiable matter analysis of the royal jelly *Life Science Journal* 2013;10(2).
- Moussa Ahmed, Djebli Noureddine, Aissat Saad, Aggad Hebbab and Boucif Ahmed ,2011. Antifungal Activity of a Combination of Algeria Honey and Starch of Ginger Against *Aspergillus niger* *International Journal of Microbiological Research* 2 (3): 263-266.
- Murray P.R , Bron, EJ, Jorgenson, J.H, J.H., Landry. M.L., Pfaller. M.A., et Yolken, R.H., (Eds). (2003). *Manual of Clinical Microbiology* (8th ed). Herdon , V.A. United States of America. American Society for Microbiology.
- Neila NEDJI THESE DE DOCTORAT 3ème CYCLE EN BIOLOGIE ANIMALE : Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. UNIVERSITE BADJI- MOKHTAR- ANNABA 2015.
- Nicolay J. (2015) , thèse de docteur en pharmacie : Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine . université ANGERS 2015.
- O'Grady FW, Lambert HP, Finch RG, Greenwood D. *Antibiotic and Chemotherapy*, 7th ed. New York: Churchill Living Stone; 1997.
- Oliveira ACP, Shinobu CS, Longhini R, Franco SL, Svidzinski TIE. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*. 2006; 101:493-497.

- Omoya, F.O. and Akharaiyi, F.C.A. (2010) Pasture honey for antibacterial potency on some selected pathogenic bacteria J. Nat. Prod. 3: 05-11.
- Orsatti CL. Sforcin JM. (2011) *Propolis immunomodulatory activity on TLR-2 and TLR-4 expression by chronically stressed mice* Nat. Prod. Res. 1:1-8.
- Oryan A., Zaker SR. (1998) *Effects of topical application of honey on cutaneous wound healing in rabbits* J. Vet. Med. 45(3):181-188.
- Ozenda P. (2006) *Les Végétaux – Organisation et diversité biologique 2ème édition* Cours Editions Dunod, 506p.
- Page R.E., Peng C.V. (2001). Aging and development in social insects with emphasis on the honey bee, *Apis mellifera* L. *Experimental Gerontology*, 36: 695-711.
- Painter Theophilus S. and Biesele John J. (1966) *The fine structure of the hypopharyngeal gland cell of the honey bee during development and secretion* Zoology Proc. NAS. 55:1414-1419.
- Paulino N. *et al.* (2006) *Evaluation of the analgesic and anti-inflammatory effects of a Brazilian green propolis* Planta Med. 2006 Aug;72(10):899-906.
- Percie du Sert, P. (2009). Les pollens apicoles. *Phytothérapie*, 7(2), 75-82.
- Perfect JR, JM Cox, IY Lee, C.A Kauffman, L. De Repentigny, S.W. Chapman, V.A Morrison, P. Pappas, J.W Hiemenz, D.A .Stevens, 2001.Mycoses Study Group,Clin Infect Dis. ,33 :18241833.
- Pessolato AG., Martins DD., Ambrósio CE., Mançanares CA., de Carvalho AF. (2011) *Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats* Burns. 2011 Jul 6.
- Pesenti Marion E ., Spinelli Silvia , Bezirard Valérie ,Briand Loïc , Pernollet Jean-Claude , Tegoni Mariella, Cambillau Christian (2008) . Structural Basis of the Honey Bee PBP Pheromone and pH-induced Conformational Change .Journal of Molecular Biology,Volume 380,Issu 1 ,Page 158-169.
- Pitt JI, Hocking AD (1999) Fungi and food spoilage. Second edition. A Chapman and Hall Food Science Book, Aspen Publication, Gaithersburg, Marylan, 385-388.
- Pontis J A, Da Costa L A, Da Silva S R, Flach A, (2014) . Color, phenolic and flavonoid content, and antioxidant activity of honey from Roraima, BrazilFood Science and Technology .
- Pruitt, B. A.,Jr, McManus, A. T., Kim, S. H., & Goodwin, C. W. (1998). Burn wound infections : current status. World Journal of Surgery, 22(2), 135-145.
- Pyrzynska,K., &Biesaga,M.(2009).Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey.Trends in Analytical Chemistry, 28(7), 893-902.

- 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)pp.1872-1878.
- Ramanauskienė K., Inkėniene AM. (2011) *Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity* Nat. Prod. Res. Jun 30.
- Ribéreau-Gayon. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. Ed. Dunod Paris, 254.
- Romano. B, UNIONE C., T., 2009: Le chemin du miel, l'école à la ferme page 5-6.
- Salatino Antonio, Fernandes-Silva, Caroline C., Righi, Adne Abbud Salatino, Maria Luiza F. Propolis research and the chemistry of plant products. *Natural Product Reports*. 19 avril 2011. Vol. 28, n° 5, pp. 925-936.
- Šarić G., Marković K., Major N., Krpan M., Ursulin-Trstenjak N., Hruskar M. and Vahčić N., 2012 - Changes of Antioxidant Activity and Phenolic Content in Acacia and Multifloral Honey During Storage. Original scientific paper, FTB-ms 2946.
- Schell, W. A. (2006). Mycotic agents of human disease. In Fleming, D.O., and Hunt, D.L. (Ed.), *Biological Safety: Principles and Practices* (4th ed., pp. 163-178). Washington D.C.: ASM Press.
- Segueni.N , Benlabeled.K, Bousseboua .H, Moussaoui.F, Zellagui.A, Lahouel.M , Rhouati.S Antibacterial Activity of Two Algerians Propolis 2014 *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* Pages: 106-110.
- Shimizu K., Ashida H., Matsuura Y., Kanazawa K. (2004) *Antioxydative bioavailability of artepillin C in Brazilian propolis* Arch. Biochem. Biophys. 424(2):181-188.
- Shimizu T. *et al.* (2011) *Efficacy of brazilian propolis against Herpes Simplex virus type I infection in mice and their modes of antiherpetic efficacies* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2011, Article ID 976196, 9 p.
- Silici S, Kutluca S. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology*. 2005; 99:69–73.
- Singleton VL, Rossi JA (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *Am J EnolVitic* 16:144-158.
- Soley Arslan, , Hatice Ozbilge, , Esma G. Kaya, MD, Ozgur Er, In vitro antimicrobial activity of propolis, BioPure MTAD, sodium hypochlorite, and chlorhexidine on *Enterococcus faecalis* and *Candida albicans* *Saudi Med J* 2011; Vol. 32 (5): 479-483.

- Stepanović S., Antić N., Dakić I., Švabić-Vlahović M. *In vitro* antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*. 2003. 158:353-357.
- Stocker A., Schramel P., Ketttrup A., Bengsch E. (2005) *Trace and minerals elements in royal jelly and homeostatic effects* J. Trace Elem. Med. Biol. 19(2-3):183-189.
- Takaisi-Kikuni NB, Schilcher H. Electron microscopic and microcalorimetric investigations of the possible mechanism of the antibacterial action of a defined Propolis provenance. *Planta Med*. 1994;60(3):222-7
- Takemura T. *et al.* (2011) *3,4-Dicaffeoylquinic Acid, a Major Constituent of Brazilian Propolis, Increases TRAIL Expression and Extends the Lifetimes of Mice Infected with the Influenza A Virus* Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine Volume 2012, Article ID 946867, 7 p.
- Tan HT, Rahman RA, Gan SH, Halim AS, Hassan SA, Sulaiman SA, et al. The antibacterial properties of Malaysian tualanghoney against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. *BMC Complement Alternat Med* 2009; 9: 34.
- Tomas-Barberan, F. A., Martos, I., Ferreres, F., Radovic, B. S., & Anklam, E. (2001). HPLC flavonoid profiles as markers for the botanical origin of European unifloral honeys. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 81, 485-496.
- Tomczak C. (2010) *Utilisation du miel dans le traitement des plaies*. Revue bibliographique
Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon.
- Trucheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova V. (2010). *Antibacterial mono- and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis* Chemistry Central journal 2010 4:8.
- Ugur A, Arslan T. An *in vitro* study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food*. 2004; 7:90-94.
- Umthong S., Phuwapraisirisan P., Puthong S., Chanchao C. (2011) *In vitro antiproliferative activity of partially purified Trigona laeviceps propolis from Thailand on human cancer cell lines* BMC Complementary and Alternative Medicine 11:37.
- Uthurry, C. A., Hevia, D., & Gomez-Cordoves, C. (2011). Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science*, 3(4), 141-159.

- Van den Berg AJ. , Van den Worm E., Van Ufford HC., Halkes SB., Hoekstra MJ., Beukelman CJ. (2008) *An in vitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey* J. Wound Care. 17(4):172-174.
- Vela, L., De Lorenzo, C., & Perez, R. A. (2007). Antioxidant capacity of Spanish honeys and its correlation with polyphenol content and other physicochemical properties. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 87, 1069-1075.
- Waltimo, T. M. T., Ørstavik, D., Sirén, E. K., & Haapasalo, M. P. P. (1999). In vitro susceptibility of *Candida albicans* to four disinfectants and their combinations. *International Endodontic Journal*, 32(6), 421-429.
- Wendling S. (2012). *Varroa destructor* (Anderson & Trueman, 2000), un acarien ectoparasite de l'abeille domestique *Apis mellifera* Linnaeus, 1758. Revue bibliographique et contribution à l'étude de sa reproduction. Thèse de doctorat vétérinaire, *Faculté de Médecine, Créteil*, 190 p.
- Weston RJ. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey: a review. *Food Chemistry* 2000; 71: 235 - 239.
- Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., Li X. (2011) *Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China* *Molecules*. 16(4):3444-3455.
- Yao,L., Datta,N., Tomas-Barberan,F.A., Ferreres,F., Martos,I., & Singanusong,R. (2003). Flavonoid, phenolic acids and abscisic acid in Australian and New Zealand *Leptospermum* honeys. *Food Chemistry*,81(2),159-168.
- Yin yang , Qualification des miels de CORSE par une approche multifactorielle : Diversité pollinique & variabilité chimique 2014 these Docteur en chimie UNIV. PASCAL PAOLI.
- Young, R.C, Bennet. J.E, Vogel,P.P, Carbone and De Vita, V.T ,1970. Aspergillosis, the spectrum of disease in 98 patient. *Medecine*.49 :147-173.
- Zeina B., Othman O., al-Assad S. (1996) *Effect of honey versus thyme on Rubella virus survival in vitro* J. Altern. Complement Med. 2(3):345-348.
- Zerrouk H.S., Fallico B.G., Arena E.A., Gabriele F.B. and Larbi A.B., 2011-Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences*, Vol. 4, N°. 4, 243-248.

Sites internet :

<http://apiculture-populaire.com/propolis.htm>.

<http://www.lesruchersdargonne.com/Propolis.htm>

Http: //Propolis-sana.com/apiphyt/fr/ftp11/index2htm.

Annexes

Annexe

Résultats des testes de sensibilité antimicrobien :

Escherichia coli :



Temoin



CMI M1 : 23%



CMI PROPOLIS : 20mg/ml



CMI M2 : 17%

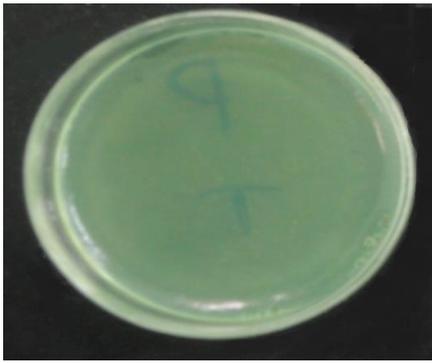


CMI M3 : 7%

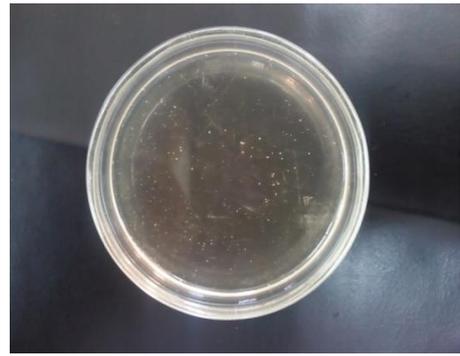


CMI gelée royale : 4%

Pseudomonas aeruginosa :



Temoin



CMI M1 : 15%



CMI M3 : 7%



CMI M2 : 12%

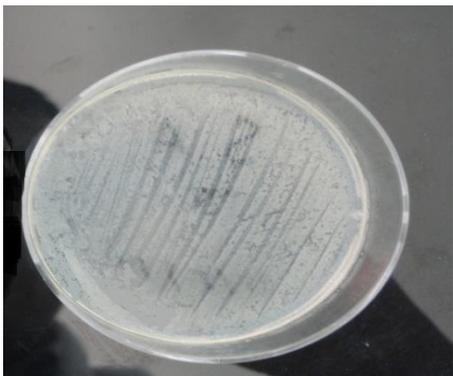


G.R CMI : 5%



Propolis CMI : 22mg/ml

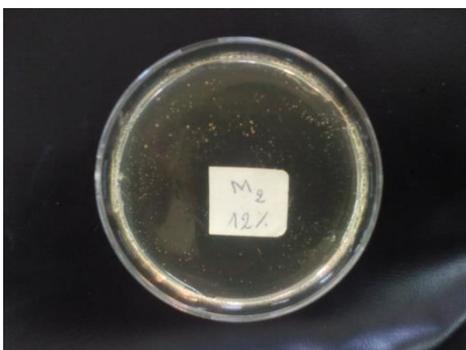
Staphylococcus aureus :



Temoin



CMI M1 : 25%



CMI M2 : 12%



CMI M3 : 6%

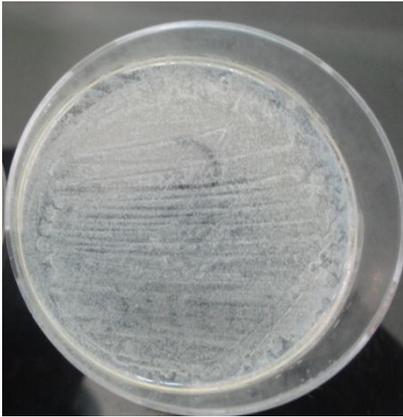


G.R CMI : 1.5%

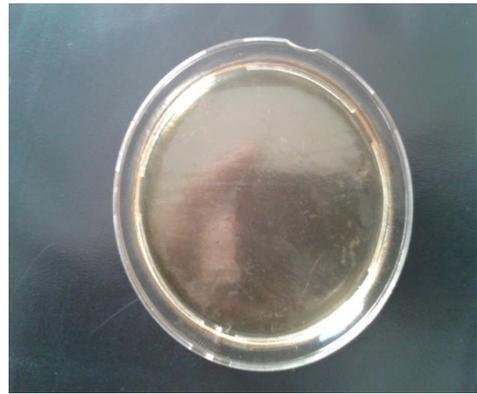


propolis : CMI 0.7mg/ml

Candida albicans :



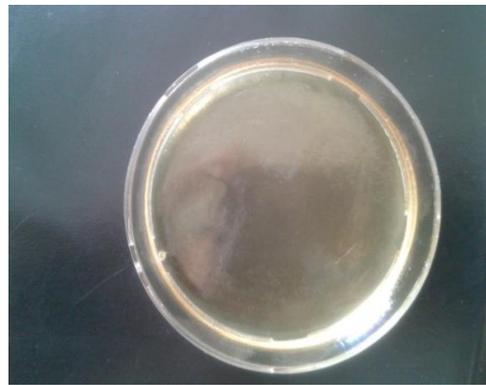
Témoin



CMI M1 : 35%



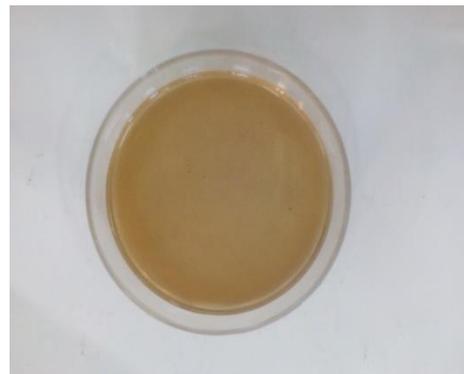
CMI M3 : 30%



CMI M2: 35%



CMI G.R : 4%



propolis CMI : 4mg/ml

Aspergillus niger :



Temoin



CMI M1 : 55%



CMI M3 : 53%



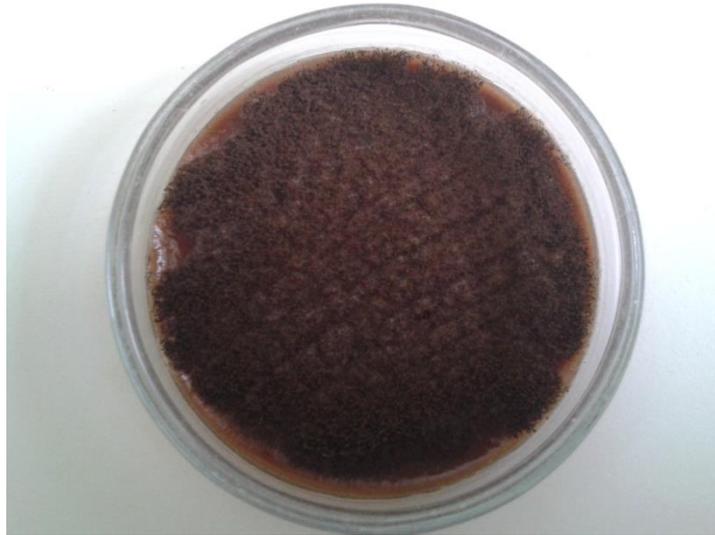
CMI M2 : 50%



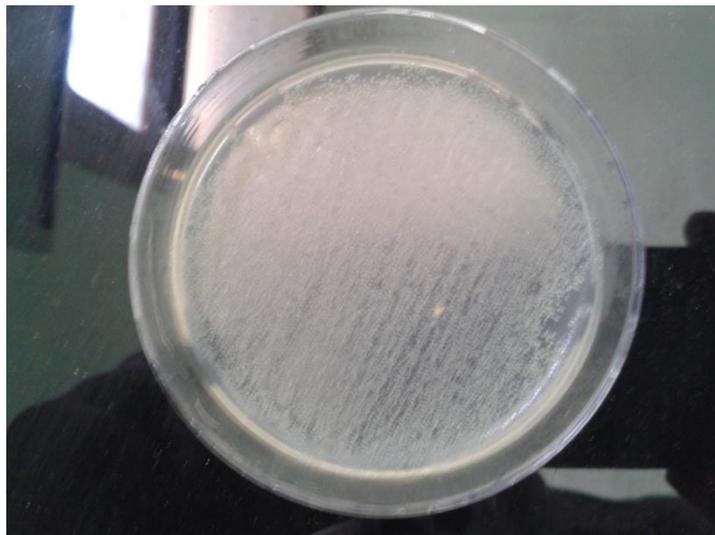
Propolis culture + a 60mg/ml



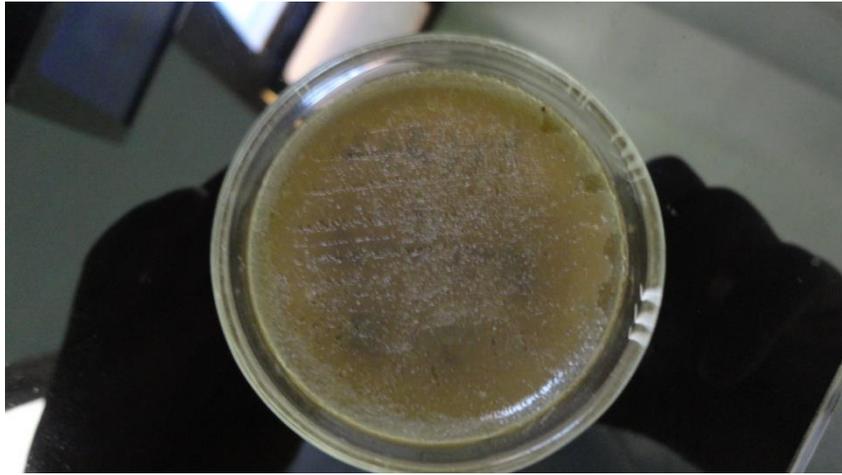
CMI G.R : 14%



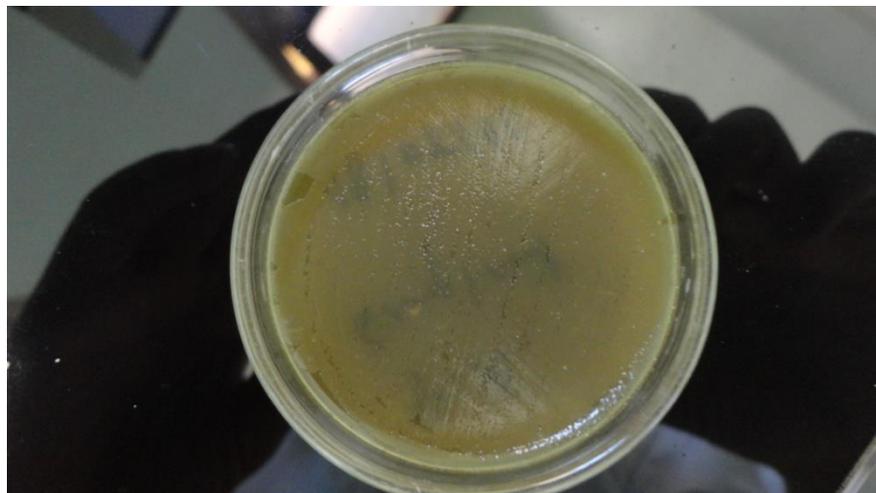
Aspergillus niger+(40mg/ml de Propolis)



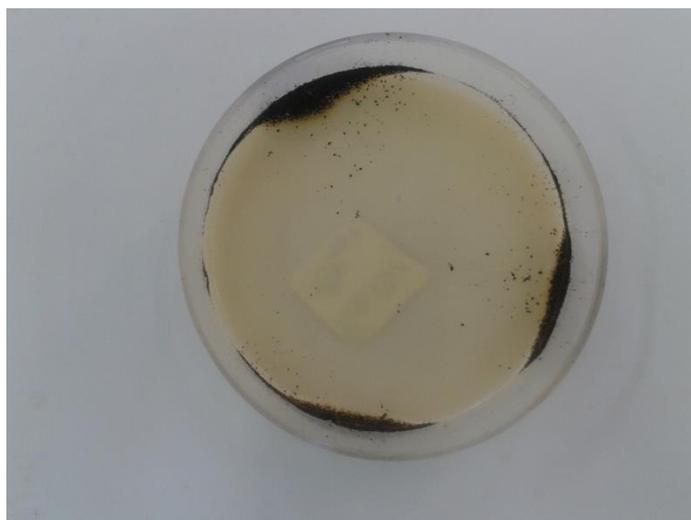
Staphylococcus aureus +(G.R 1%)



E.coli + (propolis 12mg/ml)



P.aeruginosa +(propolis 10mg/ml)



Aspergillus niger + (13% G.R)

Tableau de CHATWAY 1935

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction(20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18,4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1,4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15,2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				