



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master académique

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Présenté par :

BOUROUBA Salima

BOUROUNA Feriel

DERRAR Ahlem

Thème

**Étude du pouvoir antibactérien du miel mélangé avec
l'extrait aqueux des feuilles de lentisque
(*Pistacia lentiscus L.*)**

Soutenu publiquement le 12/07/2021

Jury:

Président: Mr . ABBES A.

Encadrant: Mr. BENBEGUARA Mourad .

Co-encadrant: Mm . MOULAY Meriem .

Examineur : Mr . YEZLI W.

Invité: Mm . BENGUIAR R.

Grade

MCA

MAA

MCA

MCB

MCB

Année universitaire 2020-2021



Remerciements

Avant tout, nous remercions Le BON DIEU « **ALLAH** » le tout puissant de nous avoir donné le courage, la volonté et la patience pour achever ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer ici nos sincères remerciements et notre gratitude à notre promoteur **Mr. BENBEGUARA .M**, qui nous a aidés à réaliser ce travail par ses précieux conseils et efforts au cours de nos recherches et pour ses informations qui ont contribué au bon déroulement de ce travail et son soutien, ses encouragements et sa disponibilité tout au long de la réalisation de cette étude.

Aussi, on tient vivement à remercier notre Co-promoteur **Mme MOULAY. M**, qui nous a aidés dans la réalisation de ce travail par leurs précieux conseils, son soutien, ses encouragements.

Nous remercions **Mme BENGUIARR**, pour sa gentillesse, ses encouragements continus, pour ses conseils et son assistance notamment dans le travail expérimental.

Que nos vifs remerciements aillent à **Mr. ABBAS A.** Qui nous a fait l'honneur de présider ce travail, et **Mr. YEZLI W.** pour avoir accepté d'examiner ce mémoire.

Un grand merci à **Mr. HOUCINE L.** chef de spécialité de microbiologie appliquée qui se consacre à mettre de l'ordre dans le département et à pousser les étudiants à se surpasser dans leurs études.

Nous remercions les personelles du laboratoire pour leur aide et d'avoir partagé leur savoir-faire avec nous.



Dédicaces

Avant tout, je remercie **Allah** (mon dieu) de m'avoir donné la capacité, la volonté et de la patience pour réaliser ce travail.

Ce mémoire est dédié

À mes chers parents « **laid** », « **FATMIA fatima** » qui sont mon paradis sur terre, mon soutien, ma force et mon refuge après Dieu, la lumière de mes yeux, le battement de mon cœur, le secret de mon bonheur et toute ma vie.

Qui m'ont toujours poussé et motivé dans mes études, qui m'ont donné la confiance, le courage et la sécurité, je vous remercie pour tout le soutien et l'amour que vous me portez depuis mon enfance et j'espère votre bénédiction m'accompagne toujours.

À mes très chers sœur : **Fidaa , Walaa, Imen , Asma, Sarah, Ines**

À mon frère : **Nasroddine**

À ma chère amie et âme sœur "**Amouna**", dans tes yeux je vois le sens de l'amour, et près de toi je ressens le bonheur, je te remercie pour ton soutien, tes encouragements et tes prières pour moi. Je demande à Dieu de vous donner la santé, le bonheur et le succès dans votre vie.

À toute la famille **DERRAR, FATMIA** qui m'encourage et me soutient tout au long de ma période d'études

À mes collègue « **Salima et Ferial** »

À tous ceux que j'aime et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Ahlem



Dédicaces

À ceux m'ont indiqués la bonne voie en me rappelant que la volenté fait toujours les grandes hommes ,,,

Avant toute chose, je remercie **Dieu**, le tout puissant, pour m'avoir donnée la force et la patience.

À mes chers parents ;

TAYEB et **GHALIA** la prunelle de mes yeux en les remerciant pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leur prières tout au long de mes études, qu'ils soient toujours fiers de leur enfants.

À ma grande sœur et ma nièce ;

FATIHA et **LINA MALEK** que j'aime plus que tout ma confidents ma perle rare que dieu le protège et le garde

À mes chers frères : DJAMEL , MOHAMED et KHALED

À mon âme sœur ;

NESRINE, qui m'a soutenu dans les moments les plus durs et qui m'a donné foi en moi.

À ma plus belle ;

HBIBA KHAIRA , les mots ne peuvent décrire la graditude , l'amour , le respect et la reconnaissance que je te porte .

À tous ma chère famille ;

NADIA , RABIAA,ISHAK , MISOUM,AMINA , ANIS , FEDWA, AMJED ainsi que
mes oncles , tantes , cousins et cousines

À mes chères amies ;

FERIEL, AHLEM , SARA « pour son invertissement et son dévouement qui ont permis la réussite de ce projet »

À tous ceux que j'aime et qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Salima



Dédicaces

Tout d'abord je remercie Allah (mon dieu), qui m'a donné la santé, la capacité et la volonté d'accomplir ce travail.

À mon père **BOUROUNA abd el aziz**. Qui a contribué à ma formation scolaire au primaire et qui a travaillé dur pour que j'atteigne ce jour.

À ma mère **Fatima**, la plus belle chose de ma vie La femme avec un sourire merveilleux qui me donne de l'optimisme et me motive à faire plus afin de réaliser quelque chose de simple pour la rendre heureuse.

À mes sœurs **Amel** et **Hadjer** et mon frère **Mohamed**

À ma cousine **Arab Fatima** qui m'a aidé avec tout ce dont j'avais besoin pour terminer mon travail

Je tiens à remercier mon binôme **Salima** et **Ahlem** pour sa collaboration et sa patience.

À ma mémoire pour que ce travail reste un de mes meilleurs souvenirs.

Feriel

Liste des abréviations	I
Liste des tableaux	III
Liste des figures	IV
Liste des photos	V
Introduction	1

Première partie : synthèse bibliographique

Chapitre I : *Pistacia lentiscus L.*

1. <i>Pistacia lentiscus L.</i>	3
1.2. Disruption botanique	3
1.3. Classification	4
1.4. Répartition géographique.....	4
1.5. Utilisation thérapeutique traditionnelle de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	5
1.6. Activité antibactérienne	5

Chapitre II : Le miel

2. Le miel	6
2.1. Définition	6
2.2. Différents types	6
2.3. Composition	6
2.4. Propriétés thérapeutiques.....	7
2.5. Activité cicatrisante.....	7
2.6. Activité antibactérienne.....	8

Chapitre III : bactéries

3. Bactéries	9
3.1. Caractérisation des bactéries <i>S.aureus</i> et <i>E. coli</i>	9
3.2. Classification des bactéries	9

Deuxième partie : partie expérimentale

Chapitre I : matériel et méthodes

1. Objectif	10
2. Lieu de travail	10
3. Matériel et Méthodes	10
3.1. Matériel	10
3.1.1. Matériel biologique	10
3.1.2. Matériel du laboratoire	11

TABLE DE MATIERE

3.2. Méthodes	13
3.2.1. Protocole expérimentale.....	14
3.2.2. Détermination de la teneur en humidité	15
3.2.3. Traitement des échantillons	15
3.2.4. Méthodes d'extraction	15
3.2.5. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de <i>P.lentiscus</i> L.....	16
3.2.6. Analyse physicochimique du miel	18
3.2.7. Réalisation d'une dilution décimale de miel et l'extrait aqueux des feuilles	19
3.2.8. Revivification des souches bactérienne	19
3.2.9. Repiquage des bactéries sur des milieux sélectifs.....	19
3.2.10. Ré-identification	20
3.2.10.1. Teste morphologiques	20
3.2.10.1.1. Observation macroscopique	20
3.2.10.1.2. Observation microscopique	20
3.2.10.1.2.1. Coloration de Gram	20
3.2.10.2. Caractérisation biochimique	21
3.2.10.2.1. Identification biochimique <i>d'E.coli</i> à l'aide des micro-galeries (API20E)	23
3.2.10.2.2. Identification biochimique des isolats à l'aide des macro-galeries	23
3.2.11. Activité antibactérienne	25
3.2.11.1. Préparation de l'inoculum bactérienne	25
3.2.11.2. Technique de diffusion en milieu solide	25
3.2.11.3. Détermination de concentration minimale inhibitrice	29

Chapitre II : Résultats et discussion

1. Résultats et discussion.....	30
1.1. Ré –identification des souches.....	30
1.1.1. Caractérisation macroscopique	30
1.1.2. Caractérisation microscopique.....	30
1.1.3. Caractérisation biochimique	31
1.2. Résultats des analyses physicochimiques	33

TABLE DE MATIERE

1.2.1. Le miel	33
1.2.1.1. Teneur en eau	33
1.2.1.2. PH et acidité libre.....	34
1.2.1.3. Matière sèche	34
1.2.2. Le lentisque	35
1.2.2.1. Détermination de L'humidité.....	35
1.2.2.2. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de <i>P.lentiscus L</i>	35
1.3. Effet antibactérienne du miel	37
1.4. Effet antibactérienne de l'extrait aqueux de <i>P. lentiscus L</i>	40
1.5. Effet antibactérienne du mélange (EAD/EAI+M) sur les deux souches testées	43
1.6. Effet antibactérien des antibiotiques	46
1.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	47
Conclusion	50
Références bibliographiques	51
Annexe	61
Résumé	

Liste des abréviations

- **ATB** : Antibiotique
- **ATCC** : American type culture collection
- **CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- **DO** : Densité optique
- **UFC** : Unité formant colonie
- **D** : Dilution
- **G** : Gram
- **G+** : Gram +
- **G-** : Gram-
- **H₂O** : L'eau
- **H₂O₂** : Peroxyde d'hydrogène
- **H₂S** : Le sulfate d'hydrogène
- **H₂SO₄** : Acide sulfurique
- **HCL** : Chlorure d'hydrogène
- **Na Cl** : Chlorure de sodium
- **KI** : Iodure de potassium
- **I₂** : Diode
- **NH₄OH** : Ammonium hydroxyde
- **FeCL₃** : Chlorure de fer
- **TSI** : Triple Sugar Iron
- **EAD** : Extrait aqueux décocté
- **EAI** : Extrait aqueux infusé
- **M** : Miel
- **C** : Concentré
- **P** : Pure
- **h** : heure
- **µl** : microlitre
- **MH** : Mueller Hinton
- **GN** : Géloses nutritive
- **BN** : bouillon nutritif

- *S.aureus* : *Staphylococcus aureus*
- *E. coli* : *Escherichia coli*
- *P.lentiscus L* : *Pistacia lentiscus L.*
- **pH** : Potentiel d'hydrogène
- **LPS** : lipopolysaccharide
- **CIM** : Commission international du miel

Liste des tableaux

Numéro	Titre	page
01	Classification botanique du <i>Pistacia Lentiscus L</i>	04
02	Composition du miel	06
03	Caractère des souches étudiées et leur pouvoir pathogène.	09
04	Classification phylogénique de <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> .	09
05	Les antibiotiques	10
06	Appareillages, verreries, réactifs, produits chimiques et autres.	11
07	Origine du miel utilisé	12
08	Situations géographiques des feuilles de lentisque et du miel.	12
09	Screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>pistacia lentiscus L.</i>	17
10	Les tests biochimiques de <i>S.aureus</i> et <i>E. coli</i>	24
11	Résultats des tests biochimiques pour <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> .	33
12	Analyses physico-chimiques du miel.	33
13	Résultats de Screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de <i>Pistacia lentiscus L.</i>	35
14	Diamètres des zones d'inhibition en mm du miel sur les souches testées.	37
15	Effet de l'extrait aqueux infusé et décocté de <i>Pistacia lentiscus L.</i> sur les souches testées	40
16	Diamètres des zones d'inhibitions (mm) du mélange de (EAI / EAD) et du miel(M) sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> .	44
17	Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches étudiées, effet antibiotiques (mm).	46
18	Concentration minimale inhibitrice du mélange (EAI/EAD+M).	48

Liste des figures

Numéro	Titre	Page
01	Distribution géographique de genre <i>Pistacia</i> dans le monde.	04
02	Distribution de <i>Pistacia lentiscus</i> dans le bassin méditerranéen	04
03	Situations géographiques	13
04	Protocole expérimentale	14
05	Les différentes étapes pour l'obtention d'un extrait aqueux.	16
06	La technique de coloration de Gram	21
07	Schéma récapitulatif de la méthode de diffusion par disques de l'extrait aqueux et le miel	27
08	Schéma récapitulatif de la méthode de diffusion par disques de mélange du miel avec l'extrait aqueux des feuilles de lentisques	28
09	Caractérisation macroscopique des bactéries ensemencé sur milieu Mac Conkey et Chapman après 24 h d'incubation à 37 °C	30
10	Caractérisation microscopique des bactéries ensemencé sur milieu Mac Conkey et Chapman après 24 h d'incubation à 37 °C	31
11	Galerie API 20 E après l'incubation et l'ajoute des réactifs	32
12	Diamètres des zones d'inhibition du miel sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	37
13	Effet antibactérien du miel sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	37
14	Diamètre des zones d'inhibition de l'extrait aqueux décocté et infusé de <i>Pistacia lentiscus L.</i> pour <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> .	40
15	Effet antibactérien de l'extrait aqueux décocté et infusé de <i>Pistacia lentiscus L.</i> pour <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	41
16	Diamètres des zones d'inhibition du mélange (EAI/EAD + miel) sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	44
17	Effet antibactérien du mélange sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i>	45
18	Distribution des diamètres des zones d'inhibition des bactéries étudiées en fonction d'ATB	47
19	Effet des antibiotique sur <i>S.aureus</i> et <i>E.coli</i> .	47

Liste des photos

Numéro	Titre	Page
01	Arbuste de <i>Pistacia lentiscus</i> L. (prise personnelle dans la région de Tidida)	03
02	Appareil végétatif du lentisque	03
03	La récolte des feuilles de <i>pistacia lentiscus</i> L. (prise personnelle ,2021)	12
04	Miel de Jujubier/Sidr (prise personnelle ,2021)	12
05	Aspect macroscopique d' <i>Escherichia coli</i> sur milieu Mac Conkey	30
06	Aspect macroscopique de <i>staphylococcus aureus</i> sur milieu Chapman	30
07	Aspect microscopique d' <i>Escherichia coli</i> (X100)	31
08	Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> (X100)	31
09	Test de catalase pour <i>Staphylococcus aureus</i>	31
10	Test d'oxydase pour la souche <i>Escherichia coli</i>	32

Introduction

Depuis l'antiquité, les produits naturels, notamment ceux d'origine végétale ont toujours été une source importante d'agents thérapeutiques (**Bérubé, 2006**).

D'une part, La connaissance et l'utilisation du miel par l'homme remonte aux temps les plus reculés de son histoire et il fait partie indubitablement des aliments les plus anciens de l'humanité. Le Saint Coran et le Hadith du prophète présentent le miel en tant que guérisseur des maladies (Sourate «El-Nahl» verset 68-69) et comme a dit le prophète (bénédiction et paix sur lui) : "Le miel est un remède pour chaque maladie et le Coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le Coran et le miel" (RAPPORTE PAR L'IMAM BUKHARI) (**Merah M et al ., 2010**).

De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel depuis des millénaires par de nombreuses civilisations afin d'élucider ses propriétés nourrissantes, thérapeutiques, cicatrisantes, désinfectantes et/ou antimicrobiennes (**Belhaj et al., 2016**). Au début du vingtième siècle, les biens curatifs du miel ont été destitués par l'emploi des antibiotiques. Cependant, récemment le développement de la résistance à ces antibiotiques a conduit à un accroissement d'intérêt dans les propriétés curatives du miel (**Baltrusaityte et al., 2007**). En plus de son efficacité dans le traitement des brûlures et des plaies, plusieurs expérimentations ont montré que le miel détient la capacité de contrôler rentablement et irrésistiblement un grand nombre de micro-organismes. Tous les types de miel ont un pouvoir antimicrobien, bien que certains soient plus actifs que d'autres (**Badawy et al., 2004**).

D'autre part, les plantes médicinales sont considérées comme une source majeure des produits utilisés en médecine alternative. Le traitement par les plantes est reconnu pour sa facilité d'utilisation, son efficacité ainsi que ses bienfaits incontestables (**chabrier, 2010**).aussi Les plantes médicinales renferment un ou plusieurs molécules capables de prévenir, soulager ou guérir des maladies (**Haddouchi et al., 2014**).

Le genre *Pistacia lentiscus* est un arbrisseau appartenant à la famille des Anacardiaceae, cette plante est largement utilisée dans le bassin méditerranéen pour ses nombreuses vertus thérapeutiques (**Ouelmouhoub, 2005**).

Aussi de nombreux extraits de plantes médicinales telle que *Pistacia lentiscus L.* ont été déclarés posséder des activités antimicrobiennes. Les feuilles de lentisque sont utilisées

comme un bon remède pour le traitement des ulcères, l'hypertension, la toux, les maux de gorge, l'eczéma, les calculs rénaux et la jaunisse (**Villar et al., 1987**).

Les composés antimicrobiens issus des plantes sont capables d'inhiber la croissance bactérienne, en agissant sur des cibles cellulaires différentes de celles visées par les antibiotiques actuellement utilisés, Ils pourraient également présenter une valeur clinique significative dans le traitement des infections aux souches microbiennes résistantes (**Abedini, 2013**).

Le présent travail a été consacré à l'étude de l'activité antimicrobienne de miel mélangé avec l'extrait aqueux des feuilles de lentisque sur deux souches bactériennes : *Escherichia coli* et *staphylococcus aureus*. Cela nous amène à nous demander si le miel, l'extrait aqueux de *P.lentiscus* seule et /ou le mélange (miel extrait aqueux)ont des effet antibactériens ?

Pour atteindre cet objectif et répondre à cette problématique, ce travail s'organise en deux parties : la première partie est une synthèse bibliographique sur la présentation de *Pistacia lentiscus L.*, le miel et leur activité antibactérienne et les caractéristique des bactéries utilisée.

La deuxième partie de ce travail, est une étude expérimentale, concerne l'étude de l'activité antibactérienne de l' extraits aqueux des feuilles de lentisque (*Pistacia lentiscus .L*), du miel et de mélange suivie par une discussion qui synthétise l'ensemble des résultats obtenus et nous achevons notre travail par une conclusion générale résumant tous les résultats des travaux réalisés et dégage les principaux perspectives qui feront suite à ce travail.

Par souci de clarté on a rassemblé en annexe les préparations et caractérisations spécifiques.

Première partie :

Synthèse

Bibliographique



1. *Pistacia lentiscus* L.

1.1 Description botanique

Le pistachier lentisque « *Pistacia Lentiscus* L. », couramment appelé « Edharw » en arabe est un arbrisseau à feuillage persistant, dioïque, très ramifié jusqu'à 3 mètres, ou arbre jusqu'à 6 mètres à odeur de résine fortement âcre (Bammou et al., 2015).

Selon Bayer et al., (2009), *pistacia lentiscus* L. est composée de :

- ✓ **Ecorce** : Rougeâtre sur les jeunes branches et vire au gris avec le temps.
- ✓ **Les feuilles** : alternes, pennées impaires, à rachis largement ailé. 2 -12 folioles pennées plus ou moins elliptique. 1-3 cm de long, pointues ou obtuses, vert foncé, coriaces.
- ✓ **Fleurs** : 2-3 mm de large seulement, unisexuées, en épis, courts, serrés, latéraux.
Fleurs ♂ : à calice à 5 pointes et 5 petites étamines rouges foncé, fleurs ♀ : vert jaunâtre, à calice à 3-4 pointes, parfois un peu velues, styles à 5 stigmates.
- ✓ **Drupe** : petite, 4 mm de long, rouge à noire

La résine du tronc est récoltée et utilisée dans des colles spécialisées ou pour des pansements



Photo 01 : Arbuste de *Pistacia lentiscus* L. (prise personnelle dans la région de Tidda)



A : écorces et feuilles.



B : fleurs.



C : fruits.

Photo 02 : Appareil végétatif du lentisque

1.2. Classification

Le tableau 01 résume la classification de *Pistacia lentiscus L.*

Tableau 01: Classification botanique du *PistaciaLentiscus L* (Berrichi et al., 2017).

Règne	Plantae
Sous-règne	Tracheobionta
Embranchement	Spermaphyte
Sous-embranchement	Angiosperme
Division	Magnoliophyta
Classe	Magnoliopsida
Sous-classe	Rosidae
Ordre	Sapindales
Famille	Anacardiaceae
Genre	Pistacia
Espèce	<i>Pistacia lentiscus L</i>

1.3. Répartition géographique

Pistacia lentiscus L elle est rencontrée en plaines, basses et moyennes montagnes, sous bioclimats semi-aride, subhumide, humide et per humide (Fennane et al., 2007). Les variantes thermiques sont chaude à fraîche et les substrats sont de type marneux ou argileux (Benabid, 2000). Du point de vue étage de végétation, le lentisque s'encarte en infra méditerranéen et thermo méditerranéen (Benazir, 2000 ; Aafi et al., 2002). Quant à sa biogéographie, il se rencontre en Atlas saharien, Anti-Atlas, Haut Atlas, Moyen Atlas, Rif, Maroc atlantique moyen, Maroc atlantique nord, monts de l'oriental et littoral de la méditerranée (Fennane et al., 2007).

En Algérie *P. lentiscusL.* est généralement dispersée sur tout le littoral, on le retrouve sur tout type de sol, subhumide et semi-aride (Smail-Saadoun, 2005). Plus précisément dans le bassin du Soummam en association avec le pin d'Alep, le chêne vert et le chêne liège (Belhadj, 2001).



Figure 01 : Distribution géographique de genre *Pistacia* dans le monde.



Figure 02 : Distribution de *Pistacia lentiscus* dans le bassin méditerranéen

1.4. Utilisation thérapeutique traditionnelle de *Pistacia lentiscus L*

Pistacia lentiscus L. est connue pour ses propriétés médicinales depuis l'Antiquité (**Palevitch et Yaniv, 2000**). Elle est largement utilisée dans divers domaines :

- La racine est employée sous forme de décocté, pour le traitement de l'asthme, elle est utilisée aussi en bain de bouche pour soigner les algies dentaires et les gingivites, comme cicatrisant et comme antirhumatismal (**Ait Youssef, 2006**) ;
- Les feuilles ont pourvue d'action anti-inflammatoire, antibactérienne, antifongique. Elles sont également utilisées dans le traitement d'autres maladies telles que Les l'eczéma, la paralysie, la diarrhée, les infections de la gorge, les calculs rénaux et les maux d'estomac (**Duru et al., 2003 ; Kordali et al., 2003**). La poudre ou décoction de feuilles est utilisée pour guérir les troubles gastro-intestinaux (**Boullard, 2001**) ;
- Les fruits sont utilisés comme liniment en cas de douleurs dorsales (**Boullard, 2001**). Ils sont consommés pour apaiser le pyrosis (**Ait Youssef, 2006**).

1.5. Activité antibactérienne

Les extraits végétaux ont un large spectre d'activité. Leur action antibactérienne a largement été démontrée. Il en ressort que les bactéries Gram – sont moins sensibles que les bactéries Gram + car leur membrane externe contient des lipopolysaccharides (LPS), qui créent une barrière contre les macromolécules et les composés hydrophobes (**Walsh et al., 2003 et Starliper et al., 2015**). Ces composés naturels renferment un grand nombre de principes actifs et leur principale cible est la membrane cytoplasmique (**Hyldaard et al., 2012**). Les composés phénoliques (flavonoïdes, tanins,) de *Pistacia lentiscus* sont un moyen de défense contre les microorganismes.

Le nombre de groupement hydroxyle augmente la toxicité contre les micro-organismes soit par la chélation des ions métallique, soit par des interactions non spécifiques, telles que l'établissement des ponts hydrogènes avec les protéines des parois cellulaires, afin d'inactiver l'adhésion des microorganismes (**Cowan, 1999 ; Lin et al., 2005**).

2. Miel

2.1. Définition

Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar et autres matières sucrées (miellat) qu'elles récoltent sur des végétaux vivants, enrichissent de substances provenant de leurs propres corps, transforment dans leur corps, entreposent dans les rayons et font mûrir (Belhaj et al., 2015).

2.2. Différents types

Selon l'environnement du rucher, il existe deux types de miels (Patrick Chanaud, 2011)

- Les miels monofloraux, élaborés pas les abeilles à partir du nectar ou du miellat d'une espèce végétale unique ou très largement majoritaire.
- Les miels polyfloraux, élaborés par les abeilles à partir de plusieurs nectars et miellats provenant de plusieurs espèces végétales différentes.

2.3. Composition

Le miel est essentiellement composé de sucre, avec moins de 20% d'eau et de multiples autres substances en petites quantités (Michel Ricard, 2010).

Le tableau 02 présente la composition du miel

Tableau 02 : composition du miel (Pater , 2006)

constituants	Teneur en %
Lévulose (fructose)	41
Dextrose (glucose)	35
Saccharose	1.9
Dextrines	1.5
Minéraux	0.2
Autres	3.4
Eau	17

2.4. Propriétés thérapeutiques

Selon **Pierre Jean-Prost (2005)**, En raison de sa haute teneur en sucre, le miel :

- Est un aliment énergétique par excellence ;
- Ne peut pas convenir aux diabétiques.

Selon **Alix Lefief-delcourt (2014)**, tous les miels ont des vertus thérapeutiques communes, plus ou moins marquées selon leur origine florale. Ainsi, de manière générale et résumée on peut dire que le miel :

- Combat la fatigue et l'anémie grâce à sa richesse en sucres et sa capacité à favoriser la fixation des sels minéraux ;
- Empêche la prolifération des bactéries des virus et champignons ;
- Facilite la déjection et améliore le métabolisme ;
- Permet de prévenir l'apparition de certains cancers, maladies cardiovasculaires et neurodégénératives grâce à la présence d'antioxydants (flavonoïdes).

2.5. Activité cicatrisante

Selon **Alix Lefief –Delcourt (2014)**, Le miel a des propriétés pharmacologiques prouvées : antibactérien, anti-inflammatoire et cicatrisant grâce à sa très forte concentration en glucose et fructose (effet osmotique), son pH bas entre (3,2 et 5,4) et sa faible teneur en eau. Le miel peut s'utiliser de différentes manières, et pour traiter différents troubles avalé pur ou dilué, il aide à éliminer :

- **Brûlure, coupure, plaie légère** : La cicatrisation et donc la guérison des brûlures et autres plaies superficielles sont plus rapides qu'avec un pansement classique ;
- **Coup de soleil** : Le miel hydrate, cicatrise et apaise ;
- **Eczéma, psoriasis** ;
- **Gerçures, crevasses** : Sur les lèvres, les mains, les pieds ou les seins chez les mamans qui allaitent, les gerçures peuvent être très douloureuses grâce à ses vertus cicatrisantes et adoucissantes le miel apporte un vrai soulagement.

2.6. Activité antibactérienne

Le miel, en raison de sa faible teneur en eau, sa haute pression osmotique et sa forte acidité constitue un milieu défavorable à la multiplication bactérienne ; Ajoutent que le miel est bactériostatique grâce à la présence d'enzymes secrétées par l'abeille et de substances biologiques issues de nectars (**Fléché et al., 1997**).

Selon **Molan,(1992)** ; **Bogdanov et al., (2001)** ; **Masson,(2003)** ; **Kwakman et al.,(2012)**. Les propriétés antibactériennes du miel proviennent principalement des « inhibiteurs », dont:

➤ Osmolarité

Le miel D'abeille est une solution sucrée concentrée avec une pression osmotique élevée, cette dernière empêche la croissance microbienne par l'absorbance de l'eau vitale des agents pathogènes.

➤ Acidité

Le miel présente la plupart du temps un pH faible de 3 à 4, permet de ralentir ou d'empêcher la croissance de beaucoup d'espèces de bactéries qui ne peuvent se multiplier dans un milieu acide

➤ Peroxyde d'hydrogène " H_2O_2 "

Aujourd'hui, l'eau oxygénée (H_2O_2) aussi appelée peroxyde d'hydrogène, est considérée comme la principale inhibine contenue dans le miel ;

Le miel contient une enzyme appelée glucose-oxydase : celle-ci permet la transformation constante de petites quantités de sucre en peroxyde d'hydrogène ;

La formation de l'eau oxygénée est en outre influencée par la chaleur et la lumière, ces dernières altèrent le glucose oxydase et ralentissent ainsi la production d'eau oxygénée.

➤ Autres composants

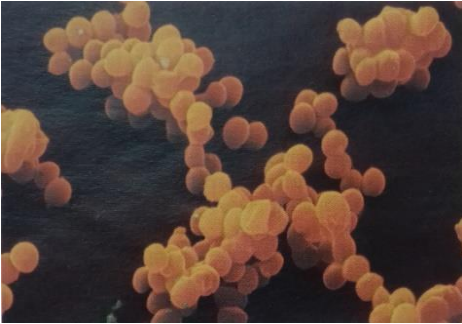

Différentes inhibines dites non peroxydes telles que des lysozymes, flavonoïdes, acides aromatiques possèdent des propriétés antimicrobiennes.

3. Bactéries

3.1. Caractérisation des bactéries (*Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*)

Les caractéristiques des bactéries étudiées présente dans le tableau 03

Tableau 03 : caractère des souches étudiées et leur pouvoir pathogène.

Souches	Caractère (Grosjean <i>et al.</i> ,2011)	Pouvoir pathogène (Grosjean <i>et al.</i> ,2011)
 <p>figure 01 : Aspect microscopique de <i>Staphylococcus aureus</i>(X100) (Perry <i>et al.</i>, 2004)</p>	<p>Coques à Gram+, regroupé en amas irrégulière ou en chaînette de 3 à 5 coques, immobile, aéro-anaérobies, mésophiles, non sporulés, catalase+, oxydase -, %(G+C) varie de 30 à 39%, pH optimal 6-7, bactérie ubiquitaire, flore résidente de la peau de l’homme et des animaux transitoire dans les autre flores.</p>	<p>Peut être à l’origine de toxi-infections alimentaires, entérocolites aiguës, infection suppuratives, syndrome de choc toxique, d’infection cutanées, sous-cutanées, muqueuses, de septicémies, staphylococcies osseuses, pleuropulmonaires, urogénitales, neuroméningées et l’endocardite staphylococcique.</p>
 <p>Figure 02 : aspect microscopique d’<i>Escherichia coli</i> (X100) (Leclerc <i>et al.</i>, 1976)</p>	<p>Bacille fine de 0.5 Um sur 2 à 3 Um de long à Gram- , la plupart mobile à 37°C, anaérobie facultatif, non sporulé, oxydase- , catalase+ ,bactérie commensale du tube digestif de l’homme et des animaux, retrouvée également dans l’environnement.</p>	<p>espèce commensale du tube digestif de l’Homme et des animaux, responsable des infections intestinales et extra-intestinales (infections urinaires, méningites néonatales, suppurations diverses).</p>

3.2. Classification des bactéries

Selon **Camille Delarras(2007)** la Classification phylogénique des bactéries utilisées est présenté dans le tableau 04.

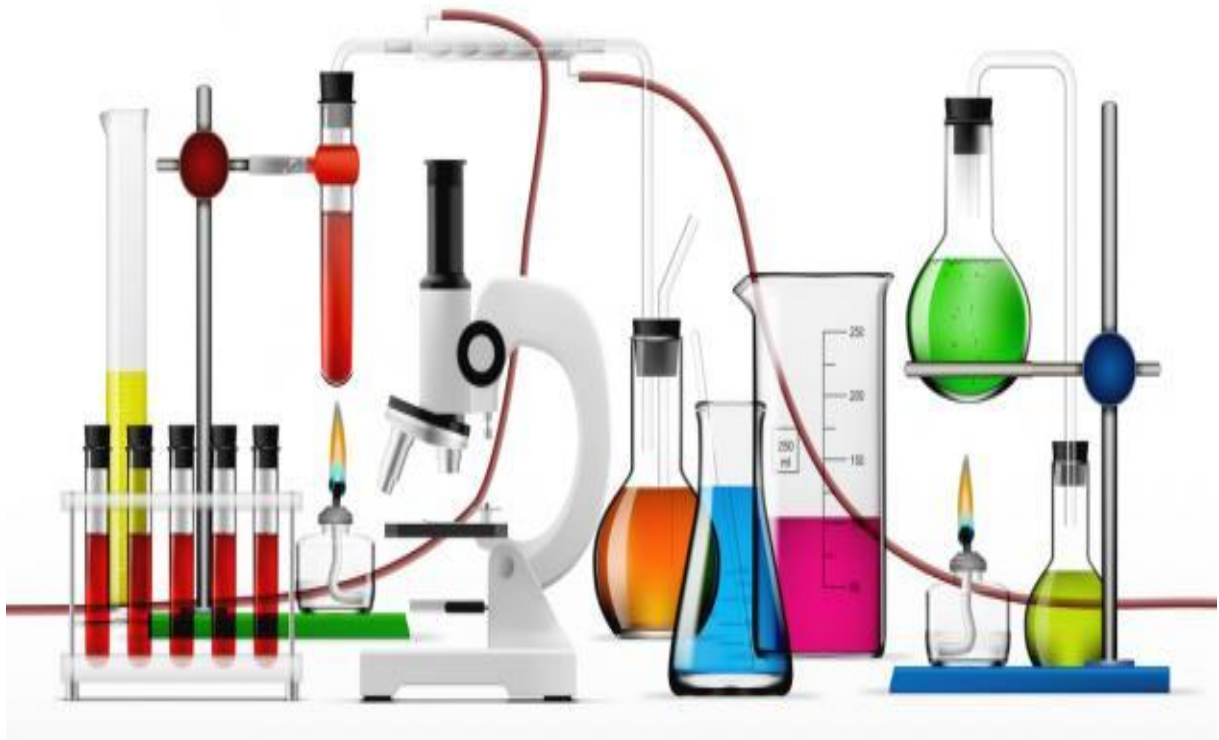
Tableau 04 : Classification phylogénique de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
<ul style="list-style-type: none"> • Règne : Bacteria • Phylum : proteobacteria • Classe : gammaproteobacteria • Ordre : enterobacterales • Familles : enterobacteriaceae • Genre : <i>Escherichia</i> • Espèce : <i>Escherichia coli</i> 	<ul style="list-style-type: none"> • Règne : Bacteria • Phylum : firmicutes • Classe : Bacilli • Ordre : Bacillales • Familles : Staphylococcaceae • Genre : <i>Staphylococcus</i> • Espèce : <i>Staphylococcus aureus</i>

Deuxième partie :

Partie

Expérimentale



Chapitre 01 :

Matériel et méthodes



1. Objectifs

Les objectifs de notre travail visent à :

- Caractériser l'extrait aqueux des feuilles de lentisque et du miel ;
- Ré-identifier les souches bactériennes *E.coli* et *S.aureus* ;
- Evaluer l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux des feuilles *Pistacia lentiscus L.* et l'activité antibactérienne du miel ;
- Etudier le pouvoir antibactérien du mélange (l'extrait aqueux et le miel) ;
- Déterminer la concentration minimale d'inhibitrice du mélange (l'extrait aqueux et le miel).

2. Lieu de travail

Notre partie expérimentale a été réalisée aux laboratoires de microbiologie et de technologie agroalimentaire de la faculté de science de la nature et de la vie de l'Université Ibn khaldoun Tiaret pendant une période allant du 13 avril 2021 au 27 mai 2021.

3. Matériel et méthodes

3.1 Matériel

3.1.1. Matériel biologique

- **Les souches bactériennes**

Les bactéries utilisées dans notre partie expérimentales sont obtenus à partir du laboratoire de microbiologie.

- ❖ *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- ❖ *Escherichia coli* ATCC 25922

- **Les antibiotiques** utilisés dans notre expérimentation sont donné dans le tableau 05

Tableau 05 : Les antibiotiques

Antibiotiques	Signes	Antibiotiques	Signes
Pénicilline G	P₁₀	Colistine	CT₁₀
Chloramphénicol	C₃₀	Fosfomycine	FO₂₀₀
Streptomycine	S₁₀	Acide nalidixique	NA₃₀
Métronidazole	MTZ₅	Cefazoline	CZ₃₀
Gentamicine	CN₁₀	Oxacilline	OX

3.1.2. Matériel du laboratoire

Le matériel utilisé dans notre expérimentation est donnée dans le tableau 06.

Tableau 06 : Appareillages, verreries, réactifs, produits chimiques et autres.

Appareillage	Verreries
-Etuve (MEMMERT) -Balance analytique (KERN 440-45N) -Agitateur à plaque chauffante (IKA RCT Basic) -Bain marie (MEMMERT) -Réfrigérateur (BAUKNECHT) -Vortex (VELP SCIENTIFICA) -Thermomètre (COOKING Thermo/Timer) -Microscope optique (OPTIKA B-350) -Autoclave (WOLF) -Incubateur 44° (MEMMERT) -Stérilisateur (HERAEUS INSTRUMENTS) -Spectrophotomètre UV-V (JENWAY 7205) -Bec bunsen - Réfractomètre -pH mètre (METTLER TOLEDO)	-Béchers (200, 250,500ml) -Eprouvettes graduées (100,500ml) -Pipette graduée (1ml) -Tube à essai -Erlenmeyer -Entonnoir -Verre de montre -Mortier et pilon -Flacon en verre -Pipette pasteur - Lames
Réactifs et produits chimiques	Autres
-Chlorure de fer (FeCl_3 5%) -Sulfate de cuivre (CuSO_4) -Tartrate double de sodium et potassium -Eau distillée -Hydroxyde de sodium (soude) (NaOH) -Alcool (Ethanol 95%) -Magnésium (Mg) -Ethanol absolu ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$) -Acide sulfurique (H_2SO_4 à10%) - NH_4OH -Eau oxygéné (H_2O_2) -Chlorure de sodium (NaCl) -Lugol -Fushine -Violet de gentiane	-Barreau aimanté -Support tube à essai -Pince en bois -Spatule -Pipetteur -Pissette -Papier filtre -Tamis (90um) -Pince en bois et en métal -Anse de platine -Boîtes pétries -Micropipette (20ul) -Seringue -Ecouvillon

- **Milieu de culture (voir annexe01)**

- **Chapman** : utilisé pour la recherche et le dénombrement de *staphylococcus aureus*
- **Mac conkey** : utilisé pour la recherche et le dénombrement d'*Escherichia coli*
- **Muller Hinton** : pour les tests de l'activité antibactérienne
- **Gélose nutritive** : pour la revivification des souches (*S.aureus et E.coli*)

- **Les feuilles de lentisques**

La récolte des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* à été réalisé au niveau de la région de Tidda (Melaab) de la wilaya de Tiaret au mois de mars 2021 (photo 03).

- **Le miel**

Tableau 07 : origine de miel utilisé (photo 04)

Miel	Région	Wilaya	Origine florale	Année de récolte	Mode d'extraction	couleur
sidr	Ferdjioua	Mila	Jujubier <i>Ziziphus lotus</i>	2019	manuelle	Marron foncé



Photo 03 : La récolte des feuilles de *pistacia lentiscus L.* (prise personnelle ,2021)



Photo 04 : miel de Jujubier/Sidr (prise personnelle ,2021)

- **Sites d'échantillonnages :**

Les situations géographiques ainsi que les états bioclimatiques de la région de la récolte sont représentés dans le tableau 08 et la figure 03.

Tableau 08 : Situations géographiques des feuilles de lentisque et du miel.

Région	Wilaya	Latitude	Longitude	Etats bioclimatique
Tidda	Tiaret	35°34'57'' N	1°15'58'' E	climat continental dont l'hiver est rigoureux et l'été est chaud et sec
ferdjioua	Mila	36.4089 36°24'32'' N	5.94575 5°56'45'' E	Climat méditerranéen avec été chaud

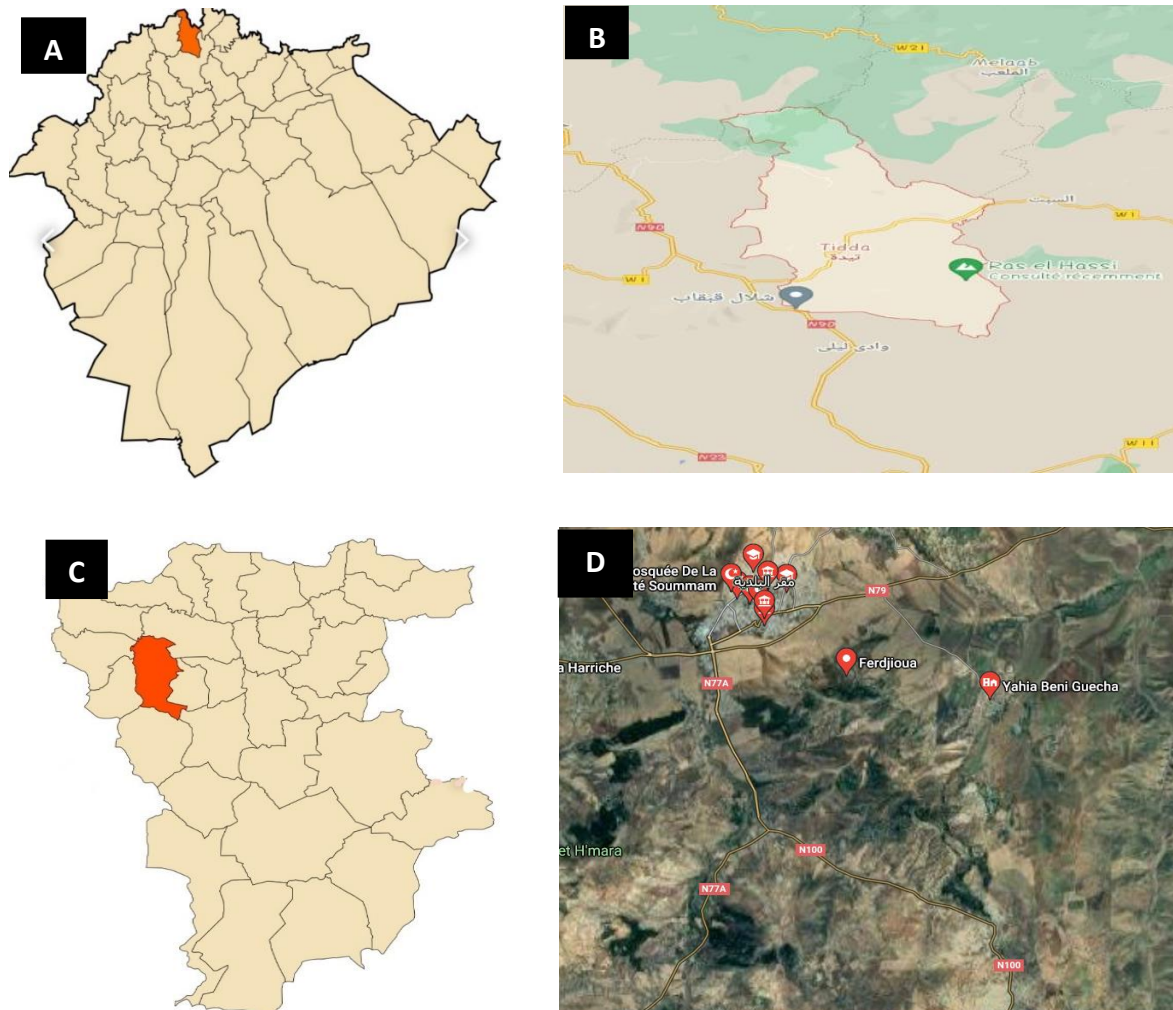


Figure 03 : Situations géographiques (Google Maps)

A : Localisation de la commune Tidda dans la wilaya de Tiaret.

B : site d'échantillonnage des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*

C : Localisation de la commune ferdjioua dans la wilaya de Mila.

D : site d'échantillonnage du miel.

3.2. Méthodes

3.2.1. Protocole expérimentale

Les principales étapes de notre partie expérimentale sont résumées dans la figure 04.

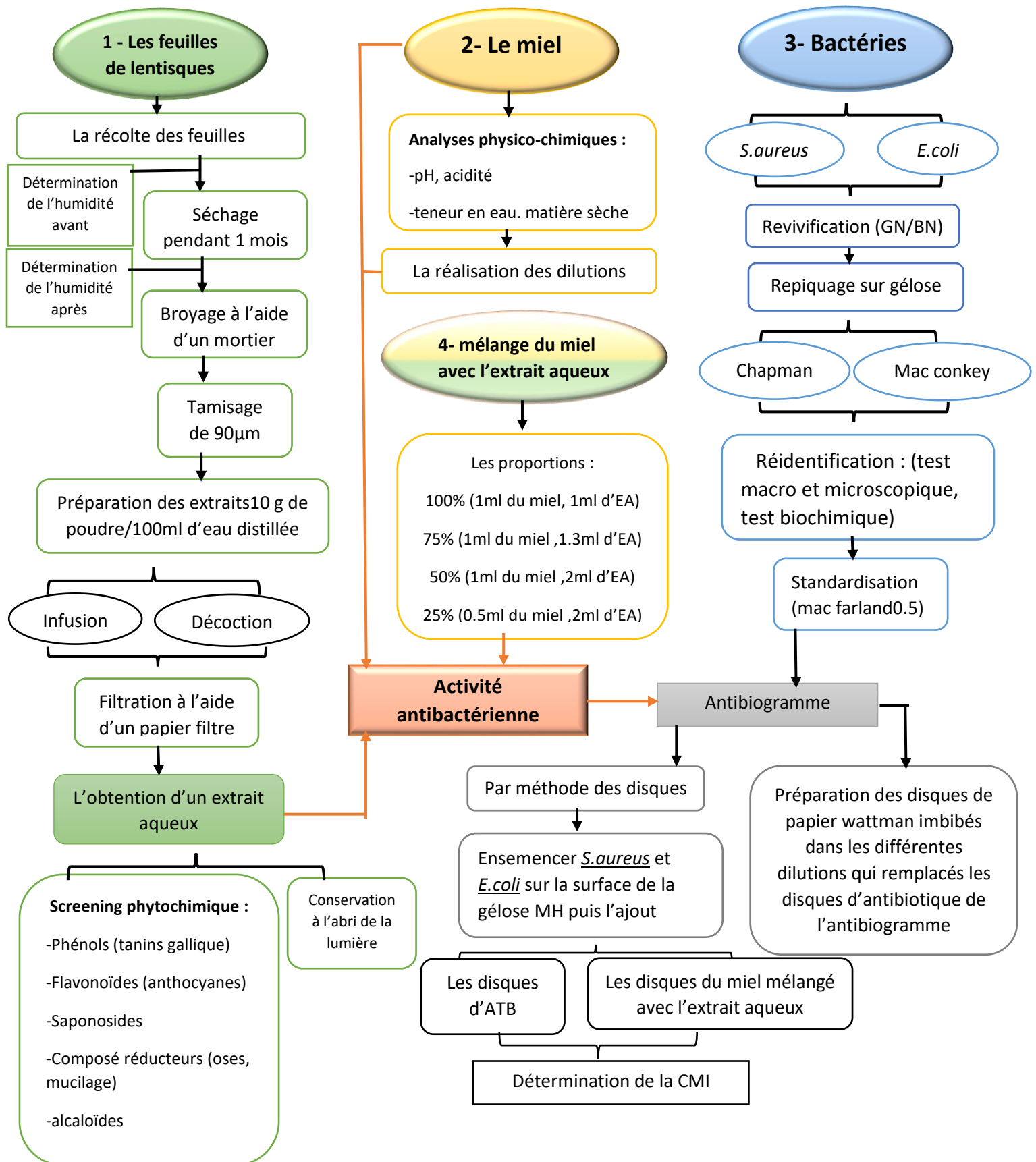


Figure 04: protocole expérimental

3.2.2. Détermination de l'humidité

Le principe de la détermination de l'humidité des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* est la différence de masse avant et après séchage du matériel végétal. La teneur de l'humidité est donnée par la relation suivante :

$$(\%) \text{ humidité} = \frac{\text{masse de l'échantillon avant séchage} - \text{masse après séchage}}{\text{masse de l'échantillon avant séchage}} \cdot 100$$

3.2.3. Traitement des échantillons

✓ Séchage

Après la collecte du matériel végétal, les feuilles préalablement débarrassées de toutes poussières et toutes autres impuretés, ont été séchées dans un endroit aéré et ombragé pendant un mois.

✓ Broyage

La réalisation de cette étape doit être minutieuse et non dénaturante pour permettre l'obtention d'une poudre végétale fine et homogène. La matière sèche obtenue a été broyée à l'aide d'un pilon dans un mortier de laboratoire jusqu'à l'obtention d'une poudre fine.

✓ Tamisage

La poudre des feuilles de *P.lentiscus* obtenue a été tamisée avec des tamis à différentes granulométries (1mm, 125 et 90 µm) ont été conservées à l'abri de la lumière dans des flacons en verre. Ces trois étapes sont résumées dans la **figure 01 Annexe 04**.

3.2.4. Méthodes d'extraction

Dans le cadre de ce travail, deux procédés d'extraction aqueux sont testés. L'infusé et le décocté ont été préparés selon la méthode adoptée par **Sqalli et al., (2007)** en utilisant 10 g de poudre par 100 ml d'eau distillée

➤ Extraction aqueuse par infusion

Dans un bécher versé 100 ml d'eau distillé bouillante à température de 90 °C mesurer par un thermomètre sur 10 g de poudre des feuilles de lentisque sous l'agitation, laissé reposer 10 à 15 minute.

➤ Extraction aqueuse par décoction

10 g de poudre des feuilles de lentisque versé dans l'eau distillée froide et portés à l'ébullition jusqu'à 90 °C sous l'agitation magnétique.

Filtration à l'aide d'un papier filtre. L'extrait aqueux obtenu est conservé au réfrigérateur à 4°C pour des utilisations ultérieures (**Cheurfa et al., 2015**).

Toutes ces étapes sont données par l'organigramme illustré dans la figure 05.

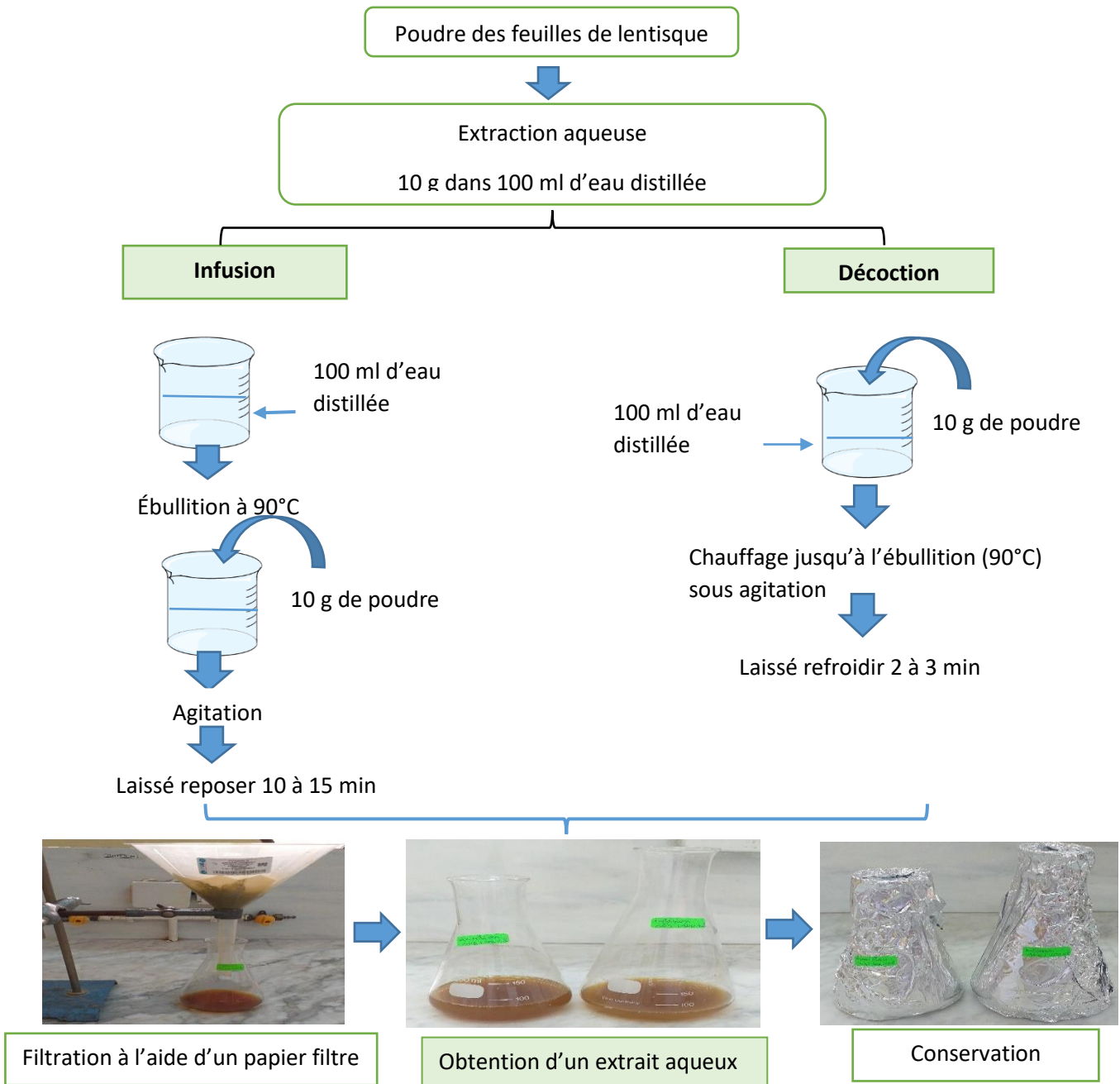


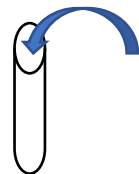
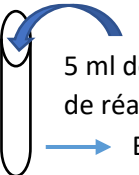



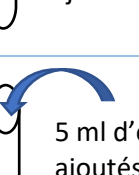
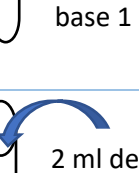
Figure 05 : les différentes étapes de l'obtention d'un extrait aqueux.

3.2.5. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de *pistacia lentiscus L.*

Screening phytochimique ou criblage phytochimique est une étude qualitative visant la recherche des principaux groupes chimiques (tanins, alcaloïdes, flavonoïdes, Saponosides et composés réducteurs) contenus dans un organe végétal. Les tests de Caractérisation sont basés sur des réactions de précipitation et de complexations avec Formation de complexes insolubles et colorés (**Bammou et al.,2015**).

Le tableau 09 présente les tests de caractérisation des feuilles de *pistacia lentiscus L.*

Tableau 09: Screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *pistacia lentiscus L.* (Bammou, 2015)

Tests	Méthodes	Observation
Phénol (tanins)	 2ml de l'extrait aqueux + 2 à 3 goutte de (FeCl)	-Coloration verdâtre prouve la présence des tanins catéchiques. -Coloration bleu noir prouve la présence des tanins galliques.
Composés réducteurs	 5 ml de l'extrait aqueux + 1ml de réactif Fehling → Bain marie (5 min)	-coloration rouge brique indique la présence des composés réducteurs.
Flavonoïdes	 5 ml d'extrait aqueux + 1ml de (HCL) et 0.5 de Mg	-L'apparition après 3 minutes d'une coloration rouge ou rose prouve la présence des Flavonoïdes.
Saponosides	 10 ml de l'extrait aqueux Agitation pendant 15s et → laissé reposer durant 15 min	-Une hauteur de mousse persistante, supérieure à 1 cm indique la présence de saponosides.
Mucilages	 1 ml du décocté à 10 % et ajout de 5 ml d'Éthanol absolu	-l'obtention d'un précipité floconneux par mélange, indique la présence de mucilages.
Anthocyanes	 5 ml d'extrait d'infusé à 5%, furent ajoutés 5ml d' H2SO4 (10 %) puis une base 1 ml de NH4OH	-Si la coloration augmente par acidification, puis vire au bleu-violacé en milieu basique, la présence d'anthocyanes est confirmée.
Alcaloïdes	 2 ml de l'extrait aqueux + 2ml de réactif de Wagner (0.2 g KI + 0.127 g de I ₂ + 10 ml d'eau distillée)	-L'apparition d'un précipité blanc jaune indique la présence des Alcaloïdes.

3.2.6. Analyse physico-chimique du miel

3.2.6.1. Détermination de la teneur en eau

L'indice de réfraction du miel est fonction de la teneur en eau et de la température, la mesure se fait par le réfractomètre et en se référant à la table standard de Chataway revue et à mis à jour par la commission international du miel (**Hocine, 2017**).

Le miel a analysé doit être homogénéisé et parfaitement liquide. Si le produit se trouve à l'état cristallisé, il nécessaire de le refondre dans un flacon à fermeture hermétique place à l'étuve à 40°C ou bain marie à 50°C jusqu'à ce que tous les cristaux de sucre soient dissous. Etalonner l'appareil avec l'eau distillée ($n_{D20}=1.3330$).

Après refroidissement à température ambiante, à l'aide d'une spatule, une goutte de miel est déposée et étalée en couche mince sur la platine du prisme.

La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre zone claire et zone obscure.

La détermination de l'indice de réfraction se fait à 20°C, puis on se réfère à la table de Chataway (**voir annexe 05**) pour déduire la teneur en eau (**Bogdanov et al., 1997 ; CIM ,2009**).

3.2.6.2. Détermination de taux de Matière sèche

La matière sèche ou degré Brix est évaluée grâce à la méthode de la réfractométrie après mesure de l'indice de réfraction et la teneur en eau (**Coulibaly et al., 2019**).

3.2.6.3. pH et Acidité libre

Pour mesurer l'acidité, nous avons utilisé la technique décrite par les méthodes harmonisées de la commission européenne du miel (**Bogdanov et al.,1997**) et le **rapport de la CIM ,(2009)**, qui consiste à dissoudre 10 g de miel dans 75ml d'eau distillée dans un bécher de 250 ml.

Rincer l'électrode avec de l'eau distillée puis sécher avec du papier joseph. Puis mélangé à l'aide d'un agitateur magnétique et, après l'étalonnage du pH, Plonger l'électrode sèche dans la solution à analyser, puis noter les mesures après stabilisation de la valeur du pH qui s'affiche automatiquement.

Après la lecture du pH, titrer ensuite avec une solution de NaOH, 0.1N en présence de phénolphtaléine comme indicateur de couleur.

La lecture est effectuée dans l'apparition de la couleur rose indique le titrage à pH 8.5 (**Hocine, 2017**).

Le résultat est exprimé par la formule suivante :

$$\text{Acidité libre (még/kg)} = \text{Volume en ml de NaOH versé} \times 10$$

3.2.7. Réalisation d'une dilution décimale de miel et l'extrait aqueux des feuilles de lentisque (voir annexe 04, photo 04,05, 06).

Cette technique a pour but de créer des concentrations décroissantes de l'échantillon original. Selon **Benaissa (2020)**, le mode opératoire de la réalisation des dilutions en série ou successives (10^{-1} ,, 10^{-10}) est comme suit :

1. Homogénéiser l'échantillon à prélever (le miel et l'extrait aqueux) à l'aide d'un vortex ;
2. Desserrer délicatement le bouchon et flamber l'ouverture du tube ;
3. Utiliser une pipette stérile pour prélever 1 ml de l'échantillon ;
4. Flamber et refermer le tube. Ouvrir le tube de 9 ml de diluant, flamber l'ouverture y introduire le volume prélevé. cette solution constitue la première dilution (10^{-1}) ;
5. Flamber et refermer le tube, jeter la pipette souillée dans le bac à eau de javel ;
6. La dilution suivante s'effectue en partant du tube de la dilution précédente. 1ml de la dilution précédente dans 9ml de diluant nous donne la dilution suivante. L'opération est poursuivi jusqu'à la dilution désirée (10^{-10}).

3.2.8. Revivification des souches bactériennes

Les souches de bactéries *S. aureus* et *E.coli* conservées dans du glycérol ont été prélevées à l'aide d'un écouvillon, dans des boîtes pétries contenant la gélose nutritive et des tubes contenant du bouillon nutritif. Puis incubé 24 heures à 37°C (**voir annexe 06, photo 11**).

3.2.9. Repiquage des bactéries sur des milieux sélectifs

La gélose Mac conkey est ont été utilisée pour détecter *E. coli*, les sels biliaires ou les colorants comme le Crystal violet et le rouge neutre favorisent la croissance des bactéries Gram-négatif.

La gélose de Chapman est un milieu à la fois sélectif et différentiel de bactéries à Gram positif. Son pouvoir inhibiteur est obtenu par des fortes concentrations de Na cl (75g/L) qui sélectionnent les micro-organismes halophiles comme *staphylococcus aureus*.

Selon **Tebibel et al., (2011)**, le mode opératoire est comme suit :

A l'aide d'un écouvillon stérile l'inoculum est déposé en un point périphérique de la surface du milieu parfaitement sèche. L'inoculum est disséminé par une série de stries parallèles très rapprochées sur une moitié de la boîte de pétrie. Après avoir faire tourner la boîte d'un quart de tour, on effectue un nouvel ensemencement sur une moitié de la boîte par des stries perpendiculaires aux premières. Enfin, en ensemencement de la même façon le dernier quadrant 4 en disséminant les bactéries déposées sur le quadrant 3. Incuber à 37 C° pendant 24 heures (**voir annexe 06, photo 10**)

3.2.10. Ré-identification

3.2.10.1 Test morphologiques

L'étude de la morphologie bactérienne permet une orientation préliminaire pour l'identification.

3.2.10.1.1. Observation macroscopique

L'examen macroscopique est porté sur l'observation des colonies à l'œil nu qui consiste à déterminer les paramètres suivants : (la forme, la taille, pigmentation, contour, viscosité)

3.2.10.1.2 Observation microscopique

Permet l'étude morphologique des cellules d'espèces microbiennes :(coques ou bacilles, organisés en chaînette ou isolés ..., G+ ou G- ...)

3.2.10.1.2.1 Coloration de Gram

C'est la coloration de base qui permet de différencier les bactéries (leur forme et leur affinité pour les colorants liées à la structure générale de la paroi).

La figure 06 résume la technique de coloration de Gram.

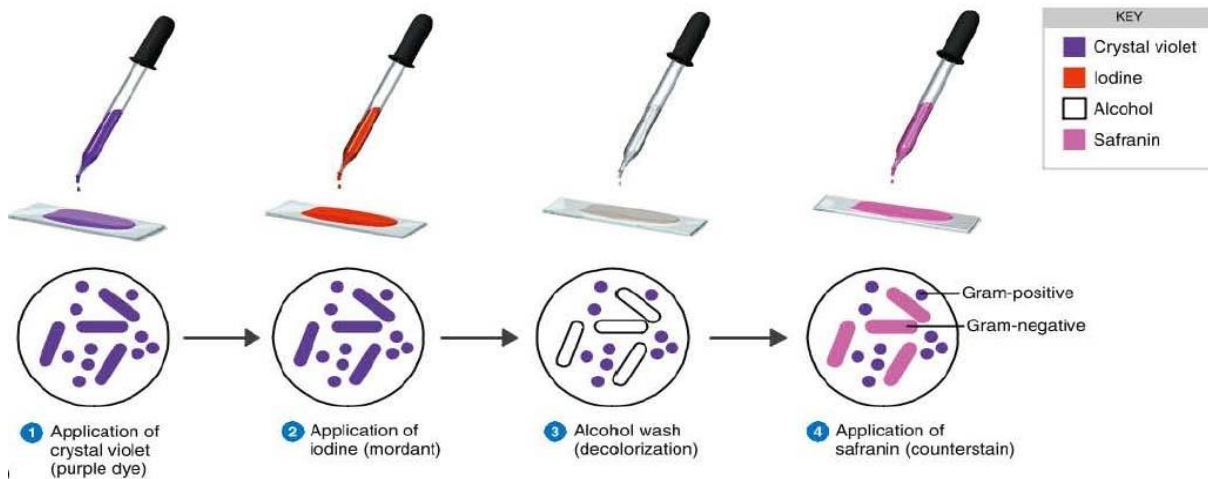
✓ **Techniques**

Figure 06 : la technique de coloration de Gram **Tortora et al.,(2012).**

Réalisé un frottis séché et fixé, recouvrir le frottis bactérien avec la solution de violet de gentiane. Laisser agir 1 minute. Rincer la lame inclinée avec de l'eau distillée pendant quelques secondes. Recouvrir la Lame avec la solution de lugol. Laisser agir pendant 1 minute. Rincer la lame avec de l'eau distillée pendant quelques secondes. Faire couler un film d'éthanol sur la lame pendant 30 secondes à 1 minutes jusqu'à Cessation de l'émission de couleur violette. Rincer la lame avec de l'eau distillée pour Éliminer l'alcool. Recouvrir la lame avec la solution de fuchsine pendant 1 à 20 secondes Puis rincer la lame avec de l'eau distillée. Ajouter une goutte d'huile à immersion et Sécher la lame avec du papier absorbant. Observation au microscope avec l'objectif à immersion (**Senouci et al., 2010**).

3.2.10.2. Caractérisation biochimiques :

Selon **Camille delaras (2007)** ,Les test de catalase et l'oxydase est comme suite :

➤ **Test de catalase**

La catalase est une enzyme présente chez la plupart de bactéries aérobies strictes et anaérobies facultatif .la recherche de cette enzyme est utile pour différencier les bactéries Gram positif comme *Staphylococcus aureus*.

✓ **Technique**

Prendre une lame propre, rincées et séchées puis à l'aide d'une anse de platine stérile on Émulsionne une quantité suffisante d'une culture bactérienne de 24h prélevées sur milieu

Gélose, ajouter 2 à 3 gouttes d'eau oxygénés et observer.

✓ **Lecture**

- Le dégagement de bulles de gaz \longrightarrow **Catalase +**
- Pas dégagement de bulles de gaz \longrightarrow **Catalase -**

Comme la réaction suivante apparaît



➤ **Test oxydase**

Oxydase ou cytochrome oxydase est une enzyme présente dans certaines chaînes

Respiratoires cytochromiques bactériennes. la recherche de cette enzyme est utile dans les

Bacilles à Gram négatif comme *Escherichia coli*.

✓ **Technique**

Déposer, sur une lame propre, rincées et séchées, un disque « OX » et l'imbiber avec une goutte d'eau distillée ou d'eau physiologie stérile. Prélever des colonies de la suspension bactérienne à l'aide d'une pipette pasteur boutonnée stérile et frotter doucement la colonie sur le disque

✓ **Lecture**

- Une coloration violet foncé apparaît immédiatement sur le disque ou en quelque seconde Puis vire au noir \longrightarrow **Oxydase positif.**
- Pas de coloration \longrightarrow **Oxydase négatif.**

3.2.10.2.1. Identification biochimique d'*E.coli* à l'aide des micro-galeries (API20E)




Selon **Camille delarras (2007)**, la galerie API 20E et le mode opératoire de la galerie API 20E est comme suivant :

- A partir d'une culture pure (de 18 à 24 h) d'entérobactérie identifiable sur la galerie API 20 E, préparer une suspension bactérienne homogène (inoculum).
- Inoculer la galerie suivant le mode opératoire, en notant que :
 - pour les tests CIT, VP, GEL, les tubes et les cupules doivent être remplis avec la suspension bactérienne.
 - pour les tests ADH, LDC, ODC, H₂S et URE, les cupules sont remplies d'huile de paraffine afin d'obtenir une anaérobiose.
- incuber à 37 c pendant 24 heures.
- Après l'incubation ajouter les réactifs correspondants présentés dans le (**tableau 01 annexe 03**) et voir la résultat.

3.2.10.2.2. Identification biochimique des isolats à l'aide des macro-galeries

Les différents tests pratiqués sont détaillées dans le tableau 10.

Tableau 10 : les tests biochimiques de *S.aureus* et *E. coli* (**Debbi et al., 2019**).

aspect de milieu avant l'ensemencement	Mode d'ensemencement	Caractère recherché	Lecture
<p>Mannitol mobilité</p> <p>Principe :</p>  <p>Ce milieu permet l'étude de la fermentation du mannitol, il permet aussi la mise en évidence de la mobilité bactérienne</p> <p>Photo : mannitol mobilité, laboratoire de microbiologie,2021.</p>	<p>le milieu mannitol est ensemencé par piqure centrale à l'aide d'une pipette pasteur chargée de la culture bactérienne en milieu semi-solide incubé à 37°C pendant 24 h</p>	<p>-fermentation de mannitol -la mobilité</p>	<p>-Mannitol (+) : Apparition d'une coloration jaune. -Mannitol (-) : Milieu reste rouge. -Mobilité (+) : Diffusion de la culture à partir de la ligne d'ensemencement en créant une trouble du milieu. -Mobilité (-) : Pas de diffusion.</p>
<p>TSI</p> <p>Principe :</p>  <p>La gélose TSI permet l'identification des Entérobactéries par la mise en évidence rapide de la fermentation du lactose, du glucose, du saccharose et de la production de sulfure d'hydrogène H₂S.</p> <p>Photo : TSI, laboratoire de microbiologie ,2021.</p>	<p>Ensemencement de la pente par des stries serrées puis le culot par piqure centrale et l'incubation est réalisée à 37 °C pendant 24h. -le bouchon de milieu ne doit pas être trop vissé</p>	<p>-Lactose -Glycose -Saccharose -Gaz -Production d'H₂S</p>	<p>-Lactose (+) : Virage de la pente au jaune. -Saccharose (+) : Virage de la pente au jaune. -Glucose (+) : Virage de culot au jaune et bactérie aéro-anaérobie. -Gaz (+) : Apparition des bulles ou des poches gazeuse qui décalent la gélose de fond de tube. -Production d'H₂S : Noircissement du milieu.</p>
<p>Citrate de Simmons</p> <p>Principe :</p>  <p>Utilisé pour l'identification des entérobactéries par l'utilisation du citrate comme seule source de carbone</p> <p>Photo : citrate de Simmons laboratoire de microbiologie, 2021.</p>	<p>Ce milieu peut être utilisé aussi bien en tube gélose incliné qu'en boîte de pétri. Dans les deux cas ensemencer légèrement la surface du milieu par stries et pour les tubes en pente jusque dans le culot, puis incubation.</p>	<p>-utilisation de citrate</p>	<p>-Citrate (+) : Virage de milieu au bleu et une culture de colonie sur la pente</p>

3.2.11. Activité antibactérienne

3.2.11.1. Préparation de l'inoculum bactérienne

Des colonies morphologiquement similaires ont été prélevées à l'aide de l'anse de platine stérile à partir d'une culture jeune de 18h à 24h d'incubation et déchargées dans 9ml d'eau physiologique stérile ; la suspension bactérienne peut être ensemencée précédemment sur gélose nutritif ou MH.

L'inoculum obtenu doit être bien homogénéisé à l'aide d'un vortex, et sa densité optique mesurée par le spectrophotomètre doit être comprise entre 0,08 à 0,13 à une longueur d'onde à 625nm.

La turbidité de l'inoculum été ajustée à celle de la turbidité du standard 0,5 Mc Farland (**voir annexe 06**)

L'inoculum doit être ajusté en ajoutant de la suspension s'il est trop faible, ou il faut le diluer s'il est trop chargé .l'inoculum recommandé est d'environ 10^7 à 10^8 UFC .l'ensemencement se fait juste après la préparation de l'inoculum (**Andrew ,2008**).

3.2.11.2. Technique de diffusion en milieu solide

Selon **Senouci et al., (2010)**,la méthode de diffusion en milieu solide est :

L'évaluation de l'activité antibactérienne des différents extraits (infusés, décoctés) des feuilles de *Pistacia lentiscus*, du miel testé et du mélange (miel + extrait) est réalisée par la méthode de diffusion en milieu solide qui permettre la détermination des diamètres des zones d'inhibitions.

L'inoculum qui a été préalablement préparé est ensemencé dans des boites de pétri à la surface du milieu Muller Hinton en utilisant un râteau préparé d'une pipette pasteur.

Des disques de 6 mm de diamètre, découpés sur papier wattman N1, stérilisés à la chaleur humide et imprégnés à raison de 25 μ l d'extrait à tester infusé ,décocté, du miel pure et pour chaque dilution (10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8} , 10^{-9} et 10^{-10}) . Après quelques minutes et jusqu'à l'absorption totale de l'extrait et du miel, les disques ont été déposés à la surface de milieu préalablement ensemencé.

Des disques d'antibiotiques ont été testés pour chacune des deux bactéries par la même méthode comme standard pour notre manipulation.

Les boîtes sont placées dans l'étuve pendant 24 heures à 37 °C. Toutes ces étapes sont expliquées et résumées dans la figure 07.

Le mélange entre le miel avec l'extrait infusé, et entre le miel avec l'extrait décocté a été préparé dans des tubes à partir des dilutions bien sélectionnées présentées dans la figure 08.

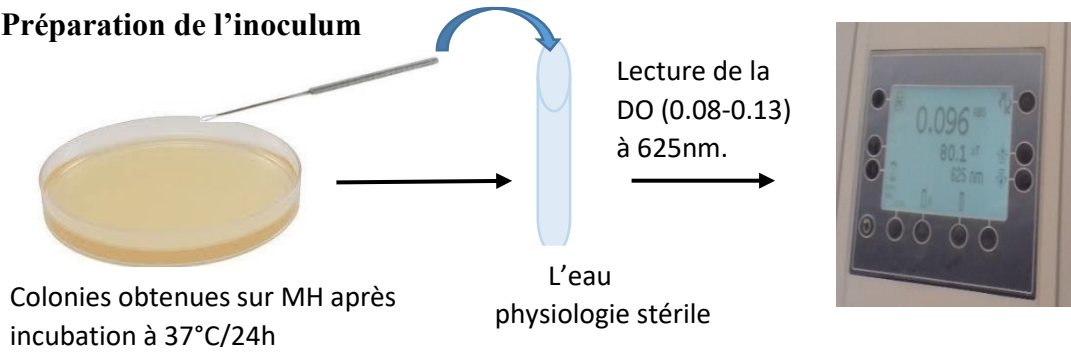
En respectant des pourcentages successifs entre le miel et l'extrait qui est considéré comme un diluant du miel, il est également représenté sur la figure 08.

La lecture

La lecture se fait par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition et peuvent être symbolisés par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis d'HE et d'extraits (**Ponce *et al.* 2003**).

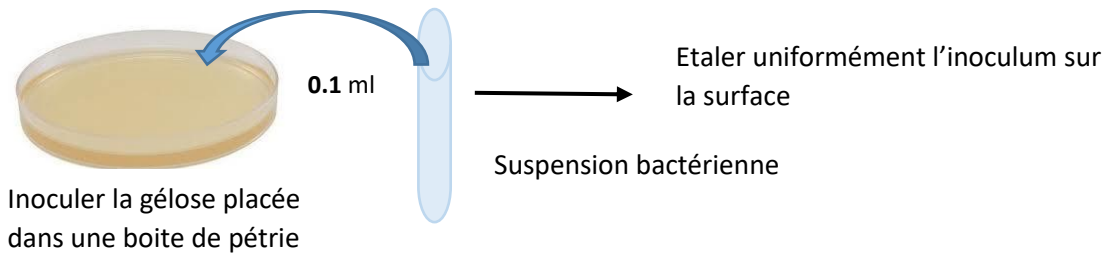
- Non sensible (-) ou résistant : diamètre < 8 mm
- Sensible (+) : diamètre compris entre 8 et 14 mm
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 14 et 20 mm
- Extrêmement sensible (+++) : diamètre > 20 mm

Préparation de l'inoculum

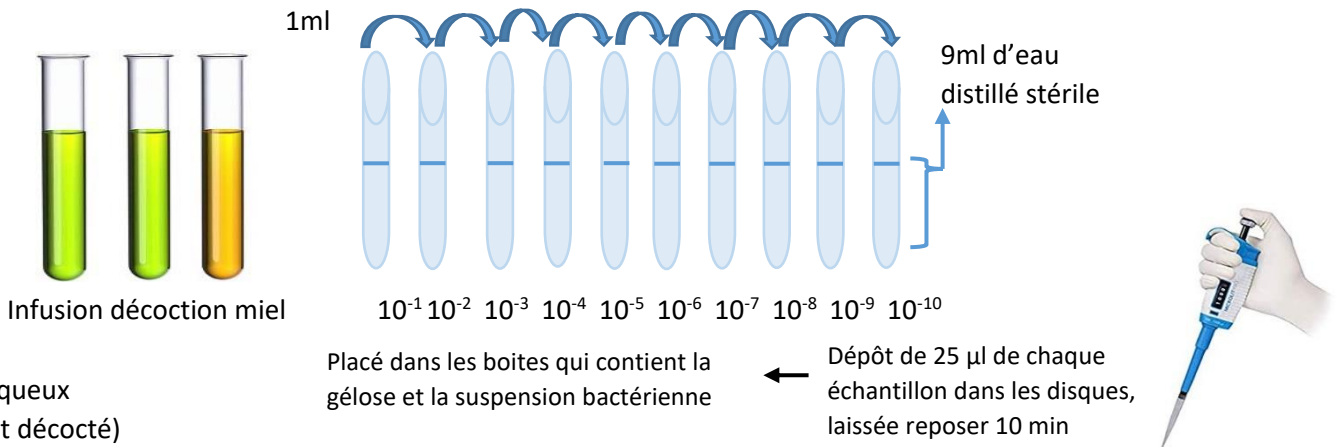


Technique de diffusion en milieu solide

➤ **Ensemencement en surface**



➤ **Préparation des dilutions successives pour l'extrait aqueux (infusé/décocté) et du miel**

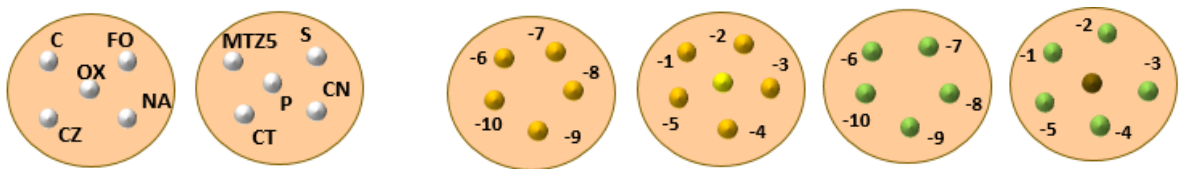


● Extrait aqueux (infusé et décocté)

● Miel pure

● ATB

● Extrait concentré

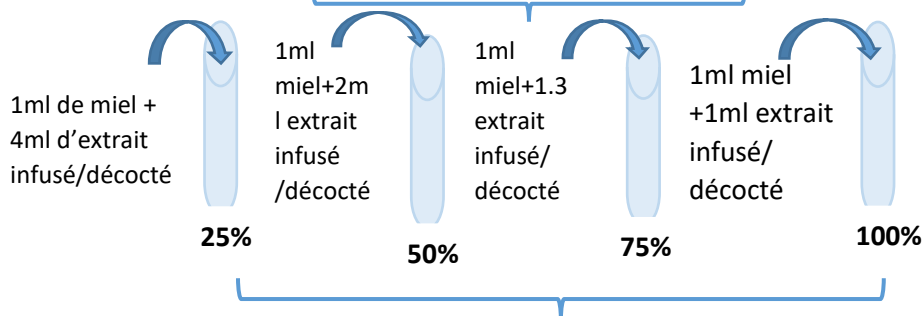
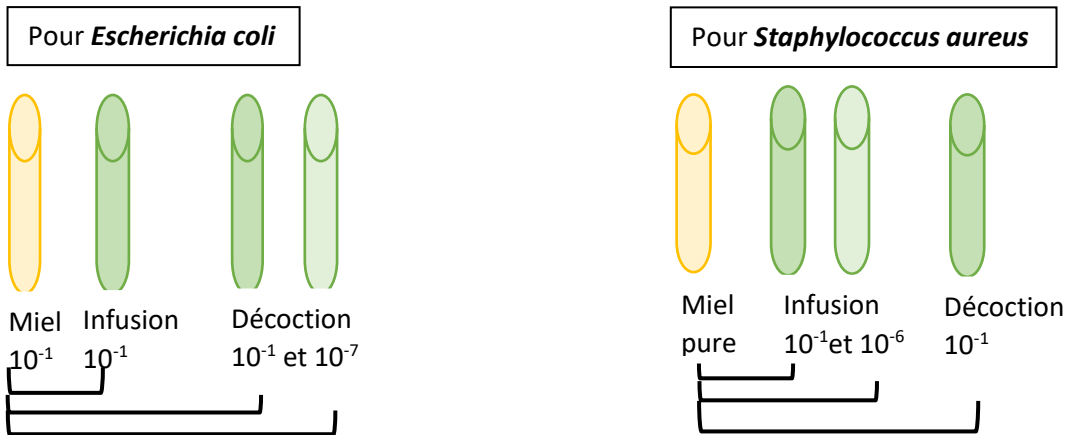
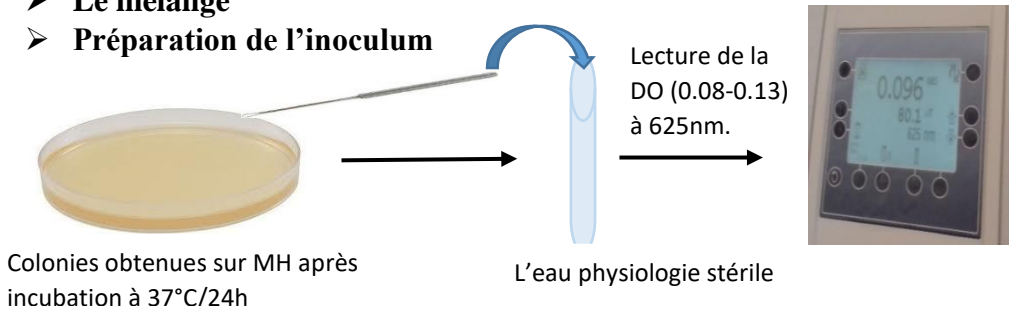


Incubation à 37°C pendant 24h

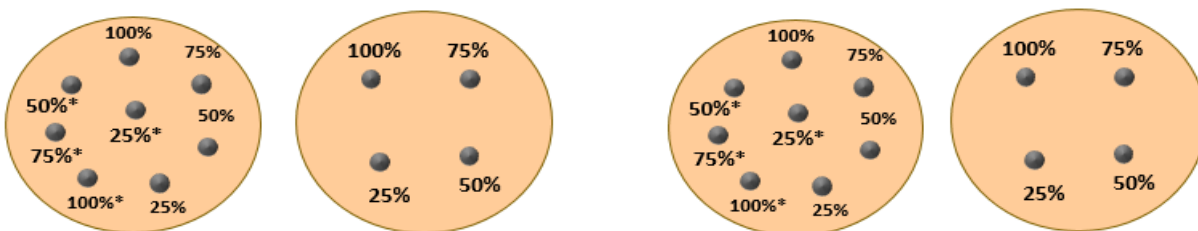
Mesure des zones d'inhibition

Figure 07 : Schéma récapitulatif de la méthode de diffusion par disques de l'extrait aqueux et le miel

- Le mélange
- Préparation de l'inoculum



Placé dans les boîtes qui contient la gélose et la suspension bactérienne ← Dépôt de 25 µl de chaque échantillon dans les disques, laissée reposer 10 min



Mélange miel et décoction /mélange miel et infusion pour *E.coli*

Mélange de miel et décoction /mélange de miel et infusion pour *S.aureus*



Figure 08 : Schéma récapitulatif de la méthode de diffusion par disques de mélange du miel avec l'extrait aqueux des feuilles de lentisques

3.2.11.3. Détermination de concentration minimale inhibitrice (CMI)

En utilisant la méthode de dilution en milieu solide qui consiste à déterminer dans des conditions expérimentales rigoureusement définies, la plus petite concentration capable d'inhiber la croissance du germe considéré ou concentration minimale inhibitrice (C.M.I). (Senouci et al.,2010)

à partir d'un tube qui contient le mélange de l'extrait infusé avec le miel , et d'autre qui contient de l'extrait décocté avec le miel à 50 % , des différentes volumes de ces deux mélanges (300µL , 350µL, 400µL , 450µL , 500µL , 550µL , 600µL , 700µL , 800µL , 900 µL , 1000µL) ont été incorporé indépendamment et successivement dans différentes volumes (4700µL , 4650µL , 4600µL , 4550µL, 4500µL, 4450µL, 4400µL, 4300µL , 4200µL , 4100 µL et 4000µL) de milieu Muller Hinton liquide dans des tubes stériles , et sont ensuite coulés après l'homogénéisation en boites pétri de 5ml de volume

Les deux extraits sont testés pour les deux souches bactériennes.

Après la solidification du milieu dans les boites un inoculum de DO comprise entre 0.08 et 0.13 de culture de 24 heures et qui correspond à un nombre de germe varie entre 10^7 à 10^8 germes par ml estensemencé à l'aide d'un écouvillon stérile à la surface du milieu par la technique des quadrants.

Une boite de témoin négatif qui contient que le mélange avec le milieu Muller Hinton et sans ensemencement de la suspension bactérienne été réalisé.

En réalise par la suite une incubation de 24 heures à 37c.

Chapitre 02 :

Résultats

Et discussions



1. Résultats et discussions

1.1. Ré identification des souches

1.1.1. Caractérisation macroscopique

L'observation macroscopique des souches bactériennes sont présentée dans la figure 09.

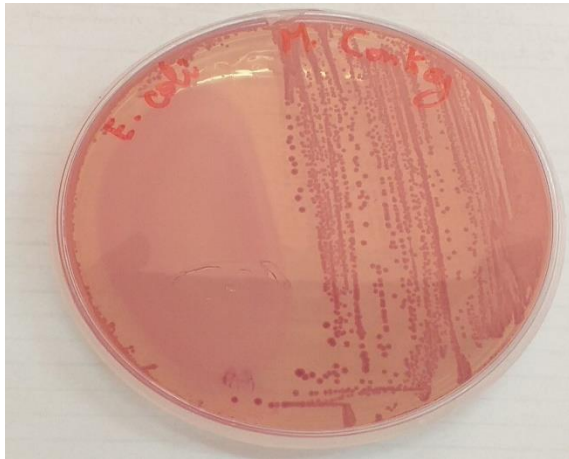


Photo 05 : Aspect macroscopique d'*Escherichia coli* sur milieu Mac Conkey



Photo 06 : Aspect macroscopique de *Staphylococcus aureus* sur milieu Chapman

Figure 09 : caractérisation macroscopique des bactéries ensemencées sur milieu Mac Conkey et Chapman après 24 h d'incubation à 37 °C

D'après la **figure 09**, Les souches de *Staphylococcus aureus* élaborent leur propre pigment. Les colonies s'entourent en 24 heures d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol, arrondies à bords réguliers de 1 à 2 mm de diamètre (**photo 06**).

L'Observation macroscopique a montré que l'aspect de bactérie *Escherichia coli* donne des colonies de petite taille de forme rond de couleur roses sur le milieu Mac Conkey après 24 h d'incubation à 37 °C (**photo 05**).

Nos résultats de l'étude macroscopique des bactéries sont conformes aux résultats trouvés par **Benabdelhafid, (2020)**.

1.1.2. Caractérisation microscopique

➤ Coloration de Gram

La figure 10 illustre l'aspect microscopique des bactéries utilisées

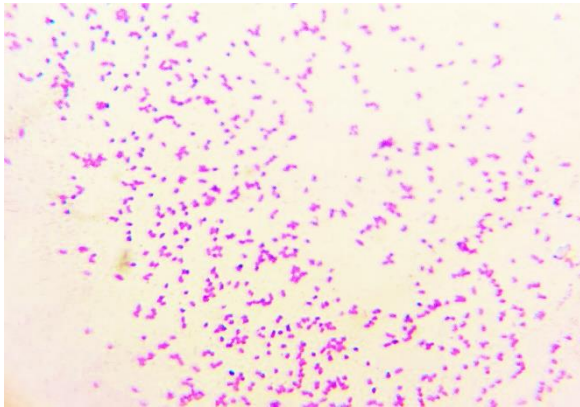


Photo 07 : Aspect microscopique d'*Escherichia coli* (X100)

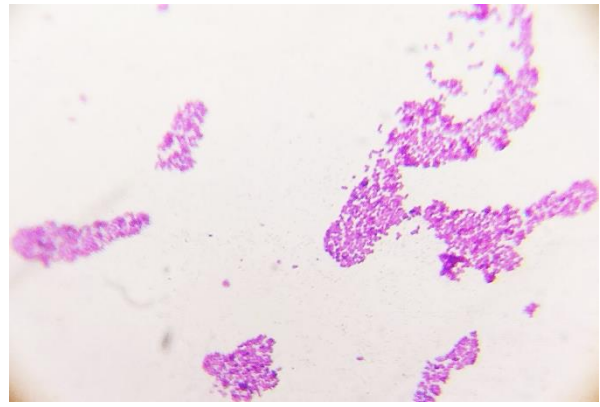


Photo 08 : Aspect microscopique de *Staphylococcus aureus* (X100)

Figure 10 : caractérisation microscopique des bactériesensemencées sur milieu Mac Conkey et Chapman après 24 h d'incubation à 37 °C

L'observation microscopique après la coloration de Gram montre que :

- ✓ *Staphylococcus aureus* c'est une bactérie à Gram + apparaissent en violet sous forme de cocci isolé en diplocoque ou en amas (**photo 08**).
- ✓ *Escherichia coli* 'c'est une bactérie à Gram – apparaissent sous forme de bacille rose isolé en chaînette (**photo 07**).

Les résultats obtenus de l'observation microscopique sont conformes aux travaux réalisés par Michel Federichi, (2005).

1.1.3. Caractérisation biochimique

✓ Catalase

Le teste de catalase réalisé pour la souche de *Staphylococcus aureus* est présenté dans la photo 09.



Photo 09: Test de catalase pour *Staphylococcus aureus*

La présence de bulles de gaz pour *Staphylococcus aureus* signifie que c'est une souche de catalase positif.

✓ **Oxydase**

Le teste d’oxydase réalisé pour la souche *Escherichia coli* est présenté dans la photo 10.

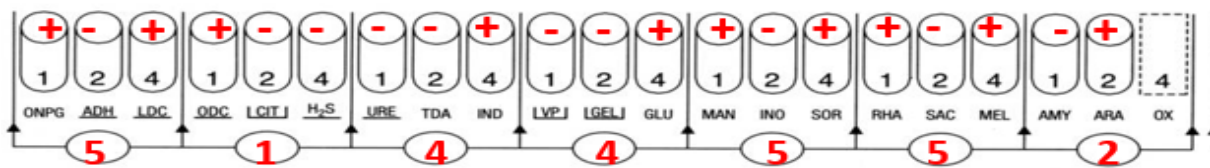


Photo 10 : Test d’oxydase pour la souche *Escherichia coli*

L’absence de coloration bleu foncé à violet pour *Escherichia coli* signifie que notre souche est une souche d’oxydase négative.

✓ **Identification biochimique d’*E.coli* à l’aide des micro-galeries (API20E)**

Résultat de la Galerie API 20 E après l’incubation et l’ajoute des réactifs correspondants présentés dans la figure 11.



API 20 E V5.0 Impression Export Nouveau test Modification

REFERENCE: DATE: 03/06/21

COMMENTAIRE:

EXCELLENTE IDENTIFICATION

Galerie	API 20 E V5.0
Profil	5 1 4 4 5 2
Note(s)	

Taxons significatif(s)	% ID	T	Test(s) à l'encontre
<i>Escherichia coli</i> 1	99.9	1.0	

Figure 11 : Galerie API 20 E après l’incubation et l’ajoute des réactifs

✓ Identification biochimique des isolats à l'aide des macro-galeries

Après l'incubation à 37 °C pendant 24h le résultat des tests biochimique est illustré dans le tableau 11.

Tableau 11 : Résultats des tests biochimiques pour *staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*

	mannitol	mobilité	citrate	Glucose	Lactose	Saccharose	H ₂ S
<i>S.aureus</i>	+	-	+	+	+	+	-
<i>E.coli</i>	+	-	-	+	+	+	-

Les résultats obtenus de caractérisation biochimique sont conformes aux travaux réalisé par **Dermel et al.,2015 ; Laoumir et al.,2020.**

1.2. Résultats des analyses physico-chimiques

1.2.1. Le miel

Les résultats des analyses physico-chimiques sont regroupés dans le tableau 12

Tableau 12 : analyses physico-chimiques du miel.

Paramètres	Valeurs	Valeur seuil des normes internationales 2009
Teneur en eau	18%	20%, ancienne norme 21%
pH	3,95	Pas de limites
Acidité libre	17méq/kg	<50 méq/kg
Matière sèche	82%	>65%

1.2.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau du miel de jujubier analysé est de 18% ; l'échantillon est conforme à la valeur seuil qui est inférieur à 20% fixée par la commission internationale de miel et le codex alimentaire (2001).

L'étude réalisée par **Nedji,(2015)** sur quelque échantillon de miel de la wilaya d'EL Tarf varie de 17,15 à 18,58%,ainsi l'échantillon de Blida qui présente un taux d'humidité de 18% (**Hamoumane et al.,2018**). En analysant le miel de jujubier par (**Haderbache et al., 2013**)

ont trouvé des valeurs allant de 13,4 à 15,5. Selon **Djaafri et al.,2013**. Les miels commercialisés ont une teneur en eau très variées, allant de 14% à 25%, l'optimum se situe entre 17 et 18%. Nos résultats sont similaires à ces travaux.

Selon **Mossa et al., (2012)**; **Doukani et al.,(2014)**. La teneur du miel en eau est due aux différents facteurs à savoir la source mellifère existée dans les différentes zones d'études. La variation de l'humidité peut s'expliquer par :

La composition ;

L'origine florale ;

La force des colonies d'abeille ;

La méthode et la saison de récolte ;

Le degré de maturité atteint dans la ruche ;

Les conditions hygrométriques de la ruche.

1.2.1.2 pH et Acidité libre

La valeur de pH est d'une grande importance lors de l'extraction et du stockage du miel, en raison de l'influence de ce paramètre sur la texture et la stabilité du miel (**Hocine, 2017**).

les résultats du ph, du notre échantillon du miel est de 3.95 cette valeur conformes aux valeur des miels algériens qui variée entre 3.70 et 4.05 et l'acidité est de 17 méq.kg Ces deux valeurs sont dans les normes internationales et sont importantes lors de la Commercialisation du miel (**Doukani et al.,2014**).

De plus, l'acidité d'un miel est un facteur antibactérien. Une valeur basse du pH du miel est suffisante pour inhiber un grand nombre des microorganismes. Le pH retrouvé est compris dans l'intervalle des pH du miel de nectar qui varie entre 3,5 à 4,5 ceci confirme ce qui a était conclu auparavant par l'analyse sur l'origine florale butiné de la nature du miel étudiée.

1.2.3. Matière sèche

Le degré brix ou pourcentage de matière sèche indique la quantité de sucres contenue dans le miel. La variation du taux de matière sèche de miel de jujubier à analyser est de 82%.qui est conforme à la norme du (**codex alimentaire ,2001**).

Selon la norme proposée par (Bogdanov et al., 2001). Les miels qui présentent un degré de Brix supérieur à 60% ont pour origine de nectar. Donc notre miel a une origine du nectar.

Selon les normes recommandées par le (Codex Alimentaire, 2001). Les valeurs de degré de Brix est supérieur à 65%. Les analyses physicochimique ne résumant pas uniquement aux analyses effectuées. Il existe encore d'autres analyses : sucre, activité diastase, rotation spécifique, conductivité électrique

1.2.2. Le lentisque

1.2.2.1. Détermination de la teneur en humidité

L'humidité de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* est : 47%

1.2.2.2. Screening phytochimique de l'extrait aqueux de *Pistacia lentiscus L.*

Les tests de caractérisation des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* est illustrée sur le tableau 13.

Tableau 13 : Résultats de Screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*

Les composés recherchés		Réactions
Phénol (tanins galliques)		+++
Flavonoïdes	Anthocyanes	+
	Flavones	++
Composés réducteurs	Oses et holosides	+++
	Mucilages	++
Terpénoïdes	Saponosides	+++
Alcaloïdes		++

+++ : Réaction très positive ; ++ : Réaction moyennement positive ; + : Réaction positive

Les tests phytochimiques sont réalisés sur les extraits aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* dans le but de mettre en évidence la présence de composés phytochimiques pouvant être responsable de l'activité antibactérienne de ces extraits.

Le screening phytochimique nous a permis de mettre en évidence la présence de quelques métabolites secondaires Il s'agit des substances polyphénoliques dont les tanins galliques, des flavonoïdes (anthocyanes, flavones), des alcaloïdes, des terpénoïdes, (saponosides) et en fin les composés réducteurs (oses, holosides et mucilage).

Les différentes réactions sont illustrées en annexe 07

La présence des flavonoïdes confirme l'effet antimicrobien alloué aux feuilles de *Pistacia lentiscus L.* (Andersen & Markham, 2010).

Les tanins galliques sont tenus comme bons remèdes dans le traitement des maladies respiratoires et contre la toux ; par voix interne, les tanins exercent une activité anti diarrhéique certaine (Romani et al., 2002).

D'après Barbouchi et al.,(2020) ont trouvé que les alcaloïdes sont présents seulement dans les extraits de fruits et feuilles et absentes dans les autres parties de la plante. En effet, la variabilité de composition chimique entre les extraits des feuilles, brindilles et fruit rapporté par les chercheurs peuvent être expliqué par le fait que l'expression des métabolites secondaire chez les plantes médicinales dépend de l'organe d'extraction (Bakkali et al., 2008 ; Bouyahya et al., 2019 ; Barbouchi et al., 2020).

Le screening phytochimique des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* effectué par Bammou et al., (2015) a mis en évidence la présence de plusieurs composés chimiques. Notamment, les tanins, flavonoïdes, composés réducteurs, terpénoïdes, stérols et triterpènes, anthocyanes et saponines ; et l'absence d'alcaloïdes. L'étude de Ammouri, (2016), concernant l'analyse phytochimique des feuilles du lentisque a révélé la richesse de La plante en anthocyanes, en tanins galliques, en flavonoïdes, en saponosides, en Glucosides et en alcaloïdes. Les travaux de Beghlal et al. (2015) sur l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus L.* ont montré que les feuilles contiennent des métabolites secondaires tels que les anthocyanes, les tanins galliques, les tanins condensés, les saponines, les coumarines et les flavonoïdes.

D'après Cherfi et al., (2016). Ont trouvé que L'efficacité optimal d'un extrait peut ne pas être due à un constituant actif principal, mais à l'action combinée (synergie) de différents composés contenus dans cet extrait. Selon Cowan, (1999) les polyphénols sont les principaux composés antimicrobiens des plantes possédants des modes d'action divers et des activités inhibitrices et létales vis-à-vis d'un nombre important de microorganismes. En outre, la température et le solvant d'extraction jouent un rôle dans le rendement en polyphénols obtenu (Sousa et al., 2008 ; Conde et al., 2009).

Les résultats des tests phytochimiques des extraits aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus L.* obtenus dans notre étude comparés aux résultats des travaux de Ammouri , (2016); Bammou et al., (2015) ; Beghlal et al., (2015) ; Atmani et al.,(2009) et Barbouchi et al.,(2020),sur la

composition phytochimique des extraits de feuilles du lentisque font ressortir des similitudes en composition phytochimique de nos extraits.

1.3. Effet antibactérien du miel

Les résultats de l'effet antibactérien du miel testé sur les souches testées *E. coli* et *S. aureus* sont présentés dans le tableau 14 et illustrées par les figures 12 et 13.

Tableau 14 : Diamètres des zones d'inhibition en mm du miel sur les souches testées.

		pure	Dilutions									
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
Diamètre d'inhibition (mm)	<i>E.coli</i>	12	12	12	11	11	11	11	11	10	10	9
	<i>S.aureus</i>	16	14	13	12	12	12	11	11	10	10	9

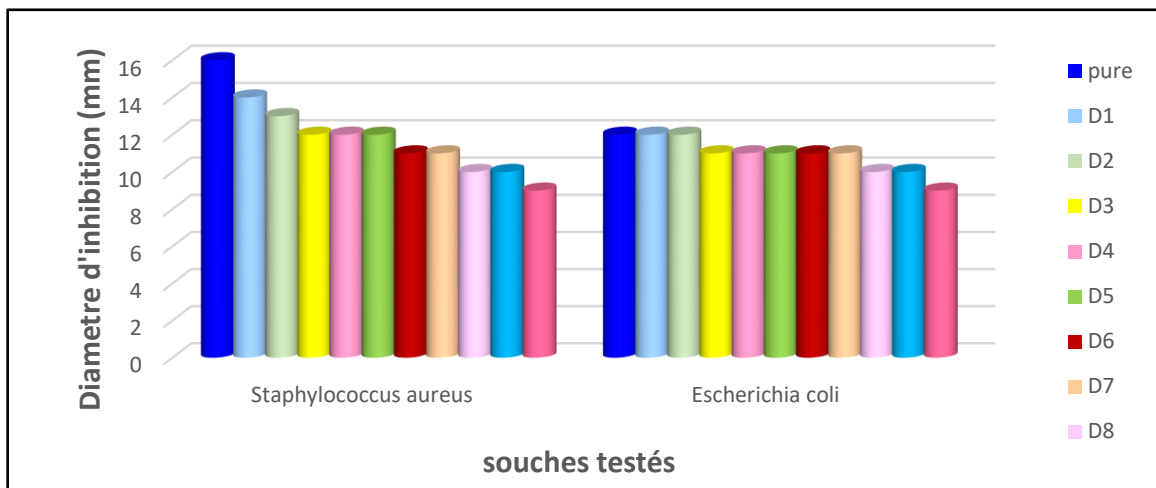


Figure 12 : Diamètres des zones d'inhibition du miel sur *S.aureus* et *E.coli*

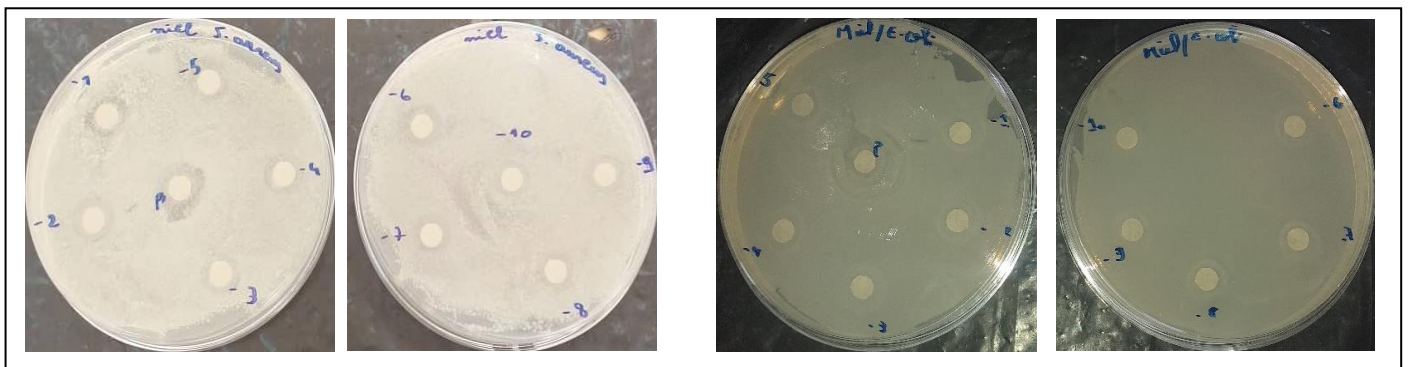


Figure 13 : Effet antibactérienne du miel sur *S.aureus* et *E.coli*

D'après le tableau 14 et la figure 12 et 13 on remarque que :

- Pour *S. aureus*, les zones d'inhibition obtenues sont entre 9 à 16 mm de diamètre, tandis que pour *E. coli* sont entre 9 à 12 mm de diamètre ;
- la meilleure inhibition pour les deux souches *S. aureus* et *E. coli* est observée pour le miel pur sans dilution ;
- En basant sur le miel testé pur et les dilutions jusqu'à D5 l'activité antibactérienne est plus efficace contre *S. aureus* que contre *E. coli* ;
- Au-delà de D5 les valeurs des diamètres d'inhibition sont identiques pour les deux souches et variées entre 9 à 11 mm ;
- Pour les deux souches le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration du miel ; avec chaque dilution la valeur d'inhibition diminue.

Dans notre étude, les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne du miel jujubier (sidr) vis-à-vis *S. aureus* et *E. coli* montrent que :

– Les deux souches microbiennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice de l'échantillon de miel jujubier (sidr), avec des différences d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne.

D'après l'étude de **Yves Couquet et al., (2013)** qui consiste à déterminer l'activité antibactérienne de différents miels sur *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *enterococcus faecalis* et *staphylococcus aureus*, ils ont trouvé que toutes les souches testées sont sensibles ou modérément sensibles aux différents miels testés.

Nous avons constaté d'une part que la bactérie *S. aureus* est la souche la plus sensible à notre échantillon testé par rapport à *E. coli* avec un intervalle étroit le résultat est en accord avec l'étude rapporté par (**Djaafri et al., 2013**) qui ont testé un échantillon de miel jujubier (sidr) de la région Ghardaïa sur les mêmes souches de référence testées *S. aureus* et *E. coli*, Ces résultats sont comparables avec les études de **Fizazi, Zeddami, (2018)**. sur 10 échantillons de miel testés vis-à-vis de 5 souches bactériennes a montré que l'activité antibactérienne était plus efficace sur des bactéries gram positif que les bactéries gram négatif puisque les souches d'*E. coli*, *B. subtilis*, *B. stéarine* ainsi que *P. aeruginosa* était moyennement sensibles par rapport à *S. aureus* qui était la plus sensible des germes étudiés. Nos résultats sont comparables aussi aux résultats de **Hammoudi et Boudrhem, (2009)** qui ont travaillé sur des miels algériens et ils ont trouvé que *Staphylococcus aureus* est la souche

la plus sensible alors qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont moyennement sensibles.

Il apparaît que le *S. aureus* est la bactérie la plus sensible par Comparaison avec *E. coli*; ceci peut être attribué à la différence de la structure entre les bactéries Gram positives et les bactéries Gram négatives. La paroi cellulaire des bactéries gram positives est constituée par une seule couche alors que la paroi cellulaire des Gram négatives a une structure multicouche liée par une membrane cellulaire externe (**Balentine et al.,1999**).

D'après **Hamoumane et al.,(2018)**, les bactéries à Gram (-) sont moins sensibles que les bactéries Gram (+) à cause de la composition chimique de la paroi des bactéries à Gram (-) qui présente des structures spéciales : les LPS, ne permettent pas la pénétration des molécules. D'autre part l'effet antibactérien des miels testés est plus important pour les échantillons purs non dilués, que pour les échantillons dilués.

D'après **Feddaoui Chafia et al.,(2013)** l'effet antibactérien est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives : les plus grands diamètres ont été observés sur *staphylococcus aureus* alors que *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* présentes des zones d'inhibition avec un diamètre plus faible.

Ce qui concorde aussi avec les travaux de **Melliou et Chinou, (2005)** et les résultats de **Merah et al.,(2010)** qui considèrent que l'activité antibactérienne du miel est particulièrement efficace à fortes doses.Cela pourrait être lié à une dilution des ingrédients actifs impliqués dans l'action antibactérienne, le rendant ainsi inefficace par la dilution (**Nassar et al., 2012**).

- A l'opposé l'étude de (٢٠١١) ، محسن و اخرون sur l'activité antibactérienne du miel de sidr montre que la bactérie *S.aureus* résiste pour toutes les concentrations du miel par contre *E. coli* a été sensible.

Selon **Biri, (1999)** ; **Verdan, (2002)** ,la différence des résultats obtenus dépend de plusieurs facteurs tels que :

- L'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
- La nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production du miel ;
- Le mode d'extraction de miel.

1.4. Effet antibactérien de l'extrait aqueux de *P.lentiscus L.*

Les résultats de l'effet antibactérien de l'extrait aqueux testé sur les souches utilisées à savoir *E. coli* et *S. aureus* sont présentés dans le tableau 15 et illustrées par les figures 14 et 15.

Tableau 15 : Effet de l'extrait aqueux infusé et décocté de *Pistacia lentiscus L.* sur les bactéries.

		c	Dilutions									
			10 ⁻¹	10 ⁻²	10 ⁻³	10 ⁻⁴	10 ⁻⁵	10 ⁻⁶	10 ⁻⁷	10 ⁻⁸	10 ⁻⁹	10 ⁻¹⁰
Diamètres d'inhibition (mm)	<i>S.aureus</i> (EAI)	13	13	13	12	12	11	12	11	10	10	12
	<i>S.aureus</i> (EAD)	14	14	13	13	12	13	13	12	12	13	15
	<i>E.coli</i> (EAI)	11	12	11	11	9	9	11	11	10	10	11
	<i>E.coli</i> (EAD)	12	12	11	9	10	11	13	14	13	11	12

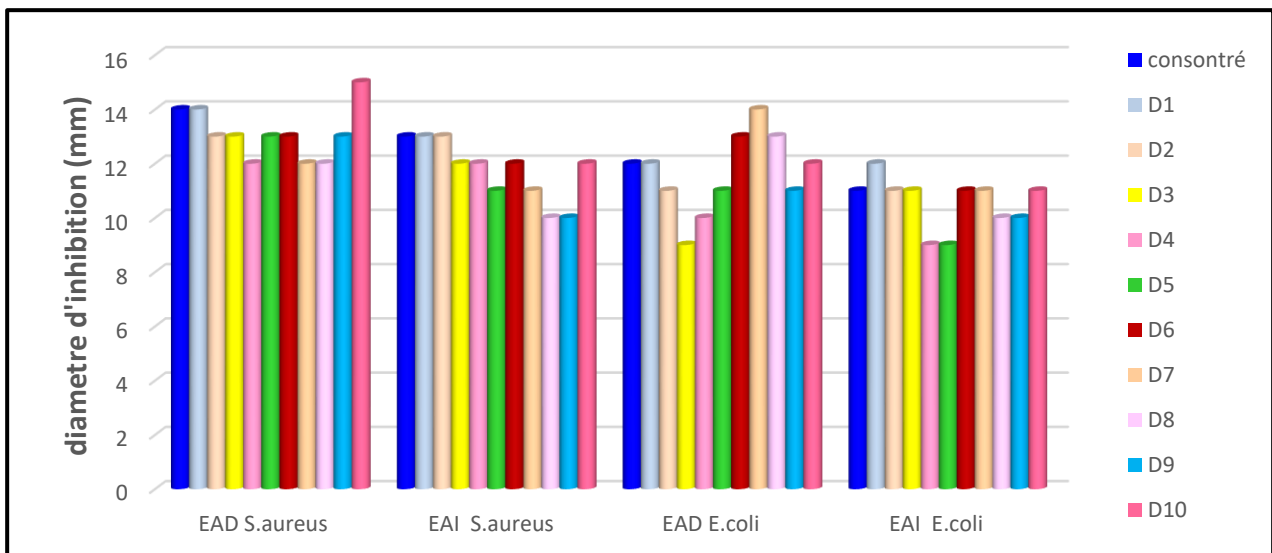


Figure 14 : diamètre des zones d'inhibition de l'extrait aqueux décocté et infusé de *Pistacia lentiscus L.* pour *S.aureus* et *E.coli* .

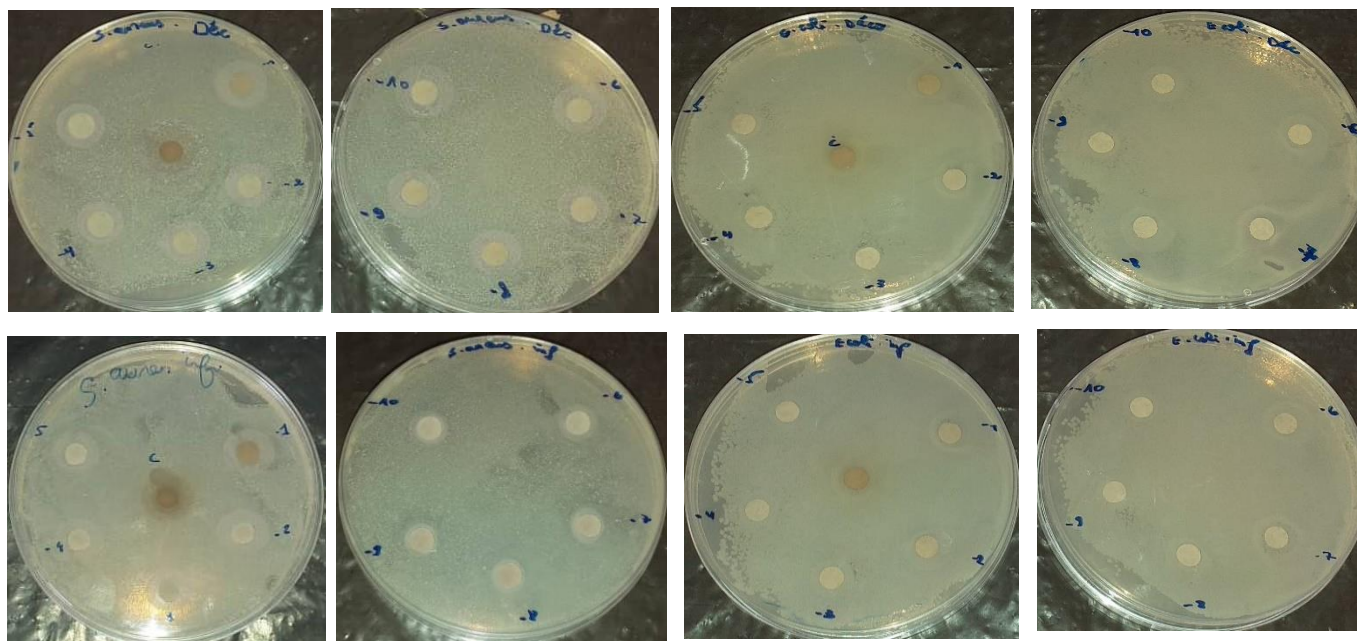


Figure 15 : Effet antibactérienne de l'extrait aqueux décocté et infusé de *Pistacia lentiscus L.* pour *S.aureus* et *E.coli* .

D'après le tableau 15 et la figure 14 et 15 on remarque que :

- Pour *S. aureus* les deux extraits avec toutes les dilutions ont un effet inhibiteur avec des zones d'inhibition entre 10 à 13 mm de diamètre pour l'extrait aqueux infusé et de 12 à 15 mm de diamètre pour l'extrait décocté.
- La valeur maximale d'inhibition pour l'extrait infusé est attribuée à l'extrait pur, tandis que pour l'extrait décocté la valeur maximale est attribuée à la dilution 10^{-5} .
- Pour *E. coli* les deux extraits avec toutes les dilutions ont un effet inhibiteur avec des zones d'inhibition entre 9 à 11 mm de diamètre pour l'extrait aqueux infusé et de 9 à 14 mm de diamètre pour l'extrait décocté.
- La valeur maximale d'inhibition pour l'extrait infusé est attribuée à la dilution 10^{-1} , tandis que pour l'extrait décocté la valeur maximale est attribuée à la dilution 10^{-7} .

Les résultats obtenues concernant l'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus L* contre les souches *S. aureus* et *E. coli* montrent que :

Les deux souches sont sensibles pour les deux extraits aqueux infusés et décocté avec une sensibilité plus élevée pour la bactérie *S. aureus* que pour *E. coli* .

Cela explique que les deux extraits aqueux ont réagi positivement sur les deux souches bactériennes testées. L'extrait aqueux décocté été le plus puissant pour *S. aureus*.

Le degré de sensibilité des bactéries testées vis-à-vis d'un même extrait végétal est variée selon le Gram (+) et (-).

D'après **Zaika (1988), et Ali Shtayeh et al., (1988)** ont affirmé que les bactéries à G+ sont plus résistantes aux extraits végétaux que les bactéries G-.

D'après **Ponce, (2003)** la variation de l'activité antibactérienne des extraits aqueux explique la variation de leur composition chimique (voir tableau résultats de screening). Ces variations de compositions sont dues principalement aux variations édapho-climatiques et agronomiques dont sont issus ces arbres. L'extrait a une activité antibactérienne si son diamètre d'inhibition est supérieur à 10 mm

Nos résultats sont confirmés par de nombreuses expériences (**De- Billerbeck et al., 2002; Benrokia et al., 2015**) ayant montré que les bactéries à G- sont plus résistant aux extraits végétaux que les bactéries G+.

Une étude menée par **Bammou et al., (2015)**, sur l'activité antibactérienne de *P. lentiscus* Indique que les extraits des feuilles n'ont aucun effet sur *E. coli* par contre *S.aureus* laisse voir une certaine sensibilité.

D'après **Othmani, et al., (2017)**, qui ont trouvé que Les extraits végétaux ont un large spectre d'activité. Leur action antibactérienne a largement été démontrée. Ils ont ressort que les bactéries Gram +sont plus sensibles que les bactéries Gram -. Cela pourrait être causé par la sensibilité des bactéries Gram + aux changements environnementaux externes, tels que la température, le PH et les extraits naturels, en raison de l'absence de membrane externe. (**Haloui et al ., 2015**).

D'autre part **Hafsé et al., (2013)**, ont montré que la sensibilité des bactéries G+ aux extraits aqueux est attribué à leur membrane externe hydrophile qui peut favoriser la pénétration de composés hydrophiles dans la membrane cellulaire.

Ces affirmations n'ont cependant pas été confirmées par d'autre travaux, la susceptibilité des bactéries est en effet indépendante du Gram (**Dorman et al., 2000**), dépend des extraits utilisées (**Ammouri et al., 2016**). Nos résultats pour les espèces bactériennes (*E. coli* et *S.aureus*)

Concorde cette dernière affirmation.

Dans notre étude, la préparation des extraits aqueux par la décoction et l'infusion conduit à une meilleure activité antibactérienne contre *S.aureus* que contre *E. coli*.

Nos résultats, sont également semblables à ceux trouvés par **Brahimi et al., 2019 ; Debbabi et al., 2017 ; Benhammou et al., (2008)**. En effet ces derniers ont obtenu la présence d'une sensibilité vis-à-vis *S.aureus* par différents moyenne des zones d'inhibition, d'un extrait éthanolique et aqueux de feuilles de lentisque.

En ce qui concerne l'effet de notre extrait aqueux sur cette souche, des résultats Similaires ont été observés chez **Bammou et al., (2015)** pour son décocté de feuilles de *P. lentiscus* Réalisé selon la méthode de **Sqalli et al., (2007)** est le plus puissant.

Il apparait que La bactérie *E. coli* est moins sensible que *S. aureus* à l'action des extraits aqueux décocté que infusé, ce résultat ne corrobore pas avec ceux de **Benhamou et al., (2008) ; Bammou et al., 2015 ; Debbabi et al., 2017 ; Haloui et al., 2015**. Qui ont trouvé une résistance d'*E coli* vis-à vis du décocté préparé selon la méthode de **Sqalli et al., (2007)**.

D'après ces mêmes travaux l'effet antibactérien sur une souche dépend du protocole d'extraction. La méthode utilisée pour l'évaluation de l'activité antibactérienne influe aussi sur les résultats.

L'utilisation de la décoction de feuilles ou des parties aériennes des plantes a été souvent mentionnes comme mode de préparation des plantes médicinales (**Ben khnigue et al., 2011**).

D'après **Dermal et al., (2015)**. Ont indiqué que L'eau étant plus polaire, elle conduit donc à une meilleure extraction des composés phénoliques responsables de l'activité antibactérienne (voir tableau 13).

Selon **Benrokia et al., (2015)** l'activité inhibitrice de la croissance bactérienne de l'extrait aqueux de feuilles de *Pistacia lentiscus* est due à la présence des flavonoïdes, des tanins et d'autres composés chimiques (voir tableau 13).

1.5. Effet antibactérien du mélange (EAI/EAD des feuilles de lentisque+miel) sur les deux souches testées

Les résultats de mélange sont représentés dans le tableau 16 et les figures 16 et 17.

Tableau 16 : diamètres des zones d'inhibitions (mm) de mélange de (EAI / EAD) et du miel(M) sur *S.aureus* et *E.coli*.

	100%		75%		50%		25%	
EAI + M (S.aureus)	A1	A2	A1	A2	A1	A2	A1	A2
	10	10	9	9	12	7	/	7
EAD + M (S.aureus)	A3		A3		A3		A3	
	8		9		10		/	
EAI + M (E.coli)	A1		A1		A1		A1	
	8		7		9		9	
EAD + M (E.coli)	A3	A4	A3	A4	A3	A4	A3	A4
	9	7	8	9	9	10	7	/

A1: D1 (EAI) + miel

A3 : D1(EAD) + miel

A2 :D6 (EAI) + miel

A4 : D7 (EAD) + miel

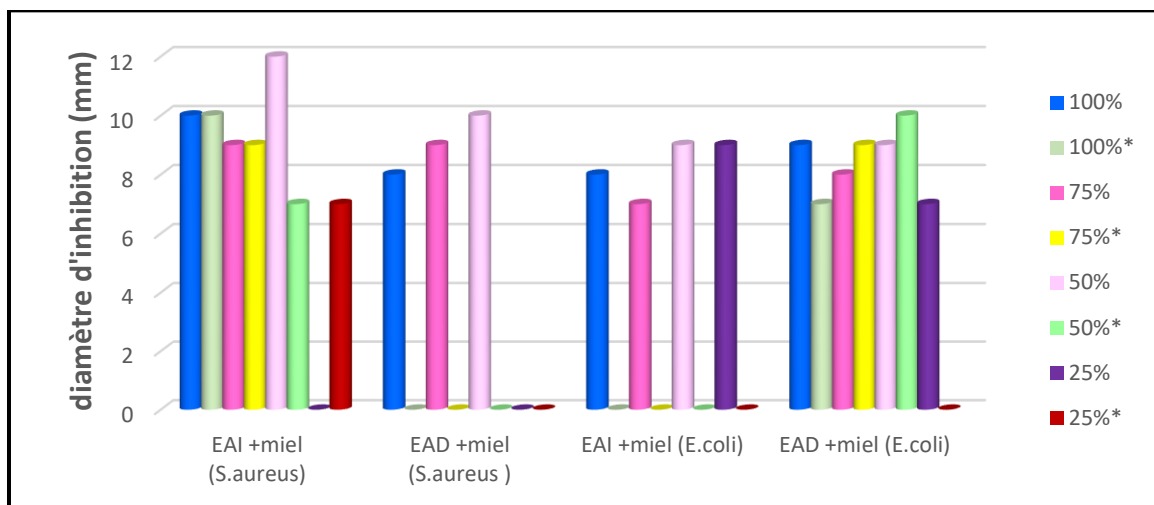


Figure 16 : Diamètres des zones d’inhibition du mélange (EAI/EAD + miel) sur *S.aureus* et *E.coli*

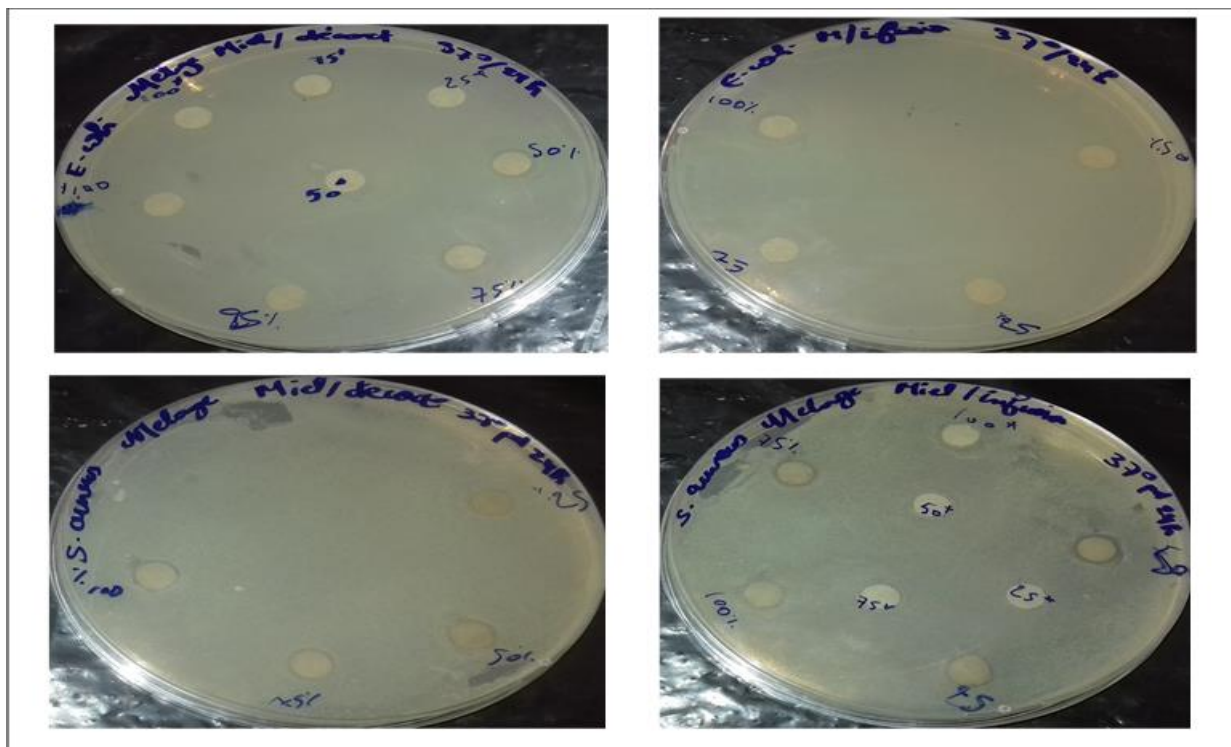


Figure 17 : effet antibactérienne du mélange sur *S.aureus* et *E.coli*

D'après le tableau 16 et les figure16 et 17 .L'effet inhibiteur du mélange de l'extrait infusé avec le miel est plus efficace contre la bactérie *S.aureus* que contre *E. coli* avec des zones d'inhibition pour les dilutions 10^{-1} et 10^{-6} varient entre 0 à 12 mm de diamètre pour *S. aureus* et entre 7 à 9 mm de diamètre pour la dilution 10^{-1} chez *E. coli* .

Pour l'effet de l'extrait décocté on observe des valeurs d'inhibition presque similaires pour les deux souches bactériennes avec des diamètres compris de 0 à 10 mm pour *S. aureus* et entre 7 à 10 mm pour *E. coli* pour les deux dilutions 10^{-1} et 10^{-7} .

Le mélange du miel avec les deux extraits aqueux infusé et décocté est plus efficace avec une meilleure concentration de 50% chez les deux souches bactériennes.

Les pourcentages tels que 100%, 75% ont un effet inhibiteur moindre que pour la concentration de 50%.

Pour le pourcentage 25% les deux souches sont considérées comme des souches résistantes pour le mélange du miel avec les deux extraits à l'exception d'*E. Coli* pour le mélange du miel avec l'extrait infusé avec un diamètre de 9 mm.

L'effet antibactérien du mélange (EAI / EAD + miel) est inférieur par rapport à l'effet antibactérien de miel et l'extrait aqueux seul ce qui traduit l'existence d'un effet antagonisme entre les constituants du mélange.

Aucune étude n'a été retrouvée dans la bibliographie concernant l'activité antibactérienne de mélange (miel et l'extrait aqueux des feuilles de *P.lentiscus L.*) vis-à-vis les deux souches testés.

1.6. Effet antibactérien des antibiotiques

Les diamètres des zones d'inhibition des ATB utilisés sur les deux souches étudiées sont présentés dans le tableau 17 et les figures 18,19.

Tableau 17: Diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne des souches étudiées, effet antibiotiques (mm).

ATBs	Bactéries		ATBs	Bactéries	
	<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Métronidazole (MTZ)	0/R	0/R	Chloramphénicol (C ₃₀)	33/S	35/S
Streptomycine (S ₁₀)	20/S	23/S	Acide nalidixique (NA ₃₀)	23/S	23/S
Gentamicine (CN ₁₀)	29/S	27/S	Oxacilline (OX)	0/R	0/R
Colistine (CT ₁₀)	0/R	15/S	Cefazoline (CZ ₃₀)	10/S	10/S
Pénicilline G	43/S	20/S	Fosfomycine (FO ₂₀₀)	23/S	23/S

R : résistante S : sensible

Les résultats présentés au **tableau 17** montrent que les souches de bactéries à Gram positif et à Gram négatif (*S.aureus* et *E.coli*) ont des sensibilités différentes aux antibiotiques standards testés : P,FO,CZ,OX,C,NA,CT,CN,S,MTZ.

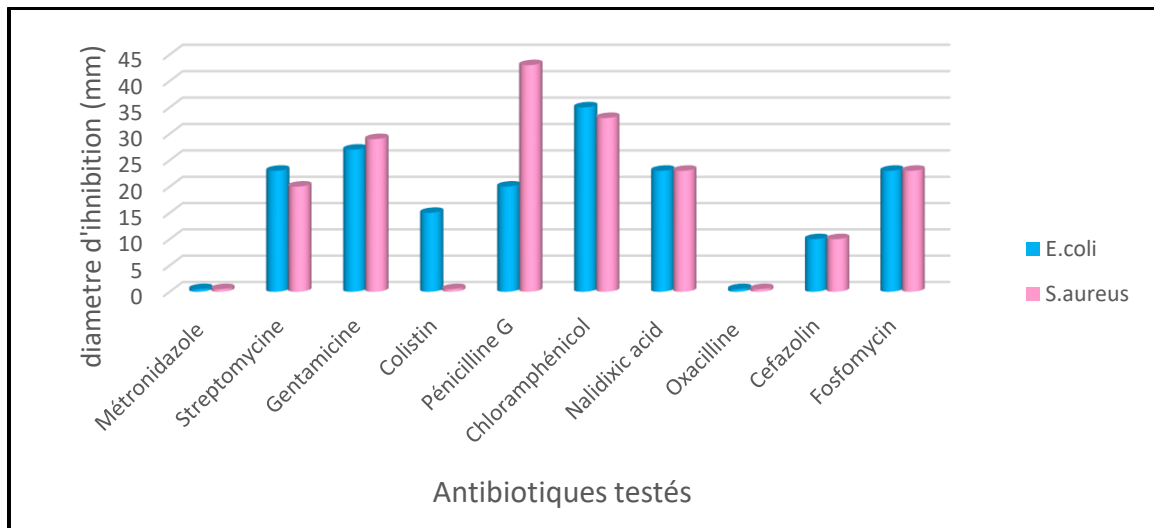


Figure 18: Distribution des diamètres des zones d'inhibition des bactéries étudiées en fonction d'ATB

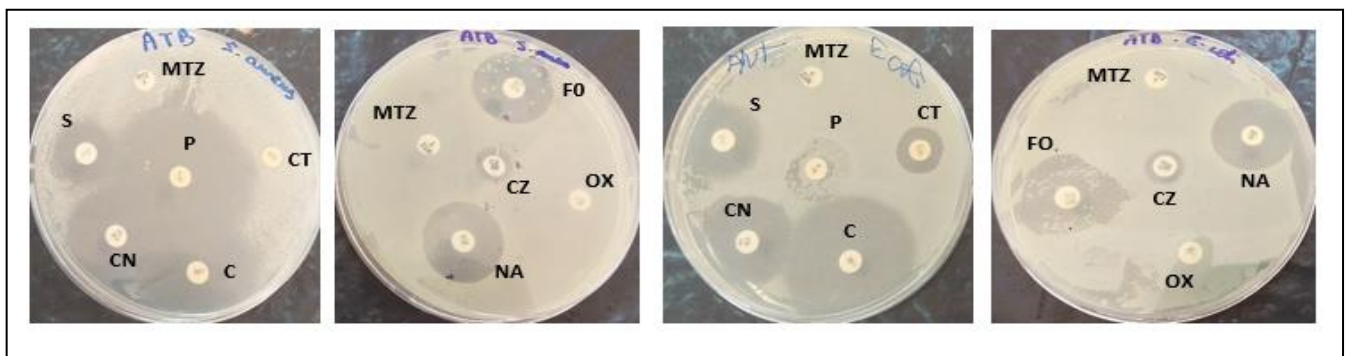


Figure 19: effet des antibiotique sur *S.aureus* et *E.coli* .

L'effet antibactérien des antibiotiques est plus élevé par rapport à l'effet du mélange du miel avec l'extrait aqueux car la nature de l'activité et la composition des molécules des antibiotiques ne sont pas comparables avec ceux de mélange.

Les compositions d'antibiotiques sont choisies spécifiquement pour les bactéries.

1.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

Les résultats de CMI du mélange (EAI / EAD + M) sont représentés dans le tableau 18.

Tableau 18 : concentration minimale inhibitrice du mélange (EAI/EAD+M).

Mélange	Concentration (%)	Présence d'une charge microbienne	
		<i>S.aureus</i>	<i>E.coli</i>
Miel avec l'extrait aqueux infusé	6	+	+
	7	+	+
	8	+	+
	9	- CMI	+
	10	-	+
	12	-	+
	14	-	+
	16	-	- CMI
	18	-	-
	20	-	-
Miel avec l'extrait aqueux décocté	6	+	+
	7	+	+
	8	+	+
	9	+	+
	10	- CMI	+
	12	-	+
	14	-	+
	16	-	+
	18	-	- CMI
	20	-	-

Le mélange (miel + l'extrait aqueux) présentent la valeur de CMI la plus faible vis-à-vis *S.aureus* 9 à 10% (voir tableau 17). La CMI la plus élevées ont été obtenue vis-à-vis *d'E.coli* varie entre 16à 18%.

Les résultats obtenus par la CMI sont en accord à ceux obtenus par la méthode de diffusion sur disque. il confirment un pouvoir inhibiteur important du mélange (des extrait aqueux et miel) sur la croissance important vis-à-vis de *S.aureus* moins que *E.coli* .

Nos résultats indiquant que la CMI varie pour *S.aureus* et celles d'*E.coli* cela peut être expliqué soit par la variabilité de sensibilité des souches de différentes origines, soit par le vieillissement de l'une des souches.

Nos résultats, confirme les résultats des études de **benhammou et al .,(2008)** et de **Djenane et al.,(2011)**.indiquant que la force et le spectre d'activité varient entre le type de G de bactéries cibles et le mode d'extraction de *P.lentiscus L*.

D'après **Debabbin et al .,(2017)** , ont obtenu que l'extrait infusé présente la CMI pour *S.aureus* et *E.fecalis* plus faible que décoction qui varies de double pour les 2 souches . Contrairement pour *E.coli* qui est une CMI plus élevées pour tous les extraits aqueux.

Conclusion

CONCLUSION

La résistance aux antibiotiques est devenue un sujet majeur et problématique de société, une menace sans frontières.

La Consommation permanente d'antibiotiques par les personnes souffrant des infections cutanées et des brûlures rendent les bactéries *S.aureus* et *E. coli* les principaux responsables aux ces maladies plus résistantes.

D'ailleurs La science et les scientifiques cherchent toujours des alternatives naturelles avec des valeurs médicinales égale aux ceux d'antibiotiques ou plus élevé.

Dans notre présent travail, nous avons répondu à l'objectif consistant à mettre en évidence l'activité antibactérienne in vitro du miel, de l'extrait aqueux infusé et décocté et du mélange du miel avec l'extrait aqueux des feuilles de de *P.lentiscus* sur les deux bactéries testés *S.aureus* et *E. coli*.

Sous un autre angle, nous avons étudié leurs résistance aux quelques antibiotiques.

En effet, Nos résultats obtenus pour l'activité antibactérienne du miel, de l'extrait aqueux infusé et décocté chacun seul sont satisfaisants contre les deux souches testés, pour le mélange entre eux l'efficacité de cette activité diminue ce qui traduit l'existence d'un effet antagoniste entre les constituants du mélange, Sa ce qui répondre à notre problématique.

L'effet inhibitrice des antibiotiques testés été très élevé par rapport au mélange cependant ce dernier peut être utilisé comme alternative temporaire aux antibiotiques puisqu'il a une valeur médicinale.

Différentes analyses physico-chimiques ont été effectuées pour assurer la caractérisation du miel et de l'extrait aqueux ainsi que l'identification de certains composés responsables de leur effet antibactérien.

Les résultats de la CMI du mélange du miel avec l'extrait aqueux confirment ceux qui montrent une sensibilité élevée au mélange chez *S.aureus* par rapport à *E. coli*.

Vu l'importance thérapeutique, cicatrisante et antibactérienne du miel, de l'extrait aqueux et du mélange entre eux dans la médecine et dans l'industrie pharmaceutique il serait intéressant de compléter ce travail par :

- faire des applications cliniques de notre échantillon du mélange (essais in vivo) sur des plaies et des brûlures.
- L'étude de l'activité antibactérienne des autres échantillons du miel mélangés avec ces extraits aqueux.

Références bibliographiques

A

- **Aafi A., Taleb MS., Fechtal M, (2002).** Espèces Remarquables de la Flore du Maroc, Rabat: Édition MCEF : 146 p.
- **Abedini A., (2013).** Evaluation biologique et phytochimique des substances naturelles d'Hyptis atrorubens Poit, (Lamiaceae), sélectionnée par un criblage d'extraits de 42 plantes. Thèse de Doctorat, Université de Lille Nord de France. 177 p.
- **Ahmed Moussa.,Djebli Nour Eddine., Aissat Saad., Meslem Abd Elmalek And Bacha Salima.(2012),**The Influence Of Botanical Origin And Physico-Chemical Parameters On The Antifungal Activity Of Algerian Honey, J Plant Pathol Microb. 3:5.
- **Ait Youssef M., 2006.** Plantes médicinales de la Kabylie. Edition Ibis Press, Paris, 349 p.
- **Ali-Shtayeh MS., Yaghmour RMR., Faidi YR., Salem K., Al-Nuri MA, (1998).** Antimicrobial Activity of 20 Plants Used in Folkloric Medicine in the Palestinian Area. Journal of Ethnopharmacology : Vol. 60, No. 3, 265- 271.
- **Alix Iefief-delcourt ,2014.**Le miel malin , Quotidien malin , 17 Rue du Regard 75006 Paris –France , page 19 – 22 , 75 – 92.
- **Ammouri Nassima, Kasdi Imen .(2016).**Mémoire De Master Analyse Phytochimique Et Evaluation *In vitro* De l'activite Anti-Inflammatoire Des Extraits De Feuilles De *Pistacia Lentiscus* L. Page 34,35,37
- **Andersen OM & Markham KR, (2010).** Flavonoids: Chemistry, Biochemistry and Applications, CRC Press : 472–551.
- **Andrew , J.M.(2008).**BSAC standardized disc susceptibility testing methode (version 7). Journal of antimicrobial Chemotherapy.62 :256-278.
- **Atmani D., Chaher N., Berboucha N., Ayouni K., Lounis H.,Boudaoud H., Debbache N., et Atmani D. (2009).** Antioxydant capacity and phenol content of selected Algerian medicinal plants. *Food chemistry*, 112. 301-309.

B

- **Badawy O., Shasii S., Tharwat E., Kamal M. (2004).** Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against *Escherichia coli* 157:H7 and *Salmonella typhimurium* infection. Rev. Sci. Tech. Off. Int. Epiz. 23: 1011-1022
- **Bakkali,F.,Averbeck,S.,Averbeck,D.,Idaomar,M.,(2008).**Biological effects of essential oilsareviw. Food Chem.Toxicol.46,446–475.
- **Baltrusaityte V., Venskutonis P., Ceksteryte V. (2007).** Antibacterial Activity of honey and beebread of different origin against *S. aureus* and *D. epidermidis*. Food technology, Lithuania. 45: 201-208.
- **Balentine DA., Albano MC., Nair MG, (1999),**Role of medicinal plants, herbs, and spices in protecting human health.Nutr Rev.57:41–50.
- **Bammou M., Daoudi A., Slimani I., Najem M., Bouiamrine E., Ibijbijen, J, Nassiri L. (2015).** Valorisation du lentisque «*Pistacia lentiscus L.*»: Etude ethnobotanique, Screening phytochimique et pouvoir antibactérien. Journal of Applied Biosciences 86:7966- 7975.
- **Barbouchi, M., Elamrani, K., El Idrissi, M., & Choukrad, M. (2020).** A comparative study on phytochemical screening, quantification of phenolic contents and antioxidant properties of different solvent extracts from various parts of *Pistacia lentiscus L.* Journal of King Saud University - Science. doi:10.1016/j.jksus.2018.05.010
- **Bayer E et al., (2009),** guide de la flore méditerranéenne, paris, page 94.
- **Belhadj, S. (2001).**Les pistacheraies algériennes : Etat actuel et dégradation. Chiers Option Méditerranéennes, (56), PP.107-109.
- **Belhaj et al.,(2016) .** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine, 4 (3): 12-22.
- **Belhadj O , Oumato J ,Zrira S ,(2015).** Etude physicochimique de quelque type de miels marocains, Rev.Mar .Sci.Agron.Vet.71-75.
- **Benabid A, (2000).** Flore Et Écosystèmes Du Maroc: Évaluation Et Préservation De La Biodiversité, Paris: Editions Ibis Press : 359 p.
- **Benabdelhafid Soumia (2020).**Mémoire de Master microbiologie appliquée, Isolement et pré-identification des bactéries responsables des infections du pied diabétique, 53 page

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Benhammou N., Bekkara FA., Panovska TK. (2008).** Antioxidant and antimicrobial Activities of the Pistacia lentiscus and Pistacia atlantica extracts. African Journal of Pharmacy and Pharmacology, 2(2): 22-28.5.
- **Benaissa Asmaa ,(2020).**Techniques d'analyse microbiologique avec exercices corrigés 3^{ème} Année Licence Microbiologie , page 24.
- **Benrokia hayat,Aouar khedidja ,(2015),** mémoire de master bounaama khmis milyana Etude de l'activité antibactérienne des extraits de Pistacia lentiscus ,pages 30-36.
- **Bensaci, M., Hadj Mokhnache, M. (2015).**Evaluation de l'action antioxydante et antibactérienne de l'huile fixe de Pistacialentiscus. Mémoire du diplôme de master, Constantine, Université des frères de Mentouri Constantine, n°74 ,24.
- **Berrichi Mohamed, Chikh Mohamed, Haddad Ahmed, Allam Fatfallah, Gueffar Mohamed Et Belkhodja Yacine .(2017) ,** quelques aspects histo-morphologiques du pistachier de l'atlas (pistacia atlantica desf.) dans le nord occidental de l'atlas tellien (tlemcen - algerie), laboratoire de recherche n° 31: , université de tlemcen, tlemcen, algérie. p 112.
- **Beghlal K., Zeghdaoui A H., Terkmane C. , El Bairi K. (2015).** Antioxidant activity, total phenolic content and chemical composition of *Pistacia lentiscus(L.)* from Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research.* 7(9):621-632.
- **Bérubé-Gagnon J., (2006).** Isolation et identification de composés antibiotiques des écorces de Piceamariana. Mémoire de l'université de Québec, 38 p.
- **Biri, M. (1999).** Le grand livre des abeilles. L'apiculture moderne. Edition vecchi S.A paris. P:260.
- **Bouderherm, A.Hammoudi .E ., 2009.** Effet antimicrobien du miel, thèse d'étude supérieures en biologie ,université kasdi –merbah ouargla.pages:47
- **Bogdanov S et Blumer P(2001).**propriétés antibiotiques naturelles du miel , centre suisse de recherches apicoles . station fédérale de recherches laitières , Liebefeld,CH-3003 Berne ;RSA 98 (3),pp :107-114.
- **Bogdanov S., Martin P., Lüllman C., Borneck R., Morlot M., Heritier J., Vorwohl G., Russmann H., Persano-Oddo L., Sabatini A.G., Marcazzan G.L., Marioleas P., Tsigouri A., Kerkvliet J., Ortiz A., Ivanov T., (1997).** Harmonised methods of the European honey commission. Apidologie, 1– 59.
- **Boullard B., (2001).** Plantes médicinales du monde: croyances et réalités. Ed: FSTEM, 636 p.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Bouyahya, A., Chadon Assemian, I. C., Mouzount, H., Bourais, I., Et-Touys, A., Fellah, H., ... Bakri, Y. (2019).** Could volatile compounds from leaves and fruits of Pistacia lentiscus constitute a novel source of anticancer, antioxidant, antiparasitic and anti bacterial drugs Industrial Crops and Products, 128, 6269. doi:10.1016/j.indcrop.2018.11.001
- **Bouzit Khadidja, Obeizi Amina, Zerdoudi Manal ,(2019).** Mémoire de master, Contribution à l'étude du miel sur l'activité de quelques antibiotiques sur des souches bactériennes, page
- **Brahimi Halima, Azzouzi Zineb,(2019),** mémoire de Master, Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des extraits du Pistacia lentiscus ,page

C

- **Camille delarras ,(2007),** microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire ,TEC&DOC 11,RUE LAVOISIER F-75008 ,PARIS pages 89,128,129,287,288,289
- **Cherfi Katia, Omani Sara, (2016).** Extraction et dosage des polyphénols totaux du Pistacia lentiscus L. et évaluation de leur activité antibactérienne vis-à-vis de Staphylococcus aureus et de Escherichia coli. Mémoire de fin d'étude En vue de l'obtention d'un diplôme de Master en science biologique .Option : Diversité et adaptation de la flore méditerranéenne, Tizi Ouzou, pages 42.
- **Chataway H, D.,(1932).** The determination of the moisture in honey . Canadian journal of research.v 6, p532-.
- **Cheurfa M, Allam R. (2015).** Study of hypocholesterolemic activity of Algerian Pistacia lentiscus leaves extracts in vivo.Revista Brasileira de Farmacognosia 25 142–144.
- **Codex alimentaire ,(2001).** Eprogramm mixte fao/oms sur les normes alimentaires. Commission du codex alimentarius. alinorm 01/25, 1-31
- **Coulibaly Bakary, Diomandé Massé, Konaté Ibrahim, Bohoua Louis Guichard (2019),** qualité microbiologique, propriétés physicochimiques et profil sensoriel de miels de la région du worodougou, cote d'Ivoire, Vol 15, No.30, 1857-7431.
- **Cowan M. (1999)** Plant products as antimicrobial agents. Clin. Microb. Rev. 12, 564-582.

D

- **Dermel Liza, Becheker Safia (2015)**, Mémoire de master microbiologie appliquée , Evaluation de l'activité antibactérienne d'extraits bruts de feuilles de Pistacia lentiscus , pages 27-31.
- **DE. Billerbeck V.G., ROQUES C., VANIERE P. et MARQUIER P., (2002)**. Activités antibactérienne et antifongique de produit à base d'huile essentielles . Hygiènes volume X N° 3
- **Debbabi . H , Nemri .K, Riahi. H , (2017)** Journal of new sciences, Agriculture and Biotechnology, 40(1), 2144-2152
- **Debbi S, Saadi M (2019)**,Isolement, identification et étude de la résistance des souches d'escherichia coli isolées dans différents service de l'hôpitalde lakhdaria, mémoire de master, universite akli mohand oulhadj – bouira, page 23.
- **Djaafri F. ; Rezzoug S. et Ounis K. (2013)**. Caractérisation physico-chimique et effet antibactérien de quelques types de miels. Projet de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agronomie . Université KasdiMerbah d'Ouargla. 46- 56
- **Djenane D, Yangüela J, Montañés L, Djerbal M, Roncalés P, (2011a)**.Antimicrobial activity of *Pistacia lentiscus* and *Satureja montana* essential oils against *Listeria monocytogenes* CECT 935 using laboratory media: Efficacy and synergistic potential in minced beef. Food Control, 22(7): 1046-1053.
- **Dorman H. J. D. et Deans S. G., 2000**, Antimicrobial agents from plants: antibacterial activity of plant volatile oils, p: 308-316.
- **Doukani K., Tabak S., Derriche A.et Hacini Z,(2014)**. Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. Revue Ecologie-Environnement.10 :37-49.
- **Duru Me., Cakir A., Kordali S., Zengin H., Harmandar M., Izumi S., Hirata T. (2003)**. Chemical composition and antifungal properties of essential oils of three Pistacia species. Filoterapia, 74: 170-176.

F

- **Fennane M., Ibn Tattou M., Ouyahya A., El Oualidi J, (2007)**. Flore Pratique du Maroc: Manuel de Détermination des Plantes Vasculaires. Travaux de l'Institut Scientifique, Rabat, série botanique : Vol. 2, No. 38. p 250.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Fizazi Imene, Zeddami Fatima Zohra, (2018).** Mémoire de master Etude de l'effet antibactérien du miel sur des souches, page 25.
- **Fléché C. , Clément,M,C. Zeggane S &Faucon J.-P.(1997)**contamination des produit de la ruche et risques pour la santé humaine : situation en France .Rev.sci .tech. Off.int.Epiz.,16(2).609-619

G

- **Grosjean J , Clavé D, Archambaud M , Pasquier C ,(2011).** Bactériologie et Virologie pratique 2^e édition révisée , De Boeck université ,paris ,pages 73-78,125-139.

H

- **Haddouchi. F., Chaouche T. M., Ksouri. R., et al., (2014)** Phytochemical screening and in vitro antioxidant activities of aqueous-extracts of *Helichrysum stoechas* subsp. *rupestre* and *Phagnalon saxatile* subsp. *saxatile*. *Chin J Nat Med* 12(6), 415–22.
- **Haderbache, L., Bousdira, M., Arezki, M.,(2013).** *Ziziphus lotus* and *Euphorbia bupleuroides* Algerian honeys. *World Applied Sciences Journal*, 24(11): 1536-154
- **Hafsé M, Benbrahim KF, Saidi A, Farah A (2013).** Volatile Components and Antibacterial Profile of Essential Oils Extracted from Leaves and Twigs of *Pistacia lentiscus* L. *British Microbiology Research Journal* 3(4): 602-611
- **Haloui T, Farah A, Balouiri M, Chraïbi M, Fadil M, Benbrahim KF, Alaoui AB (2015).** Bacteriostatic and Bactericidal Profile of Leaves and Twigs Essential oils of Moroccan *Pistacia lentiscus* L. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 5 (06): 050-053
- **Hamoumane Hayet , Achite Aïcha (2018),**Mémoire de master, Analyses physico-chimiques et activité antibactérienne de quelques échantillons du miel Algérien , Université de Djilali Bounaama de Khemis Miliana pages 42- 61
- **Hocine Laredj (2017).** THESE de Doctorat en sciences biologique ,option microbiologie ,Caractérisation microbiologique et physicochimique des miels produits au niveau de la région de tiaret pages 50-58.
- **Hyldgaard M., Mygind T., Meyer R. L. (2012).** Essential oils in food preservation: mode of action, synergies, and interactions with food matrix components. *Frontiers in Microbiology Antimicrobials, Resistance and Chemotherapy*. 3(12), 1-24.

I

International honey commission ,(2009), harmonized methods of the international honey commission . <http://www.bee-hescagon.met/en/network.htm> ;1-36

K

- **Kordali S., Cakir A., Zengin H., And Duru M. (2003)**. Antifungal activities of the leaves of three Pistacia species grown in Turkey. *Filoterapia*, 74: 164-167.
- **Kwakman P.H.S. and ZAATS;A.J.(2012)**.Antibacterial components of honey. *IUBMB life*,1(64),48-55p.

L

- **Laoumir Nacéra , Maachou Bochra , Guenouni Fatima,(2020)**, Mémoire de Master , Biotechnologie microbienne ,Contribution à l'étude de l'effet bactéricide de l'argile sur les Staphylococcus aureus , pages 20,21 .
- **Leclerc et al., (1976)**.microbiologie appliquée , paris,page 46.
- **Lin Y. T., Vatter D., Labbe R. G., Shetty K. (2005)**. Enhancement of antioxidant activity and inhibition of Helicobacter pylori by phenolic phytochemicalenriched alcoholic beverages. *Process Biochemistry*. 40(6), 2059-2065.

M

- **Masson M.(2003)**, le miel un antibiotique naturel , encyclopédie A à Z , ed Radio- Canada ,page 22.
- **Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A. 2010** . étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltes du territoire algérien vol. 2, n° 2, p 115-125
- **Michel Ricard, (2010)**, encyclopédie hachette des connaissances agricoles .je fait mon miel, Anne le meur ,paris,page 60,61
- **Michel Federichi (2020)**,Bactériologie Alimentaire Compendium d'hygien des aliments , 2^eédition, pages 26,27,28,29.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Molan P.C.(1992).**The antibacterial activity of honey, variation in the potency of the antibacterial activity. *Beeworld*, 73, 59-76p.

محسن ايوب عيسى ، بشرى دلي حمد ، انغام جبار علوان ، (٢٠١١). دراسة الفعالية التثبيطية لنبات و عسل السدر تجاه بعض البكتيريا المرضية ، مجلة التربية و العلم - المجلد (٢٤) ، العدد (٣) ، صفحة ٧٠

N

- **Nedji N.(2015).**Effet des acaricides sur l'abeille domestique *Api mellifera* intermission et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel , Thèse en doctorant en BA.UNV. Annaba , page 133.
- **Nassar, H.M., Li, M., Gregory, R.L. (2012).** Effect of honey on *Streptococcus mutans* growth and biofilm formation. *Appl Environ Microbiol.* Vol 78(2):536-40.

O

- **Otmani Y. et Slimani M. (2017).** Activité antibactérienne et anti-inflammatoire des extraits des feuilles d'olivier (*Olea europea L.*) et du lentisque (*Pistacia lentiscus L.*) Mémoire de fin d'étude . TIZI-OUZOU, pages 32- 41
- **Ouelmouhoub, S, 2005.** Gestion multi-usage et conservation du patrimoine forestier: cas des subéraies du Parc National d'El Kala (Algérie).

P

- **Palevitch D and YANIV Z. (2000).** Medicinal plants of the Holy Land. Modan Publishing House, 9-88.
- **Patrick Chanaud, (2011),** les miels variétés, bienfaits, recettes, édisud, France, page 35
- **Pater david paterson , (2006).** L'apiculture, Quae , CTA, Presses , agronomiques de Gemblou, France, page 127.
- **Perry, James T. Staley , Stephen Lory ,(2004) ,** cours et questions de révision microbiologie , dunod , paris , p 479.
- **Pierre Jean-prost, Yves le conte ,(2005),** Apiculture connaître l'abeille , conduire le rucher , 7ème édition , tec & doc , Lavoisier , paris , page 380
- **Ponce, A. G., Fritz, R., del Valle, C., Roura, S.I.(2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard . *Lebensm.-Wiss. u.-Techno*, 36, PP.679 -684.

Q

- **Quezel P. et Santa S., (1962).** Nouvelle Flore d'Algérie et des Régions Désertiques Méridionales, Tome I, Centre Nationale de la Recherche Scientifique, 1170 p

R

- **Romani A., Pinelli P., Galardi C., Mulinacci N., Tattini M., (2002).** Identification and Quantification of Galloyl Derivatives, Flavonoid Glycosides and Anthocyanins in Leaves of Pistacia Lentiscus L, Phytochemical Analysis : Vol. 13, No. 2, 79-86.

S

- **Senouci Bereksi Mohamed et al.,(2010).**Méthodes et techniques en bactériologie, office des publication universitaires , pages 27,70-73.
- **Smail-Saadoun, N. (2005).**Types stomatiques du genre Pistacia : Pistaciaatlanticadesf. ssp. Atlantica et Pistacialentiscus L. Options Méditerranéennes : Série A. Séminaires Méditerranéens, (63), PP. 369-371.
- **Sousa A., Ferreira I.C.F.R., Barros L., Bento A. et Pereira A., (2008).** Effect of solvent and extraction temperatures on the antioxidant potential of traditional stoned table olives «alcaparras ». Learning with Technologies. Volume 41: 739–745.
- **Conde E., Cara C., Moure A., Ruiz E., Castro E. et Dominguez H., (2009).** Antioxidant activity of the phenolic compounds released by hydrothermal treatments of olive treepruning. Food Chemistry. Volume 114: 806 – 812.
- **Sqalli H., El Ouarti A., Ennabili A., Ibsouda S., Farah A., Haggoud A., Houari A., Iraqui M., (2007).** Évaluation de l'effet Antimycobactérien de Plantes du Centre-Nord du Maroc. Bull Soc Pharm : Vol. 146, 271-288.
- **Starliper C. E., Ketola H. G., Noyes A. D., Schill W. B., Henson F. G., Chalupnicki M. A., Dittman D. E. (2015).** An investigation of the bactericidal activity of selected essential oils to Aeromonas spp. Journal of Advanced Research. 6(1), 89-97

T

- **Tebibel Guezlane et al., (2011).** Microbiologie travaux pratiques, 2^{ème} année TCB et LMD 4^{ème} édition courigée , office des publication universitaires , page 60,71,72.

REFERANCES BIBLIOGRAPHIQUES

- **Tortora Gerard, Berdell Funke ,Christine Case, (2012).**Introduction à la microbiologie 2^{ème} édition , édition de renouveau pédagogique , INC (ERPI) CANADA , page 37.

V

- **Villar A., Sanz M.J and Paya M. (1987).** Hypotensive effect of Pistacia lentiscus L. International journal of crude drug research 25(1): 1-3

W

- **Walsh S. E., Maillard J. Y., Russell A. D., Catrenich C. E., Charbonneau D. L., Bartolo R. G. (2003)** Activity and mechanisms of action of selected biocidal agents on Gram-positive andnegative bacteria. Journal of Applied Microbiology. 94(2), 240-247.

Y

- **Yves Couquet , Alexis Desmoulière ,Marie – Laure Rigal , (2013).**Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel , Laboratoire départemental d’analyses et de recherche de la Haute-vienne, avenue professeur-joseph-de-léobardy, France 22- 24

Z

- **ZAIKA L., (1988).** Spices and Herbs : their antimicrobial activité and its detremination . Journal of food Saftey . 9(2), 97- 118




Annexe

Annexe 01

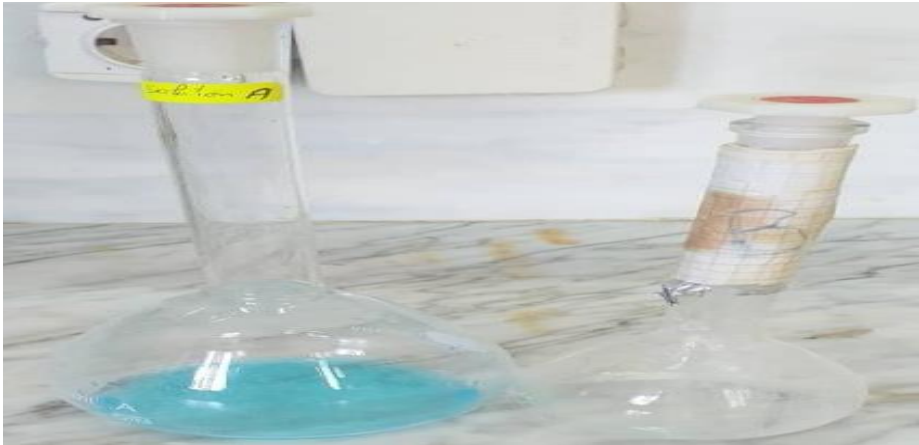
Composition des différents milieux de culture utilisés

Milieux	Composition
Chapman	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande1g • Peptone caséine et de viande10g • Chlorure de sodium5g • D-mannitol10g • Agar15g • Rouge de phénol.....0.025g • Eau distillé1000ml • Ph final 7.4
MacConkey	<ul style="list-style-type: none"> • Hydrolysate pancréatique de gélatine17g • Hydrolysate pancréatique de caséine1.5g • Hydrolysate pepsique de tissus animaux..1.5g • Lactose10g • Sel bélière1.5g • Chlorure de sodium5g • Rouge neutre0.03g • Crystal violet0.001g • Agar13.5g • Eau distillé1000ml • Ph 7.4
Muller Hinton	<ul style="list-style-type: none"> • Extrait de viande.....03g • Hydrolysate acide de caséine17,5g • Amidon15g • Agar16g • Eau distillée.....1000ml • pH final 7,3
Bouillon nutritif	<ul style="list-style-type: none"> • extrait de viande sec5g • Bacto-peptone10g • Chlorure de sodium5g • Eau distillé1000ml • Ph 7.2-7.4
Gélose nutritive	Est obtenue par ajout, avant l'autoclavage de 20g d'agar agar au bouillon nutritif.

Annexe 02

Préparation de milieu Muller Hinton		Préparation de l'eau physiologie	
Eau distillé	1 litre	NaCl	1.53g
Milieu Muller Hinton	38g	Eau distillée	180ml
 			
photo 01 : milieu Muller Hinton		Photo 02 : eau physiologie stérile	

Préparation de liqueur de Fehling

Solution A	Solution B
40 g de CuSO_4 1L d'eau distillé	200g de tartrate double de sodium et de potassium 1L d'eau distillé 150 de soude
	
Photo 03 : solution A et B de liqueur de Fehling	

Annexe 03

Réactifs utilisés dans la coloration de Gram

➤ Le violet phénique (colorant primaire)

Violet de gentiane (Crystal violet)	1g
Alcool absolu	10ml
Eau phéniquée à 1%	90ml

➤ Liquide de lugol (mordant)

Iod	1g
Iodure de potassium	2g
Eau distillée	300 ml

➤ Alcool 96%(agent de décoloration)

➤ Solution de fuchsine ou de safarine (colorant de contraste)

Solution de fuchsine saturée à l'alcool	10ml
Eau distillée	90ml

Réactifs de galerie ajoutée

- TDA (Chlorure de fer III)
- James
- VP
 - hydroxyde de potassium KOH
 - Alpha naphthol

Tableau 01 : la lecture d'une Galerie API 20 E (Camille delarras 2007).

Tests	Réactions	Composants actifs	Ajout de réactifs	Résultats	
				Négatif	positif
ONPG	Béta-galactosidase	2-nitrophényl-béta-D-galactopyranoside	Non	Incolore	Jaune
ADH	Arginine di hydrolase	L-arginine	Non	Jaune	Orange ou rouge
LDC	Lysine décarboxylase	L-lysine	Non	Jaune	Orange ou rouge
ODC	Ornithine décarboxylase	L-ornithine	Non	Jaune	Orange ou rouge
CIT	Assimilation du citrate	Citrate trisodique	Non	Vert pale ou jaune	Bleu-vert ou bleu
H ₂ S	Thiosulfate réductase	Thiosulfate de sodium	Non	Incolore ou grisâtre	Dépôt noir
URE	Uréase	Urée	Non	Jaune	Orange ou rouge violacé
TDA	Tryptophane désaminase	L-tryptophane	TDA	Jaune	Marron ou brun foncé
IND	Production d'indole	L-tryptophane	James	Incolore ou jaune	Rose ou rouge
VP	Production d'acétoine	Pyruvate de sodium	VP1 VP2	Incolore	Rose ou rouge
GEL	Gélatinase	Gélatine de bœuf	Non	Non diffusion du charbon	Diffusion du charbon
Glu	Glucose	D-glucose	Non	Bleu ou bleu-vert	Jaune
MAN	Mannitol	D-mannitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
INO	Inositol	Inositol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SOR	Sorbitol	D-sorbitol	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
RHA	Rhamnose	L-rhamnose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
SAC	Saccharose	D- Saccharose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
MEL	Mélibiose	D- mélibiose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
AMY	Amygdaline	Amygdaline	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune
ARA	Arabinose	L- arabinose	Non	Bleu ou bleu vert	Jaune

Annexe 04

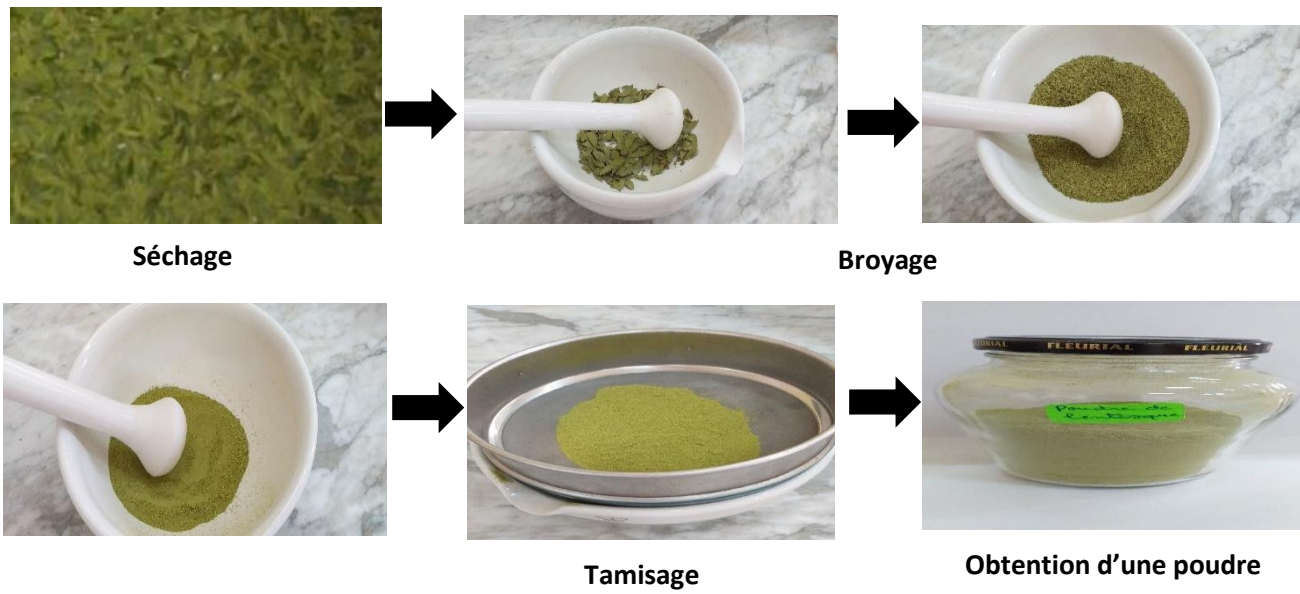


Figure 01 : traitement des échantillons

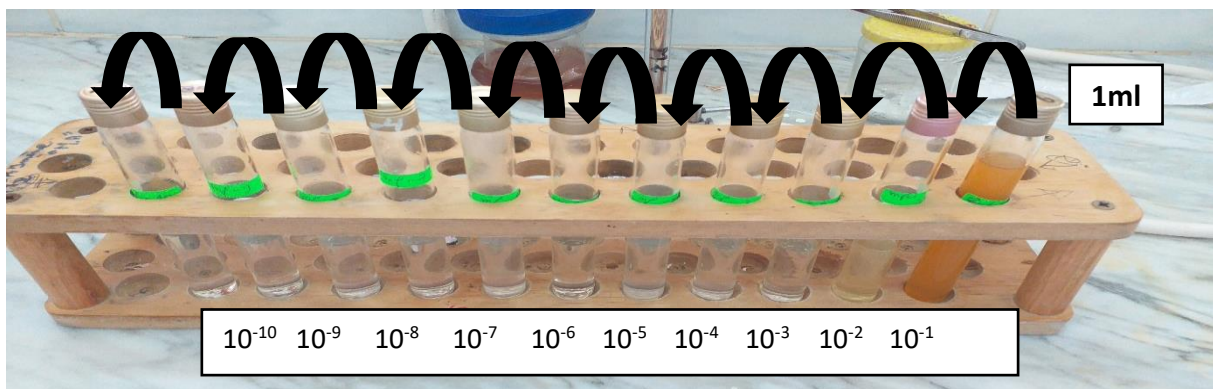


Photo 04 : La dilution décimale de l'extrait aqueux infusé

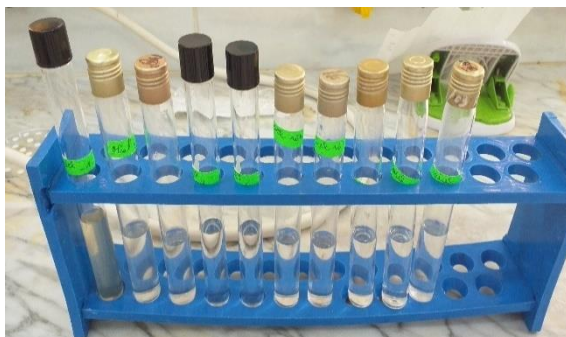


Photo 05 : la dilution décimale de miel



Photo 06: la dilution décimale de l'extrait aqueux décocté

Annexe 05

Tableau de CHATAWAY 1935

Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g	Indice de réfraction à 20 °C	Teneur en eau g/100 g
1.5044	13.0	1.4880	19.4
1.5038	13.2	1.4875	19.6
1.5033	13.4	1.4870	19.8
1.5028	13.6	1.4865	20.0
1.5023	13.8	1.4860	20.2
1.5018	14.0	1.4855	20.4
1.5012	14.2	1.4850	20.6
1.5007	14.4	1.4845	20.8
1.5002	14.6	1.4840	21.0
1.4997	14.8	1.4835	21.2
1.4992	15.0	1.4830	21.4
1.4987	15.2	1.4825	21.6
1.4982	15.4	1.4820	21.8
1.4976	15.6	1.4815	22.0
1.4971	15.8	1.4810	22.2
1.4966	16.0	1.4805	22.4
1.4961	16.2	1.4800	22.6
1.4956	16.4	1.4795	22.8
1.4951	16.6	1.4790	23.0
1.4946	16.8	1.4785	23.2
1.4940	17.0	1.4780	23.4
1.4935	17.2	1.4775	23.6
1.4930	17.4	1.4770	23.8
1.4925	17.6	1.4765	24.0
1.4920	17.8	1.4760	24.2
1.4915	18.0	1.4755	24.4
1.4910	18.2	1.4750	24.6
1.4905	18.4	1.4745	24.8
1.4900	18.6	1.4740	25.0
1.4895	18.8		
1.4890	19.0		
1.4885	19.2		

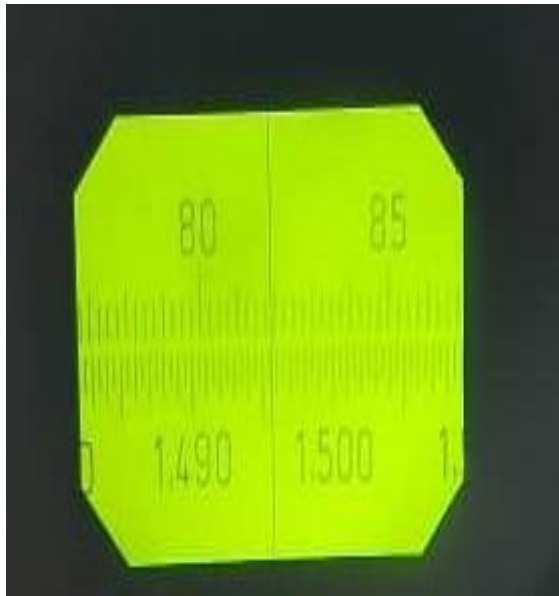


Photo 07: Détermination de l'humidité et du taux de la matière sèche par la méthode du réfractomètre



Photo 08 : Mesure du pH

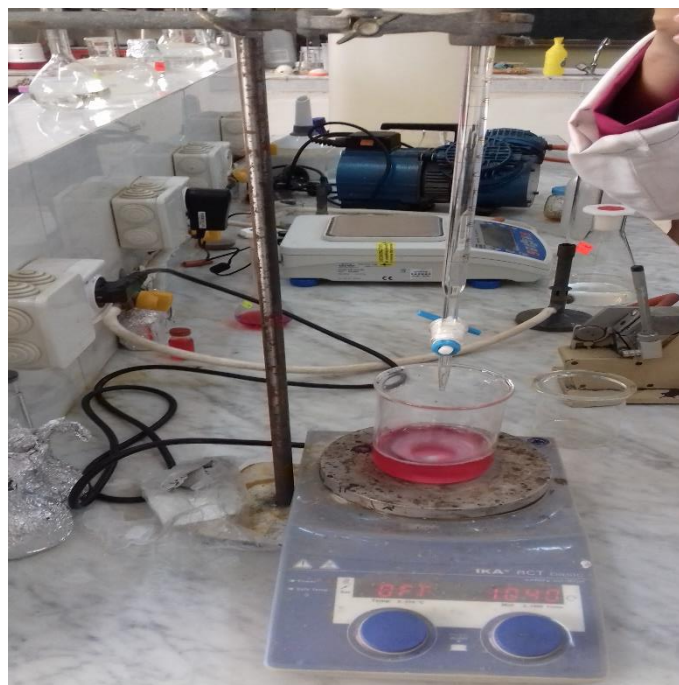


Photo 09 : Mesure de l'acidité

Annexe 06

Standardisation de Mac Farland

La préparation de la solution 0,5 Mc F

Dans un bécher de 150ml mélangé 0,5ml de BaCl₂ déshydraté à 1% avec 99,5ml de la solution d'H₂SO₄ à 1% ; sous agitation constante on obtient un standard de Mc F (sulfate de baryum). En utilisant des cuvettes appariées avec un trajet lumineux de 1cm et de l'eau distillée comme étalon blanc, l'absorbance ou la turbidité du standard doit être mesurer par un spectrophotomètre à une longueur d'onde de 625nm. Ce standard à une densité qui varie de 0,08 à 0,13 se qui correspondant au nombre du germe ~ 10⁷ à 10⁸ germe/ml. Aliquote la solution en volumes de 10 ml, dans des tubes identiques à ceux qui serviront à la préparation des inoculas. Le standard de Mc F sera distribué dans des tubes à bouchon à vis du même volume qui celui utilisé pour préparer l'inoculum de test les tubes doivent être fermés pour éviter la perte par évaporation de la solution conservés à l'abri de la lumière à une température ambiante .on homogénéise le tube étalon avant de le comparer à l'inoculum préparé. Inoculum et l'étalon doivent avoir la même turbidité lorsqu'ils sont examinés sur un fond rayé

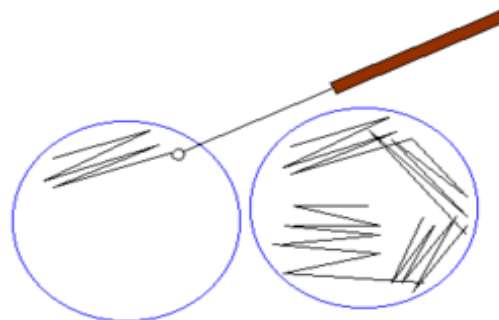
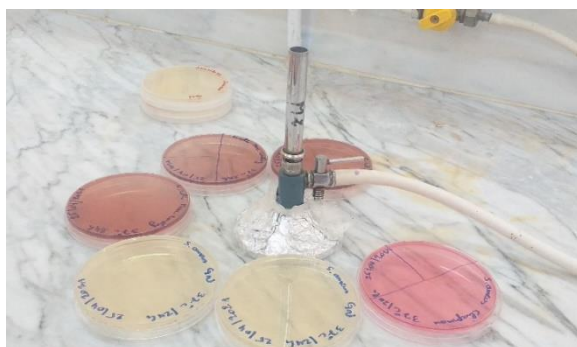


Photo 10 : Repiquage de *S.aureus* et *E.coli* sur des milieux sélectifs

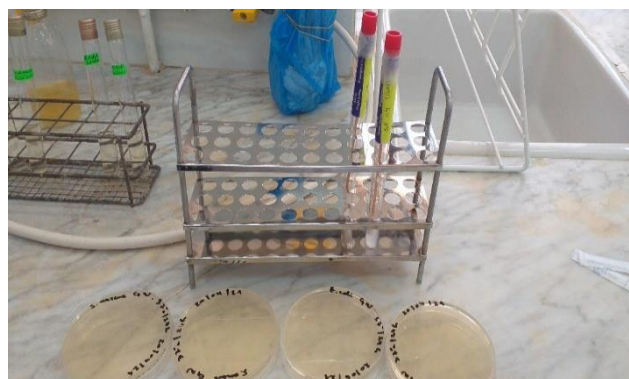






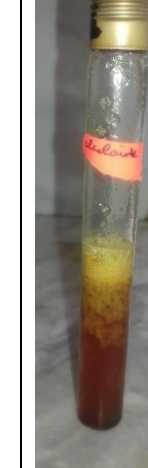


Photo 11 : Revivification des souches bactériennes

Annexe 07

Résultats de Screening phytochimique de l'extrait aqueux des feuilles de *Pistacia lentiscus L.*

Tests	Phénol (tanins)	Composé réducteurs	Flavonoïdes	saponosides	mucilages	anthocyanes	alcaloïdes
Réactions							

Résumé

La présente étude vise à évaluer l'effet antimicrobien d'un échantillon du miel jujubier « sidr » et des extraits aqueux infusés et décoctés des feuilles de *Pistacia lentiscus*, aussi du mélange entre eux contre les deux bactéries Gram positif (*Staphylococcus aureus*) et Gram négatif (*Escherichia coli*) avec des pourcentages successives de 25%, 50%, 75 %, 100%.

Ainsi la révélation de la résistance de ces bactéries aux quelques antibiotiques.

Des analyses physicochimiques (la teneur en eau, le pH, l'acidité libre et la matière sèche) et phytochimiques (révélation des phénols, flavonoïdes, composés réducteurs, terpénoïdes et les alcaloïdes) ont été réalisées pour l'identification de certains composés responsables de leur effet antibactérien, les résultats montrent que le miel répond aux normes internationales et que l'extrait contient les composés chimiques responsables à l'activité antibactérienne.

Les résultats obtenus indiquent que l'effet du miel et de l'extrait chacun seul mieux que de mélange entre eux avec une sensibilité plus élevée de *S.aureus* que d'*E. Coli* pour ces derniers.

Les meilleurs résultats ont été obtenus avec un pourcentage de 50% du miel avec l'extrait aqueux des feuilles de lentisque.

La CMI confirme les résultats obtenus par le mélange.

Les diamètres d'inhibition des antibiotiques contre les deux souches sont très élevés par rapport à ceux obtenus pour le mélange à cause de différence au niveau des compositions chimiques.

Mots clés : Effet antibactérien, extrait aqueux, miel, mélange, *Pistacia lentiscus L.*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, CMI.

الملخص

تهدف الدراسة الحالية إلى تقييم التأثير المضاد للميكروبات لعينة من عسل السدر والمستخلصات المائية المنقوعة والمغلدة من أوراق نبات الضرو وكذلك الخليط بينهما ضد البكتيريا موجبة الجرام (*Staphylococcus aureus*)

و سالبة الجرام (*Escherichia coli*). بنسب متتالية 25%، 50%، 75%، 100%.

وكذلك تم الكشف عن مقاومة هذه البكتيريا لبعض المضادات الحيوية.

تم إجراء التحاليل الفيزيائية والكيميائية (محتوى الماء ، ودرجة الحموضة ، والحموضة الحرة ، والمواد الجافة) والتحليلات الكيميائية النباتية (الكشف عن الفينولات ، والفلافونويد ، والمركبات المختزلة ، والترينويدات والقلويدات) لتحديد بعض المركبات المسؤولة عن تأثيرها المضاد للبكتيريا ، وأظهرت النتائج أن العسل يفي بالمعايير الدولية وأن المستخلص يحتوي على المركبات الكيميائية المسؤولة عن النشاط المضاد للبكتيريا.

تشير النتائج التي تم الحصول عليها إلى أن تأثير العسل وخالصة كل منهما على حدة أفضل من مزجها مع حساسية اعلى لبكتريا *S.aureus* مقارنة بـ *E.coli*.

تم الحصول على أفضل النتائج بنسبة 50٪ من العسل مع المستخلص المائي لأوراق نبات الضرو .

تؤكد CMI النتائج التي تم الحصول عليها بواسطة الخليط.

أقطار تثبيط المضادات الحيوية ضد السلالتين عالية جدًا مقارنة بتلك التي تم الحصول عليها للخليط بسبب الاختلاف في التركيبات الكيميائية.

الكلمات المفتاحية : تأثير مضاد للجراثيم ، مستخلص مائي ، عسل ، خليط ، *Pistacia lentiscus*

.CMI , Escherichia coli , Staphylococcus aureus

Abstract

The present study aims to evaluate the antimicrobial effect of a sample of jujube honey "sidr" and aqueous extracts infused and decocted from the leaves of *Pistacia lentiscus*, also of the mixture between them against the two Gram-positive bacteria (*Staphylococcus aureus*) and Gram negative (*Escherichia coli*) with successive percentages of 25%, 50%, 75%, 100%.

Thus the revelation of the resistance of these bacteria to some antibiotics.

Physicochemical (water content, pH, free acidity and dry matter) and phytochemical analyzes (detection of phenols, flavonoids, reducing compounds, terpenoids and alkaloids) were carried out for the identification of certain compounds responsible for their antibacterial effect, the results show that honey meets international standards and that the extract contains the chemical compounds responsible for antibacterial activity.

The results obtained indicate that the effect of honey and extract each alone is better than mixing them with a higher sensitivity of *S. aureus* than of *E. coli* for the latter.

The best results have been obtained with a percentage of 50% of the honey with the aqueous extract of the mastic leaves.

The MIC confirms the results obtained by the mixture.

The diameters of inhibition of antibiotics against the two strains are very high compared to those obtained for the mixture because of the difference in chemical compositions.

Key words: Antibacterial effect, aqueous extract, honey, mixture, *Pistacia lentiscus* *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, CMI.