

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE
جامعة 20 أوت 1955 - سكيكدة
UNIVERSITE 20 AOUT 1955-SKIKDA



Faculté des sciences
Département des Sciences de la Nature et de la Vie
Mémoire Présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Filière : Sciences Biologique

Option : Microbiologie Appliquée

Intitulé

**Effet de l'activité antibactérienne du miel naturel sur
des souches pathogènes**

Présenter par : Afifi Yousra Alia Sarra

Ahmed seid Soulef Daif Raouia

Membre de jury :

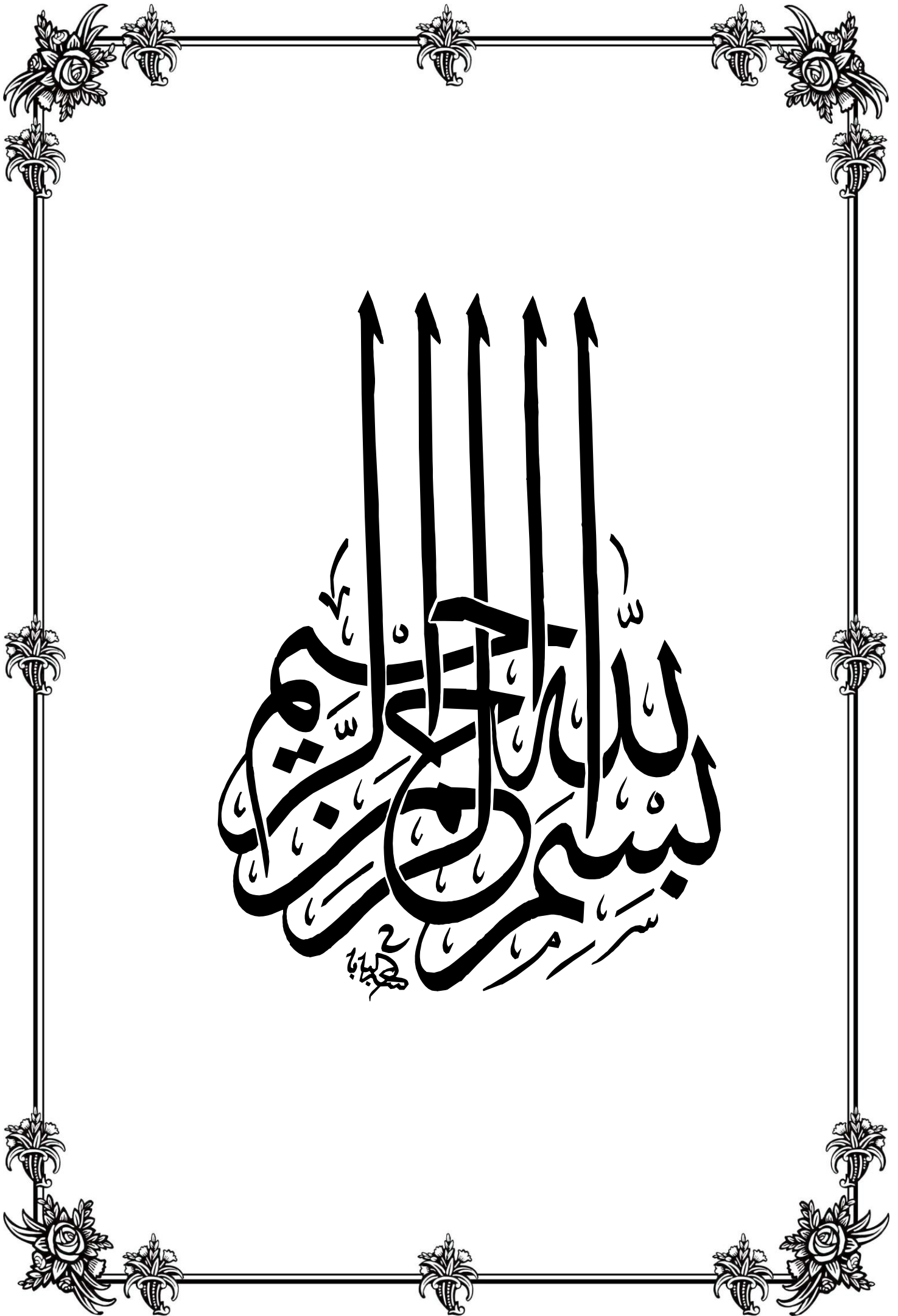
Mr Laib Messoude	Président	Unniversité 20 Aout 1955
Mme Laib Imen	Examineur	Unniversité 20 Aout 1955
Bouzebda A.Errazek	Encadreur	Unniversité 20 Aout 1955

5

Année universitaire 2021/2022

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

سَرَّ مَرَّ حَبَابَا



Remerciements

Nos remerciements s'adressent premièrement et avant tout au « Bon Dieu » tout puissant, qui nous a donné la santé pour réaliser ce travail, et pour sa grâce tout au long de notre vie.

Nous tenons à remercier vivement notre enseignant et promotrice ; Dr : Bouzebda. A, pour ses précieux conseils, ses encouragements et sa disponibilité à tout heur pour mener a temps noter travail.

Nous remercions aussi les membres du jury qui ont bien voulu examiner notre travail et l'apprécier a sa juste valeur.

Nous remercier chaleureusement le personnel du laboratoire d'hygiène de la willaya Merdj Dib et laboratoire de l'université 20 Aout 1955.

Nous remercions vivement et sans exception tous mes précepteurs, directeur, administrateur et enseignants de l'école primaire et de l'école fondamentale lycée et du département des sciences biologiques.



Je dédie ce modeste travail :

Dieu tout puissant, qui m'a donné la force, la santé et le courage de réaliser ce précieux travail.

A la personne la plus chère à mon cœur : Maman qui m'a supportée vaillamment pas à pas tout au long de ma vie..., les mots ne suffisent pas pour exprimer toute l'affection que j'éprouve pour toi ; je te dois ma réussite, mon éducation, ma fierté tu m'aimes très profondément et tu as été toujours une mère idéale. Tu es la seule qui comprends ma vie : Je te demande pardon et encore une fois merci.

A mon cher père sur mon cœur.

*A mes frères **Ishak, Bellal**, pour l'amour, l'attention et l'aide qu'ils m'ont apportés.*

*A mes très chères sœurs **Amel et Soumia**.*

*A mon encadreur **Bouzebda** qui m'a soutenu au long de mes travaux je vous remercie*

*A mes chères copines **Afifi Yousra, Ahmed Seïd Soulef, Daïf Raouia**.*

A mes amis et à toutes les personnes qui j'aime....



Alia Sarra



Dédicace

Merci d'Allah «mon dieu » de m'avoire donné la capacité d'écrire et de réfléchir, la force d'y croire, la patience d'aller jusqu'au bout du rêve.

Je dédie ce modeste travail

A mes chers, mon père , ma mère et mon mari

A ma Maman Hafida , Tu m'as donné la vie, la tendresse et le courage pour

réussir. Tout ce que je peux t'offrir ne pourra exprimer l'amour et la reconnaissance que je te porte.

A mon Papa Hamide , L'épaule solide, l'œil attentif compréhensif et la personne la plus digne de mon estime et de mon respect. Aucune dédicace ne

serait exprimer mes sentiments, toi qui m'as toujours encouragé à aller de l'avant et à croire à mes ambitions et ma réussite.

Mes frère houssem , zino m'a toujours aidé et s'est tenu à mes cotés

Et mon mari karim , pour son amitié , son aide , son soutien et sa disponibilité

A toute ma famille

A mes camarades

A tous ceux qui j'aime



RAOUIA



ملخص :

يساهم هذا العمل في تقييم التأثير المضاد للبكتيريا لأربع عينات من العسل الطبيعي ، غير المعالج وغير المبستر ، المحصود من أربعة مواقع في إقليم سكيكدة. هم زردازة ، الحروش ، أولاد حبابة ، مرسى. في هذه الدراسة اخترنا فئتين من الجراثيم حسب درجة حساسيتها للمضادات الحيوية وهما: السلالات الحساسة والسلالات المقاومة.

يتم اختبار العينات الأربع على سلالتين من البكتيريا المسببة للأمراض ، غالباً ما تكون متعددة المقاومة ، مأخوذة من عدوى المسالك البولية والجلدية. هذه هي المكورات العنقودية الذهبية ، الإشريكية القولونية. يعتمد عملنا على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من خلال تقنيتين: الانتشار على وسط أجار والانتشار في الآبار.

النتائج التي تم الحصول عليها تظهر بوضوح تأثير العسل الطبيعي على حساسية البكتيريا. لوحظ هذا التأثير المثبط للعينات الأربع التي تم اختبارها مع وجود اختلافات من عينة إلى أخرى ومن سلالة بكتيرية إلى أخرى.

لقد وجدنا أن المكورات العنقوديات الذهبية هي الأكثر حساسية للعسل الذي تم اختباره.

الكلمات الدالة : التأثير المضاد للبكتيريا , العسل الطبيعي , مضادات حيوية , سلالة ممرضة.

Abstract :

This work is a contribution to the evaluation of the antibacterial effect of four samples of natural honey, untreated and unpasteurized, harvested from four sites in the territory of SkikDA. They are Zerdazas, El Harrouch, Oled Hbaba, and Marssa. For this study, we have chosen two categories of germs, according to their degree of sensitive to antibiotics, namely sensitive strains and resistant strains .the four samples are tested on two pathogenic, often multi- resistant bacterial strains taken from urinary tract and skin infection. These are *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*. Our work is based on the evaluation of the antibacterial activity by two techniques: diffusion on agar medium and diffusion in wells.

The results obtained clearly show the impact of natural honey on bacterial sensitivity. This inhibitory effect was observed for the four samples tested with differences from one samples to another and from one bacterial strain to another.

We found that *Staphylococcus aureus* is the most sensitive to the honeys tested.

Keys words: antibacterial activity, natural honey, bacterial strain, pollrésistance

Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation l'effet antibactérien de quatre échantillons de miel naturel, non traité et non pasteurisés, récoltés de quatre sites de territoire de Skikda. Il s'agit de Zerdazas, el Harrouch, Oled Hbaba, Marssa.

Nous avons choisi pour cette étude deux catégories de germes, selon leur degré de sensibilité aux antibiotiques, à savoir : des souches sensibles, et des souches résistantes.

Les quatre échantillons sont testés sur deux souches bactériennes pathogènes, souvent multirésistantes prélevés des infections urinaires et cutanées. Il s'agit de Staphylococcus aureus, Escherichia coli.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antibactérienne par deux techniques : diffusion sur milieu gélosé et diffusion en puits.

Les résultats obtenus montrent clairement l'impact du miel naturel sur la sensibilité bactérienne. Cet effet inhibiteur a été constaté pour les quatre échantillons testé avec des différences d'un échantillon à l'autre et d'une souche bactérienne à l'autre.

Nous avons constaté que le Staphylococcus aureus est les plus sensibles vis à vis des miels testés.

Mots - clés : effet antibactérien, miel naturel, souches pathogènes, multirésistantes

SOMMAIRE.

Liste des tableaux .

Liste des figure .

Liste d'abréviation.

Introduction .

Partie bibliographie

Chapitre I : La vie de l'abeille

I. HISTORIQUE	1
II.2 Organisation sociale des abeilles	2
II. L'ABEILLE	2
II.1. Définition de l'abeille	2
II.3. Classification	3
II.4 Les produits de la ruche	4
III GENERALITE SUR LE MIEL	5
III .1 Le miel	5
III .1. 1 Définition de miel	5
III.1.2 Origine du miel	5
III 1.3. Les types des miels	7
III.1.4 Formation du miel	8
III .1.5 Composition du miel	10
1- Eau	11
2- Sucres	11
3- Acides organiques	11

4- Sels minéraux et oligoéléments	11
5- Protéines	12
6- Les enzymes	12
7- Les vitamines	12
8- Les substances	12
9- Les pigments	12
IV LA CARACTERISTIQUE DU MIEL	13
A. La cristallisation	13
IV.1 La caractéristique organoleptique	13
B. La texture	14
C:La couleur	14
Odeur et gout	14
IV2 Les caractéristiques physico-chimiques	15
La viscosité IV.2.1	15
IV.2.2 La solubilité	15
IV.2.3 L'humidité	15
IV.2.4: L'indice de réfraction	15
IV.2.5:La conductivité	16
IV.2.6 PH	16
IV.3 Caractéristiques nutritionnelle	16
V .ACTIVITE ANTIMICROBIENNES ET MECANISMES	17

V.1.Les propriétés antimicrobiennes du miel	17
. V.1.1. l'activité antibactérienne	19
V.1.2.L'activité antifongique	19
A. Activité sur mycoses cutanées	19
B. Mycoses vaginales	20
V.1.3 Mécanisme antimicrobienne .	20
A -L'osmolarité	21
B- Le peroxyde d'hydrogène	21
C- Le système non peroxyde	22
D- Lamethylglyoxal (MGO)	23
E- La défensine	23
La production de défensine	23
VI .Les effect thérapeutique du miel natural	24
VI .1 .Les propriétés principales	24
VI.1.1 Propriétés anti-infectieuses et antibiotiques	24
VI .1.2 Propriétés cicatrisantes	24
VI .1.3 Propriétés antioxydants	24
VI .1.4 Propriétés énergétiques et tonifiantes	24
VI .1.5 Propriétés sédatives et calmantes	25
VI .1.6 Propriétés respiratoires	25
VI .1.7 Propriétés digestives	25
VI .1.8 Propriétés protectrices cardiovasculaire	25

VI .1.9 Propriétés gustatives	26
--------------------------------------	-----------

VI .1.10 Propriétés cosmétiques	26
----------------------------------------	-----------

CHAPITRE II : - MATERIELS ET METHODES

I.1 Lieu l'étude	27
I.2 échantillonnage	27
1.2.1. Le miel	27
I.2.2 Les Bactéries	28
I.3_ milieu de culture	29
I.4- étude de la sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques	29
I.5 METHODE ANALYTIQUES	33
I.5.1 Analyse sensorielles	33
I.5.2 Analyse pollinique	34
I .5.3 L'analyse quantitative	34
I.5.4L'analyse qualitative	35
I.6 mesure les paramètres physico-chimiques du miel	36
I.6.1 pH:	37
I.6 .2 l'humidité:	38
I.6.3 La densité	39
I.6.4 La conductivité électrique :	39
I.7 Étude de l'activité antibactérienne du miel :	40
I.7.1La méthode de diffusion on puis sur gélose :	43

I.7.2	Méthode de dilution sur milieu liquide CMI	46
--------------	---------------------------------------------------	-----------

CHAPITER III :Résultat et duscussion

I.	LA SENSIBILITE DES SOUCHES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES	48
II.	ANALYSE ORGANOLEPTIQUE	49
III	L'ANALYSE POLLINIQUE	49
IV	Les paramètres physico-chimiques	50

Conclusion

Référence bibliographique

Annexes

LISTE DES TABLEAUX

N°Tableau	Intitulé	Page
Tableau 01	Tableau 1 : Classification systématique de l'abeille	03
Tableau 02	Tableau 2. Les produits de la ruche	04
Tableau 03	l'origine géographique et la date de récolte de quatre échantillon de miel	28
Tableau 04	l'origine de l'isolement des souches bactériennes utilisées	29
Tableau 05	les Antibiotiques utilisées dans l'antibiogramme	31
Tableau 06	Normes relatives à la qualité du miel	36
Tableau 07	comportement des souches bactériennes utilisées vis- vis- à – vis de certains antibiotiques	48
Tableau 08	résultats de l'analyse sensorielle	49
Tableau 09	les résultats de l'analyse pollinique quantitative et qualitative	50
Tableau 10	Les paramètre physico-chimiques des miels utilisés	53
Tableau 11	Résultat de CMI pour , staphylococcus aureus E-coli .	57
Tableau 12	Résultat de CMI pour , staphylococcus aureus E-coli .	61

Liste des figure :

figure	Intutile	Page
Figure 01	Scène de récolte du miel dans l'Egypte antique	01
figure 02	Organisation sociale des abeilles	03
figure 03	Aspect morphologique d'une ouvrière	07
figure 04	Étapes de formation du miel	10
figure 05	la composition du miel	13
figure 06	localisation des régions de prélèvement des échantillons	28
figure 07	localisation des régions de prélèvement des échantillons	29
figure 08	Techniques d'antibiogramme	32
Figure 09	le mode opératoire du pH	37
Figure 10	mode opératoire de l'humidité.	38
Figure 11	L'ensemencement dans le milieu solide	41
Figure 12	L'enrichissement dans le milieu liquide(BN)	41
Figure 13	les étapes d'enrichissement	42
Figure 14	Les suspensions bactériennes	43
Figure 15	les étapes de dilutions des miels	44
Figure 16	les étapes de dilutions des miels	44
Figure 17	Les méthodes de puits.	45
Figure 18	l'incubation les puits	45
Figure 19	L'incubation les boîtes dans l'étuve	46
Figure 20	tubes préparés pour le CMI.	47
Figure 21	Résultats d'étude de la sensibilité de la souche de E. Coli et S.aureus aux antibiotique après 24H d'incubation à 37C°	48
Figure 22	Effet antibactérien de 4 échantillons de miel naturel sur la croissance de staphylococcus aureus par la méthode des puits	57
Figure 23	Effet antibactérien de 4 échantillons de miel naturel sur lacroissance E-coli par la méthode de puits.	58
Figure 24	Activité antibacterienne des echantillons du miel par methode des puits. Les dilutions	59
Figure 25	Résultat de CMI pour les bactéries testées : staphylococcosaureus e-coli	60
Figure 26	Les concentrations minimales inhibitrices des defferentsechantillons de miel vis-à-vis de :	61

	Straphylococcus aureus E-coli .	
--	----------------------------------------	--

سورة النحل

وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ

أَنِ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا يَعْرِشُونَ

ثُمَّ كُلِي مِن كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلُلًا

يَخْرُجُ مِنْ بَطُونِهَا شَرَابٌ مُّخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ

إِنَّ فِي ذَٰلِكَ لَآيَةً لِّقَوْمٍ يَتَفَكَّرُونَ

[٩]

سُورَةُ النَّحْلِ



Introduction :

L'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est du généralement au phénomène de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent pas généralement des effets secondaires. Le miel compte parmi ces produits les plus convoités. En raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques, de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel.

Dans cette optique, le présent travail a pour principal objectif l'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel, vis-à-vis de certains micro-organismes pathogènes (**Bradbeer ,N.2011**)

Le mésusage des antibiotiques et l'émergence de bactéries multi résistantes sont des grands problèmes de santé actuellement, pour cette raison les maladies infectieuses redeviennent la première cause de mortalité dans le monde.

Face à cette menace les chercheurs de l'institut Pasteur et toutes les microbiologistes du territoire national sont parvenus à trouver autres substances naturelles capables de tuer ou bien inhiber la production des bactéries.

Dans ce contexte on a voulu de confirmer l'activité antibactérienne du miel sur certains souches bactériennes à l'aide de antibiogramme pour pouvoir donner un point de départ pour les études récente effectuées.

I. HISTORIQUE:

Entre l'homme et l'abeille existe une formidable histoire d'amour qui remonte à une dizaine de millénaires. Les travaux de la ruche et la récolte du miel, souvent auréolés de mythes et de légendes, font partie intégrante de l'histoire de l'humanité.

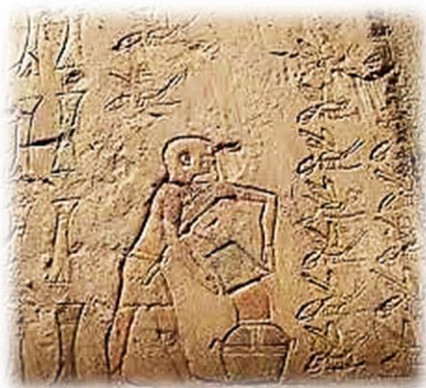


Figure 1: Scène de récolte du miel dans l'Egypte antique (Allain Guilleux).

Les produits de la ruche ont toujours fasciné les hommes. Le miel d'abord, qui a constitué pendant des millénaires en occident la seule source abondante de matières sucrées dont on pouvait disposer.

Le miel est donc un aliment que l'humanité connaît depuis la nuit des temps, les usages qu'en faisaient très variés, que ce soit en Egypte ou considéré comme source d'immortalité il servait à conserver la dépouille du pharaon, à Babylone ou il était employé en ophtalmologie et pour les maladies de l'oreille et en Afrique, ou il joue un grand rôle dans l'alimentation et la pharmacopée pour soigner brûlures, morsures de serpent ou plaies infectées.

L'origine du mot miel est à rechercher dans le mot sanskrit medhu. Connue sous le nom de melikraton durant toute l'Antiquité, il a eu une valeur religieuse très importante. Chez les Scandinaves, il donnait l'hydromel, la boisson des dieux, à Babylone on l'offrait en sacrifice aux divinités à l'occasion de la construction d'un temple, en Afrique, il avait une grande importance dans le rituel de la naissance et de la mort, comme en Inde ou chez les Germains. Enfin, les Livres Saints comme la Bible et le Coran ne manquent pas de louer les vertus du miel. Il est le symbole de la prospérité et de l'abondance lorsqu'il est question de la Terre Promise, pays ruisselant

de lait et de miel. Aujourd'hui, le miel est un aliment qui est aussi apprécié qu'autrefois (Huchet *et al.*, 1996)

II. L'ABEILLE:

II.1. Définition de l'abeille :

L'abeille est un insecte social appartenant à l'ordre des hyménoptères (Palataux *et al.*, 1982). Ils sont apparus il y a 45 millions d'années nettement avant l'homme (Daniem, 1983) cependant, certains paléontologues découvrirent leurs fossiles dans les ambres de la baltique depuis plus de 60 million d'années (Winston, 1993). Les mieux connus et les plus utilisées en apiculture sont dans le genre *Apis* et font partie de l'espèce *Apis mellifera* comportant plusieurs races géographiques qui peuplent actuellement l'Europe, l'Afrique, l'Asie occidentale, l'Amérique du nord, l'Amérique sud, l'Australie et la nouvelle Zélande (Giraudet, 2008).

II.2 Organisation sociale des abeilles:

A) La reine :

C'est la mère de la colonie, elle a une durée de vie moyenne de 4ans .la reine est la seule femelle féconde; elle n'a qu'une seule fonction pondre. le nombre d'œufs ponds peut atteindre 2000 par 24 heures. (Guillon ,1996)

B) Les ouvrières :

Leur rôle évolue tout au long de sa vie selon les besoins de la colonie et selon son stade de développement (McCallum, 2009).Elles sont des femelles incomplètes classées en fonction de leurs activités (Biri, 2001).

C) les faux bourdons :

Des abeilles de grande taille et très noire; leur rôle est de construire et ce sont elles qui apportent les matériaux de construction de la cire et amènent de la propolis. Ils ne sont utiles qu'à réchauffer le couvain et féconder la reine lors de son vol de fécondation.Ils sont admis dans toutes les ruches et ils sont ainsi des facteurs de propagation des maladies. Les faux bourdons vivent le temps de la miellée et sont fertiles qu'après les 21 jours de leur vie. (Bacher, 2008)

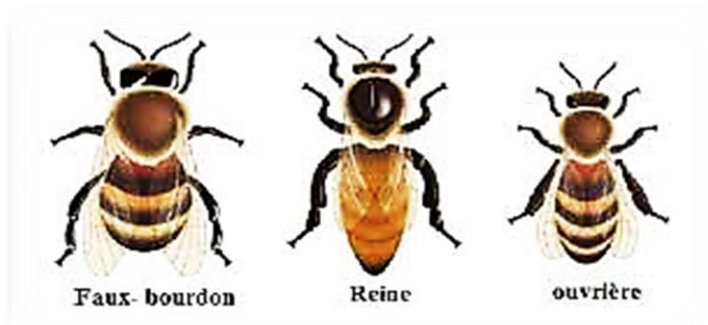


Figure2 : Organisation sociale des abeilles (Adjimis, 2011).

II.3. Classification :

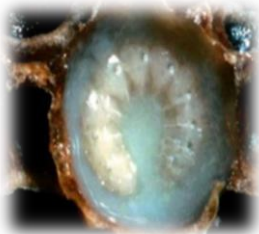



Les abeilles font partie de règne animal

Tableau 1 : Classification systématique de l'abeille (Regard, 1988; Ravazzi, 2003).

<i>Classification</i>	<i>Taxon</i>
<i>Règne</i>	<i>Animalia</i> Les abeilles font partie du règne animal.
<i>Sous- Règne</i>	<i>Metazoa</i>
<i>Embranchement</i>	<i>Arthropoda</i>
<i>Sous-Embranchement</i>	<i>Mandibules</i>
<i>Super-Classe</i>	<i>Hexpoda</i>
<i>Classe</i>	<i>Insecta</i> (Plus de 800 000 espèces différentes). La classe des insectes se subdivise en 32 ordres
<i>Sous-Classe</i>	<i>Pterygotes</i>
<i>Ordre</i>	<i>Hyménoptera</i> Apocrites (abdomen réuni aux thorax par un pédoncule) Aculéates (abdomen terminé par un dard ou un aiguillon)
<i>Sous-Ordre</i>	<i>Apocrita</i>
<i>Super-Famille</i>	<i>Apoïdea</i> Abeilles diverses (20 000 espèces)
<i>Famille</i>	<i>Apidae</i> abeilles sociales ou solitaires (langue longue-nidification variable)
<i>Sous -Famille</i>	<i>Apinae</i>
<i>Tribu</i>	<i>Apini</i>
<i>Genre</i>	<i>Apis</i> (abeilles sociales se multiplie par essaimage)
<i>Espèce</i>	<i>Apis mellifera</i> L. (abeilles domestique)
<i>Sous- Espèce</i>	<i>Mellifera</i> <i>Carnica</i> <i>Caucasica</i> <i>Ligustica</i>
<i>Race</i>	<i>Intermissa</i>

II.4 Les produits de la ruche:

Tableau 2. Les produits de la ruche(Bahloul et Meziani, 2017)

Produits	Composition	
Gelée royale	<ul style="list-style-type: none"> • Eau 66% • Lipides 4,5% • Divers 2 % • Sels minéraux • Vitamines • Glucides 14,5% • Protides 13% 	
Pollen	<p>La composition de pollen varie fortement en fonction de l'origine</p> <ul style="list-style-type: none"> • Florale: • Glucide 27% • Protéines 23,7% • Eau 18,5% • Substances cellulosiques 18% • Minéraux 5 % • Lipides 4,8% • Enzymes • Divers 	
Propolis	<ul style="list-style-type: none"> • Résines et baumes 55% • Huiles essentielles • Cire • Pollen • Divers • Acides aminées • Vitamines 	
Cire	<ul style="list-style-type: none"> • Glucides 14% • Diester 14% • Esters acides 2% • Acides libres 12% • Non identifiés 6% • Mono esters 35% • Triesters 3% • Polyesters acides 2% • Alcools libres 1% 	
Venin	<ul style="list-style-type: none"> • Eau 85 % • Protéines et peptides 7% • Composants volatils 3% • Composés non aminés 3% 	

III GENERALITE SUR LE MIEL :

III .1 Le miel :

III .1. 1 Définition de miel :

C'est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles (*Apis mellifère*) à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivante de plante ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques propres qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche (**Codex, 2001**). Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée (**Donadieu, 2003**).

Sa composition est complexe, mais peut être décrite chimiquement comme étant un mélange de sucres divers, essentiellement du fructose et du glucose (70-80 %), d'eau (10-20 %) et environ de 2 % de composés mineurs dont les acides, les flavonoïdes, les minéraux, les acides aminés, les protéines, les pigments et les éléments figurés (grains de pollen, spores diverses, levures), la fraction volatile responsable de l'arôme, etc.

III.1.2 Origine du miel

Le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles. La sève élaborée est la matière première du miel. Elle est extraite des vaisseaux du liber qui la contiennent de deux manières :

- Par des nectaires élaborant le nectar.
- Par des insectes piqueurs et suceurs, pucerons principalement, rejetant du miellat.

Il existe deux types de miel, miels de miellat et du nectar. Leur composition chimique diffère selon plusieurs paramètres (pH, teneur en minéraux, profil des glucides...) (**Codex Alimentaires, 2001**). Sous forme de nectar, soit sous forme de miellat.

❖ L'origine directe « le nectar »

Le nectar, exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % de sucres les plus courants étant le saccharose, le glucose et le fructose. Les proportions de chacun d'entre eux sont relativement stables pour une même espèce végétale. Le nectar contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc...), des protéines notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine sérine, tyrosine, etc...), et des composés inorganiques (comme les phosphates) (**Rossant, 2011**). Dans certains nectars peuvent se retrouver des composés huileux, des alcaloïdes ou des substances bactéricides. Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui confèrent au miel sa saveur et son parfum. Ce nectar est produit par des glandes nectarifères ou nectaires et sa quantité dépend de plusieurs facteurs dont la structure des inflorescences, la durée de floraison, l'humidité de l'air et le moment de prise du nectar dans la journée (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

❖ **L'origine indirecte « miellat »**

Le miellat est un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons) (**Bonté et Desmoulière, 2013**). Ces insectes, munis d'un appareil buccal piqueur-suceur, prélèvent la lymphe végétale dont ils se nourrissent en perforant la plante qui les abrite. Il est plus dense que le nectar, couleur ambre foncé, son goût est agréable, plus riche en azote, en acides organiques, en minéraux et sucres complexes (**Biri, 2011**). Il est récolté par les abeilles **Figure (2)**. En complément ou en remplacement du nectar, il est moins humide que le miel de nectar. La récolte du miellat par les abeilles est très aléatoire, se réalisant essentiellement sur les arbres forestiers ou d'ornementation comme le sapin, l'épicéa, le pin sylvestre, le tilleul et le chêne (**Bonté et Desmoulière, 2013**).

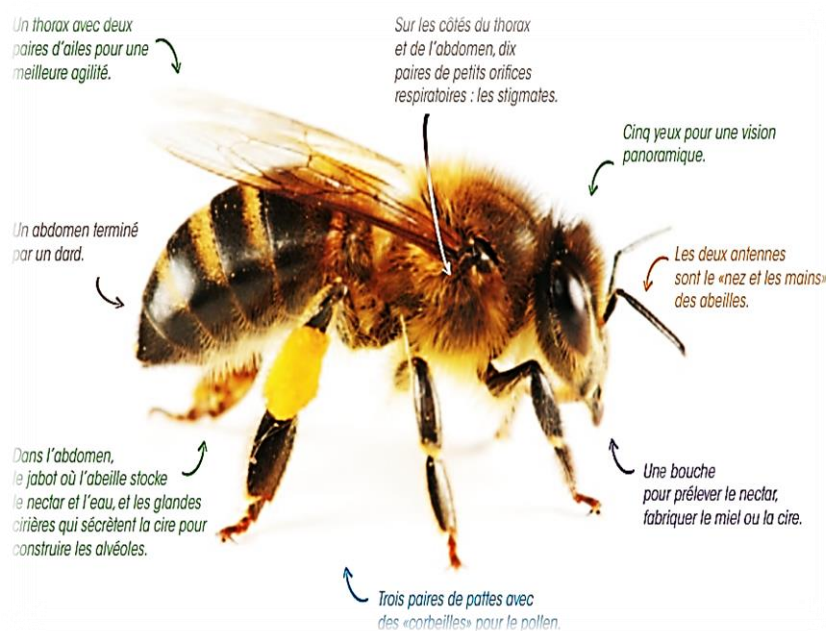


Figure 03 : Aspect morphologique d'une ouvrière

❖ Autres origines du miel

Il existe aussi du « miel de sucre »; miel produit par des abeilles nourries à l'aide de Sucre (Apfelbaumet *al.*, 2004), et quelquefois fruits, cannes à sucre, etc. (Schweitzer, 2004).

III 1.3. Les types des miels

Il existe nombreuses variétés de miel qui peuvent être classées de façon diverses : Le miel varie selon l'origine florale .En fonction de l'origine sécrétoire : miel de nectar et le miel de miellat. Les miels mono floraux et les miels multi floraux (Amirat, 2014) Il existe deux catégories de miels : les miels mono floraux et les miels poly floraux. Les miels dits « **monofloraux** » sont élaborés à partir d'une seule espèce végétale, qu'il s'agisse de miel de nectar ou de miellat. Ils sont relativement difficiles à obtenir car pour que les abeilles s'intéressent à une variété en particulier, il faut que sa floraison soit abondante et Localisée sur une étendue suffisante. Pour qu'un miel soit considéré comme mono- floral, il doit être composé à 80 % d'une même espèce végétale. Afin d'obtenir ce résultat, les ruches doivent être placées près de l'espèce végétale considérée, au cours de sa floraison, et la récolte doit avoir lieu dès la fin de la miellée. Toutefois, le butinage n'étant pas une science exacte, seule une analyse en laboratoire peut certifier le caractère mono-floral d'un miel. Les miels mono floraux

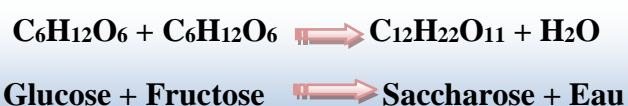
que l'on trouve le plus couramment sont les miels de colza et de tournesol, qui représentent près de la moitié de la production française globale.

Parmi les grands crus reconnus et appréciés, on trouve le miel d'acacia, de lavande, de romarin, de tilleul, de châtaignier, etc. Mais il existe également de nombreux crus, plus rares, généralement élaborés sur des territoires restreints et commercialisés directement par l'apiculteur. On peut citer notamment le miel de framboisier, de rhododendron ou de serpolet, récoltés dans les massifs montagneux (Alpes, Pyrénées, Massif central). (Cécile Breffort , 2013)

Les miels «**polyfloraux** », comme leur nom l'indique, sont issus de plusieurs espèces végétales différentes, ils sont donc, en règle générale, désignés soit par leur origine géographique (région, massif, etc.) : « Miel de haute montagne », « Miel de Normandie » ; soit par un type de paysage floral : « Miel de garrigue », « Miel de forêt », « Miel de maquis ». On trouve également les appellations « Miel toutes fleurs » ou « Miel de printemps », qui se composent, le plus souvent, de colza mélangé à d'autres types floraux. L'origine florale d'un miel est importante car elle détermine les propriétés organoleptiques de celui-ci (couleur, goût, texture). Par exemple, le miel de colza est plutôt de couleur claire (jaune très pâle, voire blanc) et a tendance à cristalliser très rapidement

III.1.4 Formation du miel

Le miel est le produit que les abeilles domestiques élaborent à partir du nectar des fleurs, en le combinant avec des substances spécifiques et en l'entreposant dans les alvéoles des rayons où il parviendra à maturité (Ravazzi, 2007). Le processus de transformation du nectar en miel débute tout de suite après que l'abeille butineuse l'a récolté et emmagasiné dans son jabot en y ajoutant de la salive contenant une enzyme (gluco-invertase) qui transforme le saccharose en deux molécules de sucres simples : le glucose et le fructose (Donadieu, 2003). La transformation s'exprime par l'équation suivante:



Une fois de retour dans la ruche, elle le passe, après une première transformation sommaire due au fait même de l'avoir ingéré, aux abeilles qui se trouvent près de l'entrée, puis elle repart butiner. L'abeille qui, dans la ruche, a reçu le nectar entame le véritable processus de conversion : elle allonge sa trompe et régurgite une petite goutte du liquide qu'elle a stocké dans son jabot, en la laissant s'écouler le long de sa langue. De cette manière, la surface d'évaporation augmente et le liquide (qui n'est plus du nectar mais pas encore du miel) perd une partie de son humidité. Plusieurs abeilles accomplissent cette opération qui, pour chaque gouttelette, dure quelques minutes. Plus le nectar de départ sera riche en eau, plus il demandera de travail pour devenir du miel. À chaque passage le produit est par ailleurs enrichi d'enzymes sécrétés par les insectes, qui participent à la transformation. La seconde phase du processus se déroule dans les cellules. Le liquide obtenu précédemment, qui revêt désormais presque l'aspect du miel, contient encore trop d'eau : les abeilles ventileuses font donc passer un courant d'air sur le produit emmagasiné dans les alvéoles jusqu'à ce que l'humidité se réduise à un niveau allant de 17 à 19% environ. Dès que le miel est parvenu à maturité, les abeilles scellent les cellules par une couche de cire (opercule) qui l'isole du milieu extérieur en l'empêchant d'absorber la moindre d'humidité et en évitant ainsi tout risque de fermentation (**figure 04**) (**Ravazzi, 2007**).

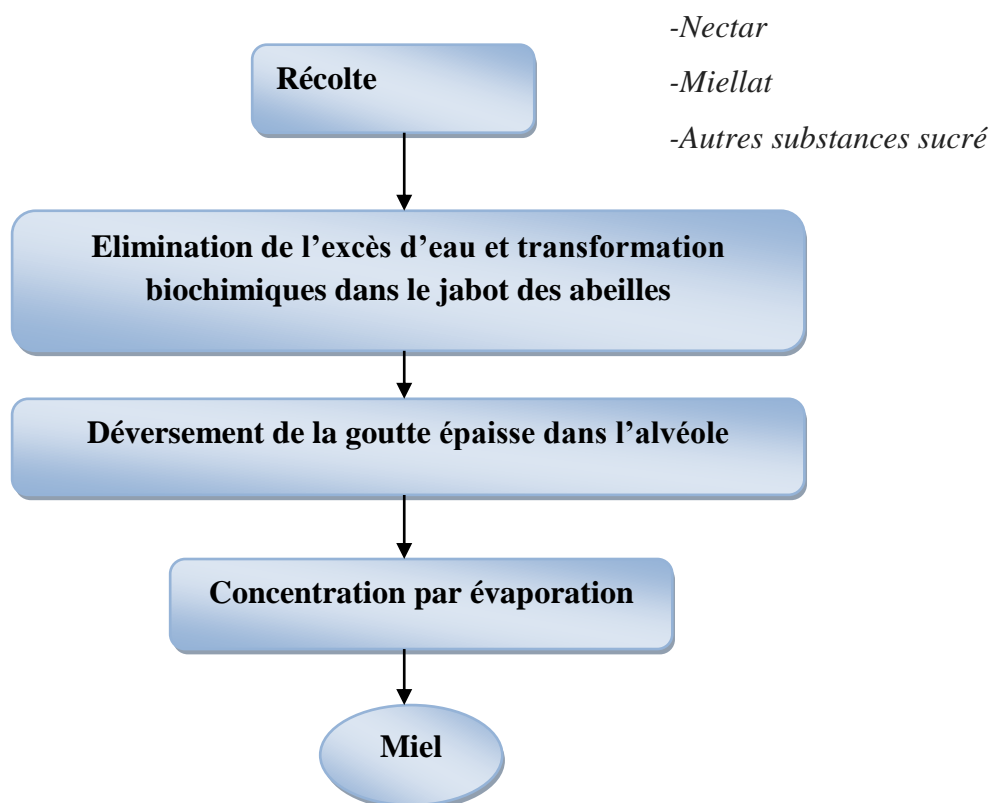


Figure 04: Etapes de formation du miel

III .1.5 Composition du miel :

Composition et valeur thérapeutique du miel La composition du miel dépend de différents facteurs comme les espèces végétales butinées, la race des abeilles, l'état de la colonie, etc. La coloration du miel varie en fonction des espèces végétales visitées par les abeilles et peut aller du blanc au noir, en passant par toutes les tonalités de jaune et d'orangé. « En moyenne, le miel contient, selon (**Gonnet M 1963**) :

- ✚ 17 % d'eau (limite légale de 21 %, sauf exception : miel de callune, 23 %)
- ✚ 31 % de glucose
- ✚ 38 % de lévulose
- ✚ 7,5 % de maltose
- ✚ 1,5 % de saccharose (jusqu'à 10 % et même davantage dans le miel de lavande)
- ✚ Une dizaine d'autres sucres »

On peut toutefois établir la liste des principaux éléments constitutifs de la façon suivante (alexandra Rossant avril 2011) :

1- Eau

La teneur en eau est l'un des critères de pureté, d'intégrité et de stabilité du miel. Elle est en moyenne de 17 à 18 %. Elle influence directement ses propriétés physiques, telles la viscosité et la cristallisation et plus cette teneur est élevée plus y a un risque de fermentation. Elle dépend de plusieurs facteurs tels que les conditions météorologiques lors de la production, l'humidité dans la ruche, ainsi que les conditions de récolte (Bogdanov S, Ruoff, K 2004 et Delphine I, 2010)

2- Sucres

Les hydrates de carbone constituent la partie la plus importante du miel. Ils sont présents en grande quantité (78 à 80%), les principaux sucres sont des monosaccharides dont le glucose et le fructose qui prédominent, la présence de ces derniers est due au résultat d'une enzyme sur le saccharose : l'invertase D'autres sucres peuvent être présents tels que le saccharose, le maltose et leur présence dépend des plantes qui ont été butinées (Delphine. I ,2010)

3- Acides organiques

Le miel contient une vingtaine d'acides organiques qui sont responsables de son acidité, notamment l'acide gluconique avec ses lactones (esters internes) qui représente à lui seul 70 à 90 % de la teneur en acides organiques. Il est produit à partir du D-glucose dans une réaction catalysée par l'enzyme connue sous le nom de glucose oxydase. On retrouve aussi d'autres acides tels que : l'acide lactique, l'acide acétique, l'acide oxalique, l'acide citrique, l'acide butyrique et l'acide succinique. On peut aussi retrouver de l'acide chlorhydrique, phosphorique et formique à l'état de traces (Moreira RF, De Maria CA, 2007)

.4- Sels minéraux et oligoéléments

Le miel apporte une trentaine d'oligo-éléments qui sont indispensables à la santé humaine. Le potassium est majoritairement présent, mais on retrouve également du phosphore, du calcium, du soufre, magnésium, cuivre, manganèse, fer, silicium, zinc, bore et baryum plus ou moins en grandes quantités. La teneur en minéraux peut varier

de 0,02 à 1,03 %, cette variation dépend de l'origine botanique et géographique du miel. Les miels de miellats et de coloration foncée contiennent en général plus de minéraux (**Hamoutene H, Achit A.2018**)

5- Protéines

Le miel est une substance assez pauvre en protides avec un taux de 0,26%. Il s'agit essentiellement de peptones, d'albumines, de globulines et de quelques acides aminés tels que la proline, la trypsine, l'histidine et l'alanine à l'état de traces qui proviennent de la plante ou des sécrétions de l'abeille.

6- Les enzymes

Le miel contient un certain nombre d'enzymes, y compris la glucose oxydase, l'amylase et l'invertase, leur présence dans le miel paraissant provenir des abeilles productrices du miel. La catalase et l'acide phosphatase ont également été trouvés dans certains miels, ces plus probable étant dérivé du pollen et du nectar de certaines plantes. Parmi ces enzymes, la glucose oxydase semble être d'une importance particulière car il est responsable de production d'acide gluconique et de peroxyde d'hydrogène. Ce dernier étant l'un des facteurs clés impliqués dans l'activité antibactérienne du miel (**Molan, 1996**).

7- Les vitamines

Le miel contient une quantité infime de vitamines, probablement issues des quelques grains de pollen qu'il renferme. Le miel de menthe (*Menthaaquatica*) a la particularité de contenir de la vitamine C (ou acide ascorbique).(**Laudine, 2010**)

8- Les substances

Aromatiques Les substances aromatiques sont, comme leur nom l'indique, à l'origine de l'arôme du miel. Seules quelques-unes ont été identifiées, notamment l'anthranilate de méthyle, le d'acétyl, le formaldéhyde, l'acétaldéhyde et l'acétone. (**Laudien, 2010**)

9- Les pigments

Certains appartiennent au groupe des caroténoïdes et des xanthophylles ; d'autres aux poly phénols (flavonoïdes) (**Clémentet al, 2000**). **Laudine(2010)** signale que les substances phénoliques interviennent sur la couleur du miel : la couleur jaune, par exemple, est liée aux flavonoïdes.

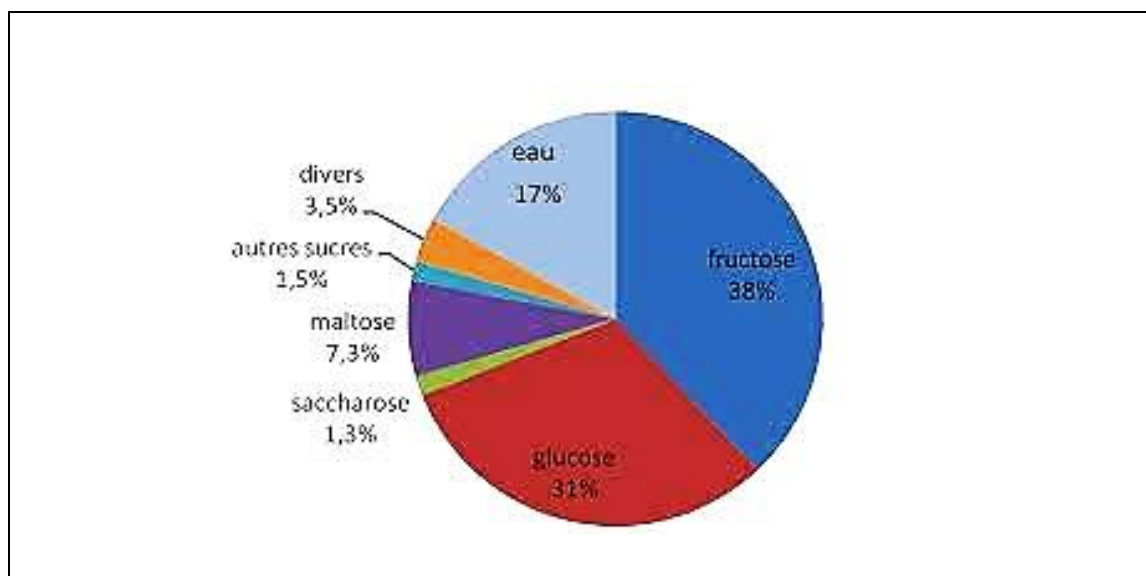


Figure 05 : la composition du miel

IV LA CARACTERISTIQUE DU MIEL

autres mais caractères sont importants pour bien différencier les miels les uns des Ces .(Blanc, 2010) également pour évaluer la qualité de ceux –ci

IV.1 La caractéristique organoleptique

A. La cristallisation

La cristallisation des miels est un phénomène très important car c'est de lui que dépend .en partie la qualité du miel

cependant sont parfaitement fluides au moment de leur extraction, ils ne restent S'ils solutions sursaturées de pas dans cet état de façon indéfinie. Ils constituent des ils sont rapidement le siège de ; différents sucres et de ce fait sont instables intéressent surtout le glucose, moins soluble que le cristallisations fractionnées qui .lévulose

fonction de la vitesse de cristallisation des miels est très variable. Elle est en La température de conservation composition en sucres, de la teneur en eau, et de la .(CHAUVIN, 1986)

B. La texture

malléable, miel peut prendre plusieurs formes, cristallisé fin ou grossier, dur ou Le moment de son extraction, le pâteux ou liquide. Si le miel est complètement liquide au état. La vitesse de cristallisation varie en miel ne reste pas indéfiniment dans cet en sucre, de la teneur en eau et de la température de fonction de la composition .stockage

C:La couleur

Elle varie de blanc ou de nuance très claire à brun sombre selon l'origine du .produit

Luzerne , , - acacia - Robinia pseudoacacia >> miels français de robinier ou Les et blancs lorsqu'ils romarin, rhododendron , la Vande...sont clairs à l'état liquide de bruyère, de callune ,d'eucalyptus ,sont cristallisés ;ceux de fenouil ,de bourdaine au contraire ,foncé avec des reflet variés , , d'arbousier et de miellats sont sapin);celui de sarrasin est presque noir. Certains miels (verdâtres dans le miel de miel de tournesol), d'autres, au contraire, le sont peu (miel de) sont lumineux .(10) (colza

pauvres en variabilité de la couleur du miel est grande puisque les miels les plus La de miels très clairs; les s'agit matières minérales contiennent 0.02% de cendre. Il .(BONIMOND., 1983) .plus foncés étant les plus minéralisés

D. Odeur et gout

L'arome, le gout du miel dépendent des .(Blanc ,2010) L'odeur du miel est variable récolté le nectar. Par exemple, le trèfle donne un miel plantes ou les abeilles ont .sucré et blanc

minéraux miel foncé a généralement un gout plus prononcé et sa teneur en sels Le .(Bradbear, 2005) est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate

IV.2 Les caractéristiques physico-chimiques

déterminer, car propriétés physico-chimiques sont des critères très important à Les stabilité ainsi que l'origine florale elles sont essentielles pour connaître la qualité, la .d'un miel

IV.2.1 La viscosité

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, s

par ailleurs, ; composition chimique et la température à la quelle il est conservé a partie sous l'influence de les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en composition chimique), entraînant alors ,certains facteurs (température, agitation aspect mais sans rien changer à sa composition une modification complète de son .(Donadieu, 2008)

IV.2.2 La solubilité

Selon PROST, (2005), le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué, mais .fort, l'éther, le chloroforme et le benzène l'alcool insoluble dans

IV.2.3 L'humidité:

La teneur en humidité du miel d'abeille représente une grande importance à sa stabilité contre la fermentation. les réglementations internationales CEU (Council of Européen Union),TSE (Turkish standard Institute) et AFNOR fixe cette valeur en une fourchette de 15à 20 % (sib,2007).

IV.2.4: L'indice de réfraction

c°. Il est 20 oscille entre 1,47 et 1,50 suivant sa teneur en eau à la température de Il .(www.01santé.com) souvent utilisé pour déterminer la teneur en eau

IV.2.5: La conductivité

d'acidité conductivité électrique dépend fortement de la présence de minéraux et La botanique du miel () car un dans un miel. Ce paramètre permet d'identifier l'origine conductivité électrique est inférieure à miel de nectar possède généralement une .miel de miellat est supérieure à $0,8\text{mS}\backslash\text{cm}$ $0.8\text{mS}\backslash\text{cm}$, tandis que celle d'un

IV.2.6 PH

ph ou potentiel d'hydrogéné ou indice de Sorensen est défini comme le Le est un ,cologarithme de concentration en ions H dans une solution. Pour le miel **Vanhanen et al. 2011 Louveaux.)** du produit >> réactivité acide >> indice de la **.(1985**

dans les miels PH du miel varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 Le **GONNET et)** (5,3 de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin =max **.(VACHE ,1985**

IV.3 Caractéristiques nutritionnelle

Le miel est apprécié partout comme aliment sucré et au goût agréable. En temps de pénurie alimentaire, c'est une source précieuse de glucides qui contient des oligo-éléments et apporte une diversité nutritionnelle dans les régimes alimentaires trop pauvres. Le miel occupe souvent une place importante dans la préparation des plats traditionnels **(Bradbear, 2005)**. De plus, il peut prétendre à de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques **(Blanc, 2010)**

Si sa composition précise peut varier en fonction de son origine florale, le miel reste un produit riche en nutriments. Il contient :

- Des glucides qui représentent 95 à 99% de la matière sèche. La plupart sont des sucres simples dont le fructose (environ 40% de la matière sèche) et le glucose (environ 30 à 40% de la matière sèche).
- Des acides aminés.

- Des vitamines et minéraux : vitamine C, vitamine B, potassium, calcium, cuivre, fer, zinc, manganèse, phosphore (Tomczak, 2010).

V .ACTIVITE ANTIMICROBIENNES ET MECANISMES

V.1.Les propriétés antimicrobiennes du miel .

B-Rappel sur les microorganismes

Les microorganismes constituent un groupe extrêmement diversifié d'organismes microscopiques répartis dans les trois domaines du vivant (bactérie, archées et eucaryote). Ils se distinguent les uns des autres par leur forme, leur taille et leur mode de vie (Tomczak C, 2010). Les micro-organismes pathogènes comprennent les bactéries, les champignons et les parasites. Les virus sont quant à eux sujets à controverse puisque certains auteurs ne les considèrent pas comme vivants du fait qu'ils soient incapables de se reproduire sans infecter un hôte cellulaire (Drouet E, 2012). Les bactéries sont des organismes unicellulaires procaryotes, de petite taille (0,2 -10 um), de morphologie variable (coques, bacilles, coccobacilles) et ne présentant pas d'organites intracellulaires complexes contrairement aux cellules eucaryotes. Ils sont généralement classés selon la structure de leur paroi en Gram+ et Gram- (Katz A.al, 2003). Les champignons, mycètes ou fungi sont des organismes vivants végétatifs, eucaryotes, à paroi cellulaire formée principalement de chitine ou de glucanes, hétérotrophes, absorbotrophes, produisant des spores et pouvant présenter une reproduction sexuée, asexuée ou parasexuée. Ils sont très répandus et possèdent des rôles écologiques importants et diversifiés (Katz A.al, 2007). Il existe trois grands groupes de champignons impliqués en pathologie humaine et dont l'étude constitue la mycologie médicale : les champignons levriformes, les champignons filamenteux et les champignons dimorphiques, au quels s'ajoute une espèce *Pneumocystis jirovecii* longtemps considérée comme un parasite avant d'être reclassée dans le règne des champignons (El Hassani N, 2013) Un parasite est un être vivant qui, de façon temporaire ou permanente, vit aux dépens d'un autre organisme vivant constituant son hôte sans forcément provoquer de conséquences néfastes chez ce dernier (Bastien P, 2011).

Il existe deux grands groupes de parasites pouvant causer des pathologies chez l'homme : les protozoaires et les helminthes (**Paniker CJ, al, 2017**). Les virus sont des agents infectieux intracellulaires composés d'acide nucléique et de protéines et ne possédant pas leur propre métabolisme. Ils doivent de ce fait, pour se multiplier, infecter des cellules et détourner leur machinerie afin de synthétiser leurs protéines virales (**Virology, 2019**).

B. Rappel sur les infections

L'infection est le processus durant lequel un agent pathogène pénètre dans l'organisme, s'y multiplie et cause des lésions provoquant l'apparition de signes cliniques. On parle alors de maladie infectieuse (**Sastry AS, 2018**).

Lors d'une infection l'organisme met en jeu des moyens de défense qui permettent de limiter ses conséquences et à terme d'éliminer l'agent pathogène responsable. Ces moyens de défense constituent le système immunitaire qui peut être divisé en deux types : l'immunité innée et l'immunité acquise (**Bhat S, 2017**).

Le système immunitaire inné constitue la réponse immédiate mais peu spécifique du corps à une agression. Il est constitué des barrières anatomophysiologiques, d'une composante cellulaire et d'une composante humorale (**Broidé DH, 2010**).

L'immunité adaptative constitue la réponse tardive mais spécifique de l'organisme à l'infection et permet le développement d'anticorps spécifiques et d'une mémoire contre l'agent pathogène pour obtenir une réaction beaucoup plus rapide lors d'une exposition ultérieure. Les cellules impliquées dans cette réponse sont les lymphocytes B et les lymphocytes T précédemment activés par les cellules présentatrices d'antigènes (principalement les cellules dendritiques) qui constituent l'interface entre les immunités innées et adaptatives (**Broidé DH, 2010**). Lorsque le système immunitaire est dépassé et qu'il n'arrive pas à éliminer l'agent pathogène, l'instauration d'un traitement est nécessaire afin de préserver l'intégrité des fonctions de l'organisme et le cas échéant éviter des complications pouvant aller jusqu'à la mort. Les molécules médicamenteuses utilisées pour le traitement des infections sont capables de tuer ou d'inhiber la multiplication des micro-organismes et peuvent être classées selon leur cible en antibiotiques (contre les infections bactériennes), antifongiques (contre les infections fongiques),

antiviraux (contre les infections virales) et les antiparasitaires (contre les infections parasitaires (**Limited, 2018**)).

Malheureusement, l'apparition de résistances bactériennes et l'émergence de bactéries multi résistantes constituant une véritable impasse thérapeutique a des conséquences sanitaires et financières considérables qui font de la lutte contre la résistance bactérienne un enjeu important au 21ème siècle (**Webber MA, 2015**).

V.1.1. l'activité antibactérienne

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. La puissante activité in vitro du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatique du miel. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel et ses vertus curatives constituent partiellement une énigme. Cependant, six facteurs principaux sont décrits comme étant impliqués dans ce pouvoir bactéricide (**Molan P.C, 2002**).

V.1.2.L'activité antifongique

Le principe, le protocole et l'interprétation des résultats des méthodes pour déterminer l'activité antibactérienne et l'activité antifongique sont identiques. Les seules différences sont :

- Le milieu de culture utilisé est la gélose Sabouraud.
- L'incubation se fait dans une étuve à 32 °C pendant 48 à 72h.
- L'antifongique de référence est la Terbinafine 250mg (**Lamidaz**).

A. Activité sur mycoses cutanées

AI Waili (2004 a) a mené l'essai clinique suivant: pendant un mois, des patients atteints de mycoses dermiques, dues notamment à Pytiriasis versicolor et à

Epidermophyton inguinale, ont été traités trois fois par jour avec une mixture composée à parts égales de miel, d'huile d'olive et de cire d'abeille.

Il a obtenu des réponses cliniques dans 86% des cas pour les patients atteints par Pytiriasis versicolor, et dans 79% des cas chez ceux touchés par Epidermophyton inguinale.

Une guérison complète a été observée dans 79% des cas pour Pytiriasis versicolore et dans 71% des cas pour Epidermophyton inguinale.

B. Mycoses vaginales

Une autre publication scientifique (**Obaseiki- Ebor et Afonya ,1984**) rapporte que le miel a une efficacité comparable aux antifongiques classiques sur des candidoses vaginales provoquées par *Candida albicans*.

Il faut souligner que pour traiter des mycoses, les concentrations en miel sont plus élevées que pour obtenir un effet antibactérien.

V.1.3 Mécanisme antimicrobienne .

Une action antimicrobienne, qu'elle soit antibactérienne, antivirale, antifongique ou antiparasitaire, a été décrite pour le miel et le pollen et ce depuis très longtemps.

Des études cliniques ont démontré que l'application de miel sur des plaies cutanées infectées permet de lutter contre l'infection et une régénération tissulaire plus rapide. Cette activité est attribuée à l'acidité du miel, sa grande concentration en sucres, un effet osmotique, la présence de composants bactériostatiques et bactéricides (peroxyde d'hydrogène, polyphénols, acides phénoliques, flavonoïdes, antioxydants, lysozyme, ...), l'augmentation de la sécrétion de cytokines, un effet immuno modulateur et ses propriétés anti-inflammatoires (**Israili ZH ,2014**).

Plus récemment, le méthylglyoxal et la défensine-1 ont été identifiés dans le miel comme des agents antibactériens et de plus en plus d'indications vont dans le sens de la présence d'autres molécules antibactériennes dans le miel qui restent à identifier (**Kwakman PH ,2012**)

La composition importante du pollen et de ses extraits en composés phénoliques explique son activité antibactérienne. Néanmoins la concentration de ces composés importerait moins que leur nature dans la mesure où des extraits de rendement phénolique faible peuvent présenter des activités élevées selon l'origine botanique du pollen (**Dezmirean DS, 2015**).

A -L'osmolarité

La faible concentration hydrique inhibe la croissance bactérienne et la forte teneur en sucres (solution hypertonique) provoque une déshydratation osmotique, ce qui laisse très peu de molécules d'eau disponibles pour les micro-organismes. Certaines levures peuvent cependant se développer dans les miels ayant une teneur élevée en eau, et provoquer la fermentation de ces miels mais généralement l'activité hydrique du miel est trop basse pour permettre la croissance de micro-organismes.

B- Le peroxyde d'hydrogène :

La production de peroxyde d'hydrogène et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose par la glucose oxydase. Le peroxyde d'hydrogène est connu comme ayant une très bonne action sur les plaies Cette production d'eau oxygénée est influencée par la chaleur et la lumière, la glucose oxydase étant thermolabile et photolabile. Le peroxyde d'hydrogène n'est pas antibactérien en lui-même. L'action antibactérienne est due aux radicaux hydroxyles libres générés par l'action catalytique d'ions métalliques provenant des cellules bactériennes. Des recherches sur diverses lignées cellulaires en culture montrent que le peroxyde d'hydrogène possède d'autres rôles dans la cicatrisation séparément de son action antibactérienne, dont celui de messenger cellulaire . Comme vu précédemment, la catalase représente l'antagoniste de la glucose-oxydase, et réduit l'eau oxygénée. La concentration en peroxyde dépend donc directement de l'activité de ces deux enzymes. Le peroxyde d'hydrogène est un agent antibactérien efficace s'il est présent à des doses suffisamment élevées, mais il peut devenir toxique et altérer les protéines et les cellules dans les tissus en libérant des radicaux oxygénés, ce qui provoque alors la mort des cellules et la destruction des tissus . Les concentrations de peroxyde d'hydrogène atteintes lors de la dilution du

miel sont de l'ordre d'une milli mole par litre soit environ mille fois moins que les solutions utilisées comme antiseptique. Le peroxyde d'hydrogène est actuellement délaissé parce que certaines bactéries possèdent l'enzyme catalase qui le décompose. La catalase n'étant active qu'avec des hauts niveaux de peroxyde d'hydrogène, la destruction de l'activité antibactérienne du miel demande donc des concentrations en catalase exceptionnellement élevées. Si l'on utilise une solution de peroxyde d'hydrogène comme antiseptique, elle sera loin d'être aussi efficace qu'une libération lente et prolongée obtenue lors de l'application sous forme de miel. La dilution du miel dans les tissus produit une activité antiseptique distribuée lentement et de façon prolongée ayant une action antibactérienne et n'altérant pas les tissus (**Brudzynski, 2006**).

C- Le système non peroxyde :

Il existe d'autres substances antibactériennes hormis le peroxyde d'hydrogène avec différentes origines chimiques comme les acides aromatiques, les flavonoides, et différents composés inconnus. En effet, l'activité antibactérienne n'est pas uniquement corrélée au taux de peroxyde. Les principaux composants ayant une activité non peroxyde sont la pinocembrine (un flavonoïde présent dans le miel et produit par les abeilles), les lysozymes (enzyme bactériostatique présente dans le miel et produite également par les abeilles), et d'autres nombreux composants chimiques comme les terpènes, l'alcool benzénique, l'acide syringique, etc... Ces facteurs sont présents de manière variable selon les plantes butinées qui contiennent différents types de facteurs à activité non peroxyde. Ces facteurs antibactériens sont beaucoup moins sensibles à la lumière, la chaleur et la durée du stockage, contrairement aux composants à activité peroxyde. D'une manière générale, les espèces les plus sensibles au miel sont: le *Streptococcus pyogenes*, le *Staphylococcus aureus* et l'*Escherichia coli*. Les autres espèces telles que *Enterococcus faecalis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Proteus species*, *Clostridium welchii* et *Clostridium tetani* sont également sensibles au miel. *Pseudomonas aeruginosa* n'est en revanche pas inhibé par le miel. Le staphylocoque apparaît particulièrement sensible au miel, y compris en ce qui

concerne les souches résistantes aux antibiotiques.(**Bogdanov ,1987**). La variation de cette activité antibactérienne dépend:

- ✚ De la concentration en miel
- ✚ De son origine florale
- ✚ De son acidité
- ✚ De la quantité de peroxyde d'hydrogène produite
- ✚ De l'action de la catalase
- ✚ De la chaleur qui détruit l'activité du miel (même s'il paraît stable pour des températures inférieures à 40°)
- ✚ De la durée de conservation (qui peut aller jusqu'à 2 ans)
- ✚ De la lumière, et surtout la lumière directe du soleil.

D- Lamethylglyoxal (MGO)

Le Méthylglyoxal ou MGO est la molécule responsable de l'activité antimicrobienne des miels. Et aussi est un agent de protéine-glycérine, elle est trouvée dans les miels médicaux.(**Horn , 1991**)

E- La défensine :

Les défensines sont de petites protéines retrouvées à la fois chez les insectes et les animaux, tout comme chez l'homme. Elles sont impliquées dans la défense immunitaire et servent à combattre les infections. Chez les abeilles, les défensives sécrétées se retrouvent dans le miel, où elles conservent leurs propriétés immunitaires et antibactériennes.

La production de défensine:

Produit par les abeilles à partir du nectar des fleurs qu'elles butinent, le miel possède des propriétés curatives que les Grecs et les Romains utilisaient pour soigner les blessures, infections et problèmes digestifs. Malgré des recherches scientifiques qui ont pu montrer que le miel possédait effectivement des propriétés antibiotiques, ce n'est qu'en 2010 que son mécanisme d'action a été élucidé.

VI .Les effect thérapeutique du miel naturel :

Depuis des siècles, les médecins utilisent le miel comme un remède naturel à de nombreux maux. Il y a des propriétés principales et autres utilisations.

VI .1 .Les propriétés principales :**VI.1.1 Propriétés anti-infectieuses et antibiotiques :**

Le miel est connu depuis l'Antiquité pour ses propriétés anti-infectieuses : le miel empêche la prolifération bactérienne, virale ou fongique grâce à une enzyme, la glucose oxydase, produisant du peroxyde d'hydrogène (comme dans l'eau oxygénée) qui est un antiseptique naturel. De plus, il a une faible concentration en protéines ce qui empêche les bactéries de se développer. Enfin, son acidité entrave la multiplication des bactéries, complétant son action antibactérienne. Il peut être utilisé dans cet objectif aussi bien au niveau cutané qu'en ingestion pour la sphère respiratoire ou digestive.

VI .1.2 Propriétés cicatrisantes :

Souvent employé comme antiseptique pour soigner les plaies, le miel possède également des propriétés cicatrisantes qui justifient à nouveau son utilisation cutanée. Il empêche alors le développement des bactéries et régénère le tissu cutané afin d'avoir une bonne cicatrisation. Cette action est due à sa forte osmolarité, qui fait que le miel attire l'eau, draine la lymphe et le plasma vers l'extérieur, ce qui élimine les débris et nettoie la plaie. Le miel est donc un antiseptique et antibactérien très reconnu, qui aide à la cicatrisation des plaies.

VI .1.3 Propriétés antioxydants :

Grâce à la présence de nombreux flavonoïdes, le miel a un important pouvoir antioxydant, car ces derniers neutralisent les radicaux libres, ayant ainsi un effet bénéfique dans la prévention de certains cancers ou certaines maladies cardiovasculaires. On peut également noter ici que le miel « foncé », plus riche en flavonoïdes et en fructose, serait plus efficace pour ces propriétés thérapeutiques.

VI .1.4 Propriétés énergétiques et tonifiantes :

Le miel est un tonique général de l'organisme qui renforce notamment les défenses immunitaires. Il permet donc de mieux résister aux infections microbiennes et

constitue un allié de choix lorsque vous vous sentez fatigué et patraque. De plus, comme il est plein de sucre, le miel est une très bonne source énergétique qui peut vous redonner un coup de fouet quand vous en avez besoin. Attention tout de même si vous êtes diabétique ou que vous surveillez votre ligne, car le miel a un pouvoir sucrant supérieur au sucre et est très calorique. De même, il a un pouvoir cariogène important, et tous ces glucides ne font pas forcément bon ménage avec les dents!

VI .1.5 Propriétés sédatives et calmantes :

Le miel permet la libération de sérotonine, un neurotransmetteur qui va favoriser le sommeil. Donc, plutôt que d'ajouter un morceau de sucre dans votre tisane du soir, diluez une cuillère de miel afin de passer une bonne nuit calme et apaisée!

VI .1.6 Propriétés respiratoires :

Contre la toux ou les maux de gorge, le miel va apporter un effet immédiat et durable d'apaisement. Grâce à ses propriétés antiseptiques et anti-inflammatoires, il est efficace pour calmer les symptômes du rhume et apaiser votre appareil respiratoire. Il calmera les irritations respiratoires et permettra de diminuer l'adhérence des bactéries à la paroi respiratoire, empêchant ainsi leur prolifération

VI .1.7 Propriétés digestives :

Le miel agit directement sur la sphère digestive, et est efficace pour traiter les infections de l'estomac et de l'intestin, diminuer les inflammations ou ulcères gastriques, ainsi que les constipations passagères. Grâce à ses enzymes "diastases", il aide à la digestion et stimule l'estomac. Enfin, il possède un léger pouvoir laxatif (variable selon le miel) et limite la fermentation intestinale.

VI .1.8 Propriétés protectrices cardiovasculaire :

Grâce aux vitamines B, qui sont antioxydants, le miel va limiter l'athérosclérose, ayant une action bénéfique sur le cœur et les vaisseaux sanguins.

Support d'huiles essentielles en ingestion :

C'est une chose à laquelle on ne pense pas forcément de prime abord, mais qui peut être bien utile : et oui, le miel est une très bonne solution pour diluer les huiles essentielles et servir de support à leur ingestion. De plus, si les mélanges sont réalisés en grande quantité pour une utilisation à long terme, on peut parler dans ce cas

d'aromiels, qui sont donc des associations entre miel et huile(s) essentielle(s) (en quantité inférieure à 1%).

VI .1.9 Propriétés gustatives :

Si le miel est aussi renommé, c'est avant tout pour son utilisation en cuisine! Que ce soit pour accompagner des aliments, dans une sauce ou en tartine, ce succulent produit sucré n'est pas en reste, et, il faut bien l'avouer, on aurait tort de s'en priver!

VI .1.10 Propriétés cosmétiques :

Utilisé depuis l'Antiquité dans les soins de beauté, le miel dispose d'un pH proche de celui de la peau (4 à 6), et sa riche composition lui confère en fait un très bon agent hydratant, émollient, adoucissant et tonifiant ! Il nourrit les cellules, favorise leur renouvellement et participe au maintien de la jeunesse de la peau.

- MATERIELS ET METHODES :

I.1 Lieu l'étude :

Ce travail a été effectué pendant une période de deux mois (Avril-May 2022), au sein de deux sites :

- ❖ Le laboratoire de microbiologie et biochimie du département de sciences da la nature et de vie de l'université de 20 Aout 1955 (Skikda). Les analyses polliniques, l'Eude de l'activité antibactérienne du miel par la méthode de CMI dans ce laboratoire.
- ❖ Le laboratoire d'hygiène de la wilaya de Merdj Dib. Nous avons effectué la majorité des paramètres et les analyses.

Laboratoire d'hygiène de la willaya de Merdj Dib, ce laboratoire son activités, toutes activités de contrôles de la qualité et de la conformité des produits et les denrées, son travail est :

- La qualité des produits alimentaires.
- Contrôles sensoriels (ils consistent à vérifier la texture, la saveur, les aromes)
- Contrôles microbiologiques.

L'assurer la sécurité alimentaire : au cours de leur formation nos étudiants développent plusieurs compétences relatives à la qualité.

I.2 échantillonnage

1.2.1. Le miel :

Pour réaliser ce travail qui consiste en l'évaluation de l'effet antibactérien de quatre échantillons de miel naturel, récoltés de trois sites du territoire de Oum Toub (Skikda), il s'agit de,(El Maresa, El Harouch,El Barrage). Les échantillons du miel sont codés: **M1, M2, M3, M4**. Les échantillons de miel proviennent de différentes origines géographiques, cela est illustré dans le **Tableau 3**.

Tableau 3 : l'origine géographique et la date de récolte de quatre échantillon de miel

Code Miel	Origine géographique	La date de récolte
M 1	El Maresa	02 Aout 2021
M 2	El Harouch	28 Juillet 2021
M 3	El Barrage	25 Juillet 2021
M 4	Awelad hebaba	30 Juillet 2021

L'échantillon du miel récolté et conservé dans un flacon en verre stérile, hermétiquement fermé et gardé à la température ambiante, cette technique est utilisée pour les composés sensibles à la chaleur et à la lumière.



Figure 06 : localisation des régions de prélèvement des échantillons

I.2.2 Les Bactéries :

❖ Origine des souches bactériennes utilisées :

Nous avons choisi pour cette étude des souches pathogènes pour l'homme, souvent multi résistantes aux antibiotiques, responsables de plusieurs types d'infections. Les

souches bactériennes testées ont été fournies par le laboratoire hygiène de la wilaya. Il s'agit d'isolats cliniques responsables d'infections urinaires et cutanés. Nous avons retenu les espèces bactériennes suivantes : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*.

Tableau 04: l'origine de l'isolement des souches bactériennes utilisées

Souche bactérienne	Origine d'isolement
<i>Escherichia coli</i>	Urine
<i>Staphylococcus</i>	Pus

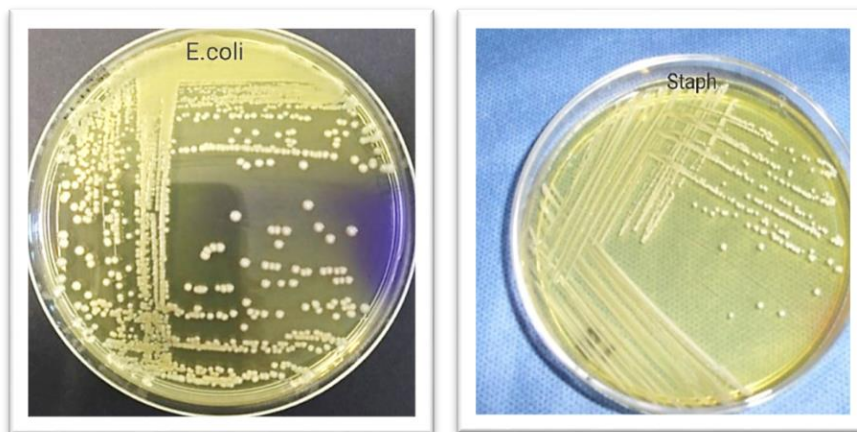


Figure 07 : localisation des régions de prélèvement

I.3_ milieu de culture

❖ **Milieux de culture bactérienne utilisée :**

- A. Le bouillon nutritifs (BN).
- B. Le gélose Muller Hinton (MH).

I.4- étude de la sensibilité des souches bactérienne aux antibiotiques :

La sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques est étudiée par l'antibiogramme. L'antibiogramme est un examen bactériologique permettant de tester sur milieu de culture l'action d'antibiotiques sur une souche bactérienne identifiée (**Rahal 2005**)

❖ **Matériel utilisé :**

- 1) Pipette pasteur stérile
- 2) Un écouvillon stérile
- 3) Léau physiologie stérile
- 4) Gélose Muller Hinton (MH)

- 5) Pince stérile
- 6) Des boîtes de pétri
- 7) Règle
- 8) Des disques antibiotiques

❖ **Mode opératoire :**

A) Milieu :

En coulée le gélose Muller Hinton en boîte de pétri sur épaisseur de 4 mm.

Les géloses sont séchées avant l'emploi (**Rahal, 2005**).

B) Inoculum :

Racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques, sur un milieu d'isolement à partir d'une culture de 24H

C) Ensemencement :

- ✚ Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne.
- ✚ L'essorer en pressant fermement (en le tournant) sur la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum. Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées. Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60 ° à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose, dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de pétri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois. Il est préférable de ne pas mettre plus de disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm de diamètre. Les disques d'antibiotiques doivent être espacés de 24 mm, centre à centre. Les disques sont déposés délicatement sur la surface de la gélose ensemencée à l'aide d'une pince stérile (**RAHAL, 2005**)

D) -incubation :

Les boîtes sont en suites incubées à 37°C pendant 24h.

E) -Lecture :

L'activité de l'antibiotique est appréciée par le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque. Les diamètres de différentes zones d'inhibition en millimètre sont mesurés à l'aide d'une règle (**Rahal,2005**).

Tableau 05: les Antibiotiques utilisées dans l’antibiogramme

Les Antibiotiques utilisées	Abréviation	Les antibiotiques utilisent	Abréviation
Ticarcilline 75	(TIC)	Colistine	(CL)
Piperacilline	(PI)	Imipenem	(IMI)
Amikacine	(AK)	Tobramycin	(TOB)
Cipofloxacin	(CIP)	Fosfomycine	(FOS)
Cefotaxine	(CTX)	Amoxicilline	(AML)
Ampicilline	(AMP)	Pénicilline	(PEN)

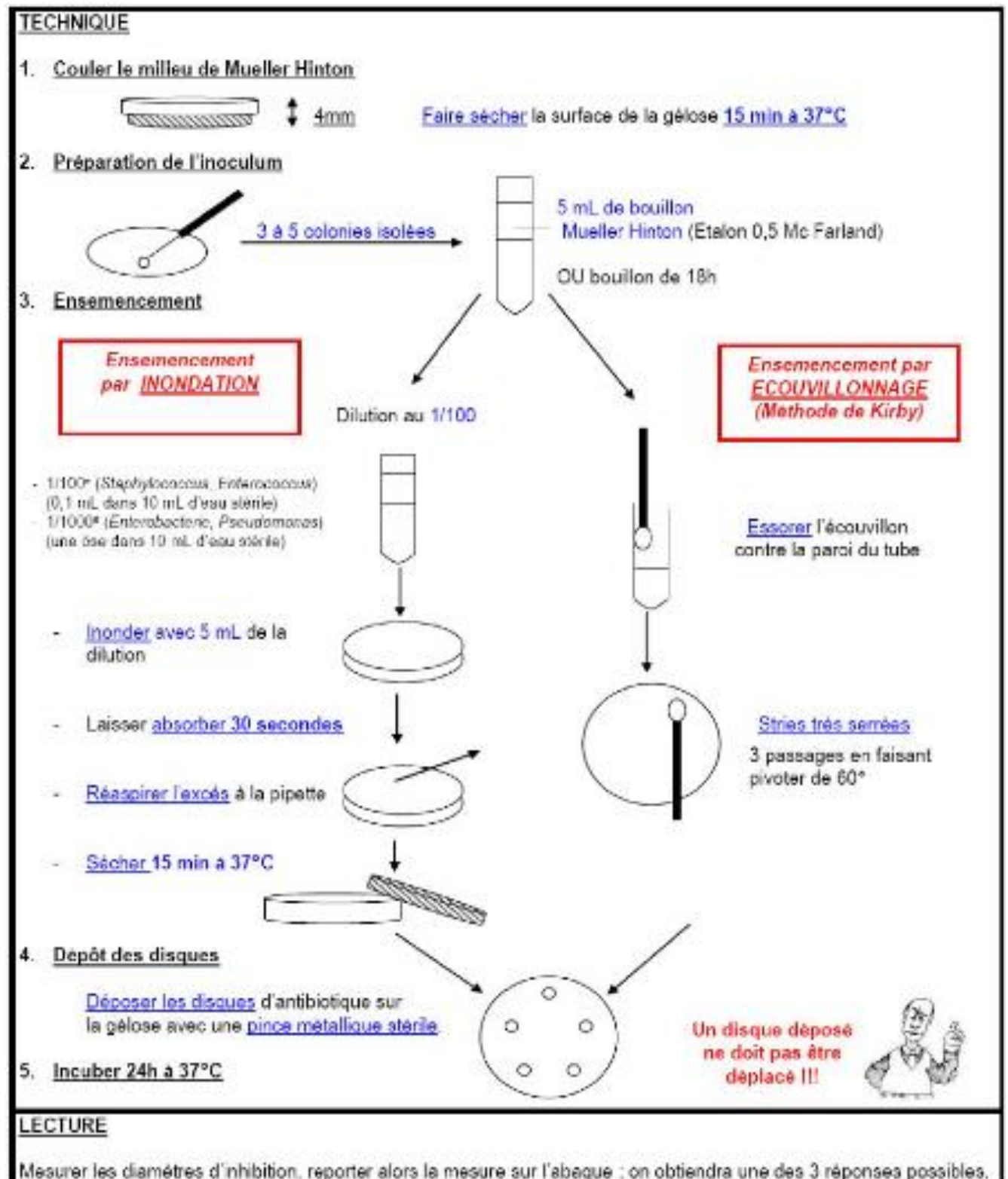


Figure 08: Techniques d'antibiogramme

I.5 METHODE ANALYTIQUES

I.5.1 Analyse sensorielles

A- Cristallisation

La cristallisation du miel est un processus naturel, sa vitesse dépend surtout de la teneur en glucose du miel. Les miels dont la teneur en glucose est < 28 g/100 g ou dont le rapport glucose/eau est $< 1,7$ restent plus longtemps liquides. Les miels à cristallisation rapide se cristallisent le plus souvent très finement, alors que les miels à cristallisation lente ont tendance à avoir une cristallisation grossière (**BOGDANOV et al., 2003**). La cristallisation se fait à partir de cristaux primaires de glucose qui sont présents dès la récolte et faciles à mettre en évidence en lumière polarisée sous le microscope. La croissance de ces cristaux aboutit à la formation de 2 phases : une phase solide constituée de glucose cristallisé et une phase liquide enrichie en eau (**Emmanuelle et al ,1996**)

B- Couleur

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement (**BLANC, 2010**). La couleur du miel est un autre paramètre de qualité. Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs (**ALVAREZ, 2010**), elle va du jaune très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts ;mais le plus souvent le miel est blond (**DONADIEU, 2008**). Elle est due aux matières minérales qu'il contient. La teneur en cendres des miels est inférieure à 1%, la moyenne étant 0.1%, la variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit du miels très clairs; les plus foncés étant les plus minéralisés (**EMMANUELLE et al., 1996**).

C- Odeur et goût

L'odeur du miel est variable (**BLANC, 2010**). L'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les

tournesols, par exemple, donne un miel jaune d'or ; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate (**BRADBEAR, 2005**).

I.5.2 Analyse pollinique

Nous avons opté pour la méthode directe de **LAYKA (1989)** qui est rapide et simple. Tous les échantillons de miel ont été analysés sans acétolyse et sans coloration, cela permet d'afficher le grain de pollen dans sa couleur naturelle avec son véritable aspect pour faciliter l'identification.

Les observations ont été effectuées sous un microscope optique à un grossissement $\times 100$.

❖ Mode opératoire :

Nous avons placé 10 grammes de miel dans un tube à essai ;

- le miel est mélangé à l'aide d'une spatule puis liquéfié au bain marie à une température de 40°C pendant 10 minutes ;
- 5 mg de ce miel sont étalés entre lame et lamelle ;
- la préparation est lutée avec du vernis à ongles afin d'éviter toute contamination ou altération ,
- l'observation microscopique au grossissement X 100 est alors réalisée.

L'analyse pollinique des miels comprend deux étapes ;

L'analyse quantitative : le dénombrement des grains de pollen observés.

L'analyse qualitative : l'identification des grains de pollen.

I .5.3 L'analyse quantitative

Pour chaque échantillon de miel, le nombre de grains de pollen est d'abord compté, puis les résultats du dénombrement sont définis en classes de fréquences par

ordre croissant de I à V afin de définir la richesse en pollen de chaque miel selon la méthode de **MAURIZIO (1975)** :

- Classe I : < 20 000 grains (miel pauvre en pollen)
- Classe II : 20 000 < grains < 100 000 (miel moyennement riche en pollen)
- Classe III : 100 000 < grains < 500 000 (miel riche en pollen)
- Classe IV : 500 000 < grains < 1 million (miel très riche en pollen)
- Classe V : > 1 million de grains (miel extrêmement riche en pollen)

I.5.4L'analyse qualitative

L'identification botanique des grains de pollen, est réalisée au microscope photonique, par comparaison avec les caractères morphologiques du pollen des lames de référence d'un herbier confectionné à partir du couvert végétal présent aux alentours de nos échantillons, permettant ainsi une identification indiscutable. Un examen complémentaire a été effectué en faisant recours à l'Atlas iconographique des bases des données polliniques de **REILLE (1990)** ; qui met à disposition des chercheurs, un nombre élevé de photographies du pollen actuel d'espèces de diverses familles nord africaines.

Le pourcentage de présence de chaque taxon botanique identifié est déterminé ; ceci permet leur classement en classes de fréquences selon la méthode de **LOUVEAUX and MAURIZIO (1970)**. Ainsi, nous pouvons savoir si le miel en question provient de multiples plantes butinées par l'abeille est donc multifloral ou au contraire monofloral, lorsque la proportion de pollen est dominée par une seule plante dont le spectre pollinique dépasse 45%.

- Pollens dominants (> 45%)
- Pollens d'accompagnement (entre 16 et 45 %)
- Pollens isolés importants (entre 3 et 15%)
- Pollens isolés ou rares (< 3%)

I.6 mesure les paramètres physico-chimiques du miel

Tous les paramètres physico-chimiques du miel n'ont pas la même importance en matière d'appréciation de sa qualité. Les principaux paramètres de qualité selon le **Codex Alimentarius (1998)**, sont : l'humidité, la teneur en matières insolubles dans l'eau, la conductivité électrique, le pH et l'acidité, le spectre de sucres, la teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF), l'activité de l'amylase également appelé indice diastasique et l'activité de l'invertase. **Tableau 1**

D'après le **Codex Alimentarius (1998)**, les normes de qualité ne doivent pas obligatoirement être suivies, à l'exception de la teneur en eau ; libre aux gouvernements de les appliquer ou non.

Cependant, selon le projet de l'Union Européenne, les normes de qualité doivent être remplies pour tous les miels qui sont vendus au détail. (**BOGDANOV et al., 2004**).

Tableau 06: Normes relatives à la qualité du miel (Codex alimentarius, 1998).

Critères de qualité	Projet du codex
Teneur en eau	≤ 21 g/100g
Teneur en sucres réducteurs (Glucose + fructose)	≥ 65 g/100g
Le taux de glucose	$> 65\%$ Valeur moyenne admise
La teneur en matière minérales (cendres)	$\leq 0,6$ g/100g
Teneur en Hydroxyméthylfurfural	≤ 60 mg/kg
La conductivité électrique	≤ 0.8 ms/cm
Activité diastasique	
•Général	≥ 8
• Miel avec teneur enzymatique naturellement faible	≥ 3
La teneur en acide libre	≤ 50 mg/kg
Le pH potentiel hydrogène	3,5 à 4

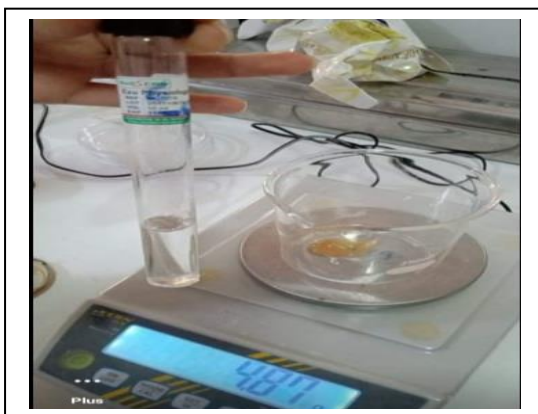
I.6.1 pH:

A-Principe:

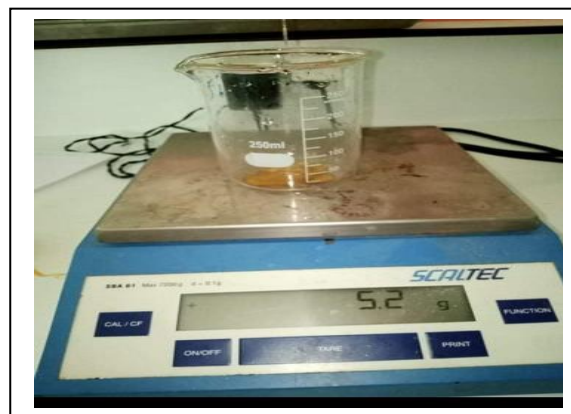
le pH ou potentiel d'hydrogène encore appelé indice de « Sorensen » .c'est la mesure du coefficient l'acidité ou basicité d'une milieu, il représente la concentration des ions h d'une solution (**Gonnet et al. 1985**).

B-Matériels utilisés

-Bécher, pH mètre, agitateur magnétique, balance analytique.



Peser dans un petit bécher 1g du miel le dissoudre dans 10ml d'eau distillé.



Placer la solution de miel a analysé sous agitateur magnétique pendant 10 min.



Plonger l'électrode du pH mètre dans la solution a analyser .Attendre la stabilisation de la valeur du pH.

Figure 09: le mode opératoire du pH

I.6 .2 l'humidité:

A-principe:

La mesure de la teneur en eau se fait au moyen d'un réfractomètre. Le miel à analyser doit être parfaitement liquide.

La réfractométrie est la technique la plus simple et la plus reproductible pour mesurer le taux d'humidité dans un miel. Le principe de la mesure repose sur la détermination de l'angle limite de réfraction entre deux milieux, l'un solide et d'indice connu et très élevé, la plupart du temps, c'est le "Prisme de Flint", l'autre liquide d'indice inconnu du liquide étudié. L'appareil fournit une lecture directe de l'indice relatif à la raie "D" du Sodium, mais il est possible d'opérer à la lumière naturelle ou encore d'une lampe ordinaire pour lire la valeur (Younes. Al,2018).

B-matériels utilisés :

-réfractomètre.

c-Mode opératoire :

Le réfractomètre est d'abord étalonné avec de l'huile dioptrique fournie dans le boîtier La surface du prisme est ensuite bien nettoyée puis rincée à l'eau distillée. Une goutte de miel est déposée sur la platine du prisme d'un réfractomètre qu'on va étaler en rabattant le volet sur le prisme tout en s'assurant de l'homogénéité de l'étalement et qu'aucune bulle d'air est présente.

On dirige le prisme vers une source de lumière (lumière du jour) et on fait une lecture directe du résultat obtenu.

L'appareil étant doté d'un étiquetage ATC (**Automatic Temperature Correction**), cela signifie que le miel ne nécessite pas un chauffage à 20°C et que la valeur lue ne doit pas être corrigée selon une table de correction comme sur certains appareils plus anciens.



Nettoyer et sécher le prisme du réfractomètre et régler a 0.



Le miel doit être homogénéisé, a l'aide d'une spatule déposer une goutte.



Lecture a travers l'oculaire au niveau de la ligne de partage horizontale.

Figure 10: le mode opératoire de l'humidité.

I.6.3 La densité :

A- Principe :

La densité du miel est le rapport de la masse volumique de ce miel et de la même masse volumique de l'eau distillée(Bogdanov ,1995). Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ à 20°C. Elle est en fonction de la teneur en eau et à moindre degré de la composition chimique du miel (Bogdanov, 2011).

B-Matériel utilisé :

Une spectrométrie.

C-Mode Opérateur :

La mesure de l'absorbance est réalisé à l'aide d'un spectrophotomètre à longueur d'onde 625 nm.

I.6.4 La conductivité électrique :

A-Principe :

La mesure de la conductivité électrique de chaque échantillon de miel est effectuée à l'aide d'un Conductimètre. La technique est basée sur la mesure de la résistance électrique à 20°C (Amriet *al.*,2007).

B-Matériel utilisé :

Balance analytique, Conductimètre, Bêcher.

C-Mode opératoire :

Réaliser 50ml d'une solution de miel à partir d'une masse $m= 5g$ de miel.

- Mettre en fonctionnement le conductimètre en mode « Température » et ajuster le potentiomètre de réglage pour obtenir sur l'afficheur une indication égale à la température du laboratoire.
- Basculer en mode conductimètre.

Plonger la cellule de conductimètre dans la solution de miel et choisir le calibre pour avoir la meilleure précision possible sur la mesure de la conductivité σ (unité $\mu S.cm$).

I.7 Étude de l'activité antibactérienne du miel :

L'évaluation du pouvoir antibactérien du miel est réalisée par deux méthodes :

- Méthode de diffusion en puits sur milieu solide.
- Méthodes de dilution sur milieu liquide.

A-Réactivation des souches bactériennes :

La réactivation des souches bactériennes a été réalisée par ensemencement en milieu solide (GN)ou liquide (BN) :

- ❖ **L'ensemencement dans le milieu solide (GN):** Sur gélose nutritive coulée en boîtes de pétries, ainsi une colonie prélevée à partir de chaque boîte de culture est aseptiquement étalée par des stries très serrés sur la surface des géloses.



Figure 11: L'ensemencement dans le milieu solide

❖ **L'enrichissement dans le milieu liquide(BN) :** On a ensemencement 4 ml de bouillon nutritive à des souches bactériennes conservés.

Les boîtes et les tubes sont ensuite mis en incubation à 37°C pendant 24 heures. Après cette période d'incubation, les boîtes sont retirées et les cultures pures et jeunes serviront à la préparation des suspensions bactériennes .



Figure 12 : L'enrichissement dans le milieu liquide(BN)



Les étapes de l'enrichissement :

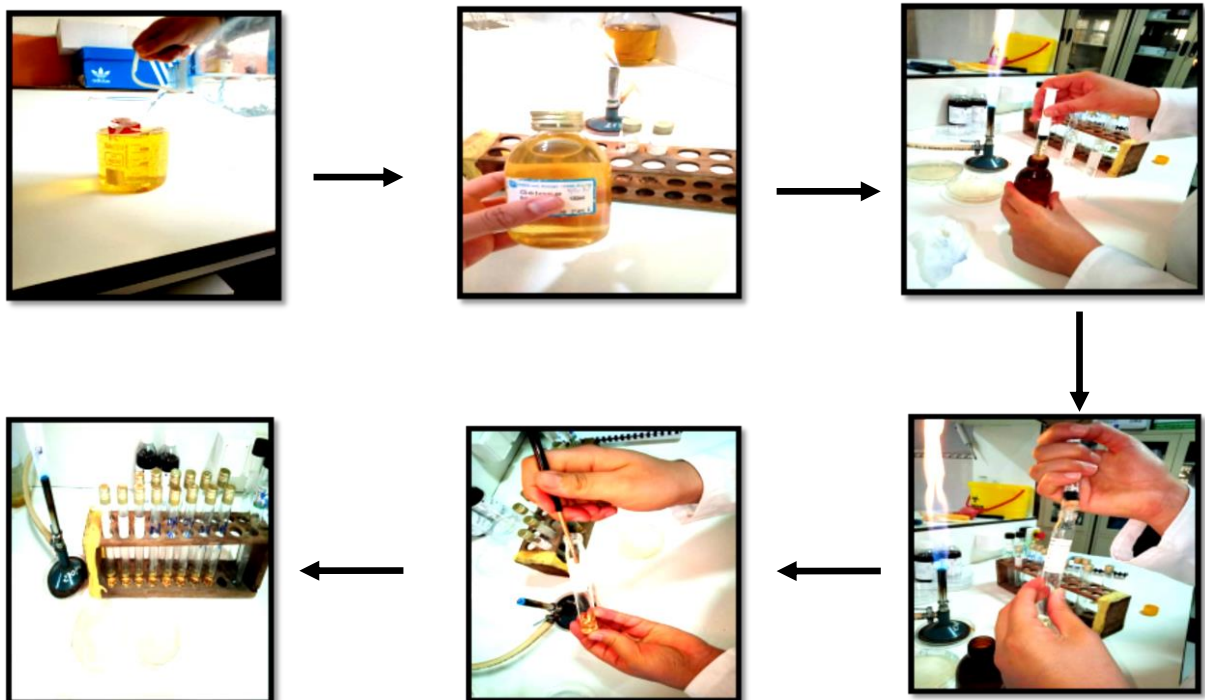


Figure 13 : les étapes d'enrichissement

I.7.1 La méthode de diffusion on puis sur gélose :

Il s'agit d'un test simple de criblage et de sensibilité en utilisant une méthode dites diffusion avec des puits creusés dans le milieu Miller Hinton. Cette technique et répertoire et d'écrite dans différentes publications (**Parenté *et al.*, 1995** ; **Assegidet *al.*, 2004**).

L'étude de l'activité antibactérienne du miel par la méthode des puits, est basée sur la mesure des diamètres de la zone d'inhibition qui permet une estimation de caractères de sensibilité ou de résistance de la souche bactérienne (**Moussa *et al* ; 2012**), les zones d'inhibitions ont été mesuré deux fois par puits à des ongles perpendiculaire (**Jason *et al.*, 2014**).

A- Préparation des suspensions bactériennes :

Une suspension microbienne est préparée dans l'eau physiologie à partir d'une culture jeune des souches à tester. La densité optique de la suspension est ajustée, jusqu'a l'obtention d'une de DO de 0.08 à 0.1 lue à 625 nm.



Figure 14: Les suspensions bactériennes

B- Préparation des solutions des miels :

Dans des tubes stériles l'a été dilué dans l'eau distillé stérile, pour obtenir les dilutions suivantes : 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32.



Figure 15: les étapes de dilutions des miels

C- Ensemencement des boites de pétri :

La suspension bactérienne préparée est ensemencée par écouvillonnage à la surface de la gélose miler Hinton a l'aide d'un écouvillon stérile selon la technique d'ensemencement définie par NCCLS (2002).



Figure 16: les étapes de dilutions des miels

Après 15 minutes des puits de 1 cm de diamètre, croupés sur la surface de gélose ensemencée à l'aide d'un tube à hémolyse stérile, à raison de 6 puits par boite pour les bactéries.

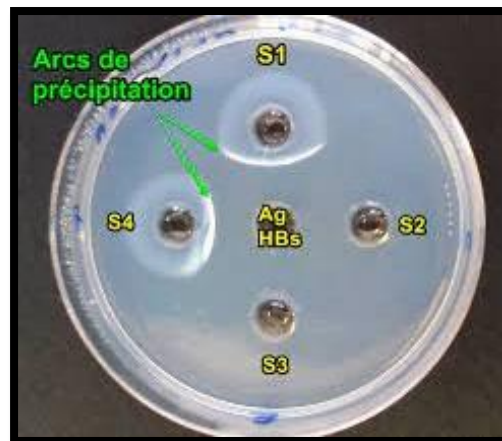


Figure17 : Les méthodes de puits.

Les puits sont ensuite inculpés à l'aide d'une micropipette avec 0.1 ml de chaque type de miel, 5 puits contiennent le miel dilué et un puits contient le miel pur (non dilué).



Figure18 : l'incubation les puits

D- incubation :

Les boites de pétri ensemencée sont incombées a l'étuve à 37° pendant 24h, Après 24h d'incubation, la lecture des réaltin se fait par la mesure de diamètre en millénaire de la zone d'inhibition autour des puits à l'aide d'une règle.



Figure19 : L'incubation les boites dans l'étuve

I.7.2 Méthode de dilution sur milieu liquide CMI :

Cette technique a l'avantage de donner des pourcentages d'inhibition qui estiment plus exactement l'activité de nos échantillons du miel a l'égard des souches bactérienne a été déterminée a l'œil nu permet de déterminé la CMI visuelle qui correspond à la concentration dans le tube au niveau duquel il n'a pas de croissance bactérien visible après 24h (Andrews,2001).

A- Méthode :

Des colonies bactérienne jeunes (les quartes souches) obtenues sue le bouillon nutritive (24h à 37°) sont aseptiquement et soigneusement prélevées a l'aide d'une anse de platine probablement flambées et refroidie , Ensuite elle sont inoculées dans 4ml de bouillon nutritive stérile (DO 625 MM EST 0.08 0 0.1) , Ainsi 0.3 ml de chaque type de miel sont aseptiquement additionné à 4ml de la collure bactérienne en (BN) .



Figure20 : les tubes préparés pour le CMI

B- Incubation :

Les tubes sont incubés à 37°C pendant 24h

I . LA SENSIBILITE DES SOUCHES BACTERIENNES AUX ANTIBIOTIQUES :

Les résultats de l'étude du comportement des souches testées vis-à vis des antibiotiques sont regroupé par le tableau . Ces résultats montrent que toutes les souches isolées ont été résistantes à la plupart des antibiotiques testés .

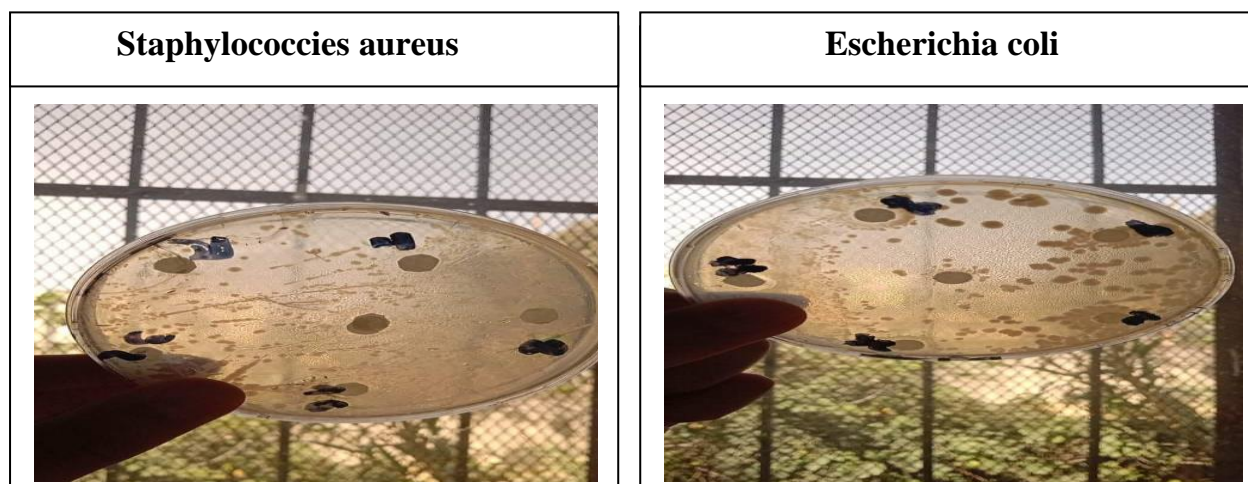
Tableau 07: comportement des souches bactériennes utilisées vis- vis- à – vis de certains antibiotiques . (R : résistant , S : sensible)

Escherichia coli

TIC	PI	AK	CIP	CL	IMI
R	R	S	S	S	S

Staphylococcies aureus

PEN	OX	FOX	CIP	ERYTH	VAN
R	R	R	S	R	S



Féigure 21 : Résultats d'étude de la sensibilité de la souche de E.Coli et S.aureus aux antibiotique après 24H d'incubation à 37C°

II. ANALYSE ORGANOLEPTIQUE :

Tableau 08: résultats de l'analyse sensorielle.

Echantillons	Couleur	Odeur	Saveur	Aspect général
E1	Brun caramélisé	Caramélisé	Très sucré	Très fluide Homogène
E2	Noir	Sidre	Gout indésirable (amer)	Cristaux fin Fluide
E3	Jaune pâle	Florale	sucré	Très visqueux Homogène Non cristallisé
E4	Brun clair	Agrume	Amer	Non cristallisé Moins visqueux

L'analyse sensorielle du miel repose principalement sur la couleur, la saveur, l'arome et la cristallisation qui sont les principaux critères de cette analyse.

La couleur des miel analysés varie entre le jaune pâle, brun et noir, cette variabilité due essentiellement à la nature de la matière première (nectar ou miellat) , et en fonction des fleurs butinées par les abeilles . La couleur d'un miel étant un caractère très important sur le plan commercial, elle s'intensifie au cours du temps (**Louveaux, 1985**).

III L'ANALYSE POLLINIQUE :

Les résultats d'analyse pollinique présentant divers intérêts : d'abord Il a constitué la base d'un premier référentiel sur les miels de la région étudiée (**Tarrahet al 2002**). Dans cette étude de 4 échantillon provenant de différentes régions Skikda ont été analysés.

Analyse quantitative et qualitative :

On explique les variations quantitatives et qualitatives en pollens par : -La diversité des espèces végétales butinées par l'abeille et leur intérêt apicole : soit

l'espèce butinée est pollinifere, nectarifère ou les deux à la fois. - Le travail et les besoins de la colonie d'abeille. - La technologie du miel. - Le mode d'extraction (mécanique ou manuelle) , constatent que les miels d'extracteur centrifuge contiennent peu de sédiments (**Guerzo et Nadji , 2002**) . D'après les résultats de l'analyse pollinique des 4 échantillons de miel on distingue 2 classes :

> **Classe II** : un seul échantillon M4 contient 9000 grain de pollen / 1g de miel. J'ai observé différents espèces de grains de pollen : *Calluna_vulgaris_nonote_5*. *Capsella_bursa-pastoris_X6_uni_nonote_1* **Annexe 01**

> **Classe III** : Englobe les échantillons M1, M2, M, contient une quantité importante de grains de pollen allant 12200 à 15800 grain de pollen / 1g de miel . Sont les riche en graines de pollen par rapport M4 , J'ai observé différents espèces de grains de pollen de chaque miel . - M1 : contient les espèces suivantes : : *Rosmarinus_officinalis* *Viburnum_suspensum*: *Malus_domestica_NOTE* , *Prunus_avium_X6* . **Annexe01**

Tableaux 09: les résultats de l’analyse pollinique quantitative et qualitative.

Echantillons	Nbr pollen dans 5mg du miel	Nbr pollen dans 1g du miel	Classe	Espèces présentes
M1	67	13400	III	<i>Calluna_vulgaris_nonote_5</i>
M2	61	12200	III	<i>Rosmarinus_officinalis</i> <i>Viburnum_suspensum</i>
M3	79	15800	III	<i>Malus_domestica_NOTE</i>
M4	45	9000	II	<i>Prunus_avium_X6</i>

IV . Les paramètres physico-chimiques

Les résultats de l'étude du pH, de la densité optique, de la Conductivité électrique ainsi que l'humidité des différents échantillons de miel sont regroupés dans le **Tableau**.

Les miels étudiés ont un pH acide varie de 3.6 à 4,8 La densité optique (DO) est toujours inférieure à 2. La Conductivité électrique varie entre 0, 4620, 69 et l'humidité est plus élevée entre 12,6 à 9.

- Le PH :

Le pH de tous types de miels présentés est inférieur à 4.8 (pH varie de 3.6 à 4.8). Cela confirme (**M1, M2, M3**) sont de nectar par ce que les miels de nectar ont un faible pH (de 3,3 à 4.5), tandis que le **M4** à pH 4,8 est miel de miellat à un pH un peu plus élevé entre (4,5 à 5,5) (**Pesentiet al., 2008**). Nous pouvons dire à priori que tous les miels étudiés sont acides et sont en conformité avec les normes du **Codex (2001)**. En outre, la valeur de pH de notre échantillon est typique au miel de fleurs à nectar et miellat analysé par (**Gonnet et Vache, 1985**).

Ibrahim et al., (2012), indiquent le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acide organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne ainsi de sa composition minérale, **Alvarez (2010)**, indique que le ph acide du miel dépend de la quantité d'acide gluconique produite par l'enzyme glucose oxydase lors de l'oxydation du glucose, selon **Donation (2006)**, le ph du miel semble être suffisamment bas, cela signifie que l'acidité contribue à l'activité antibactérienne du miel sur de nombreuses espèces pathogènes.

-La densité optique :

Les valeurs de la densité optique des différents échantillons varient de 1,34 à 1,49. Le miel **M3** présente la densité la plus élevé (1,49) cela dû à leur couleur très foncée. Cette couleur pourra être expliquée par leur origine florale. Cependant, les miels clairs donnent une valeur basse. Les variations de la densité proviennent surtout des variations de la teneur en eau. Plus un Miel est riche en eau et moins il est dense (**Louveaux, 1985**).

-L'humidité

Le teneur en eau est un facteur hautement important car il permet estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours des stockages ; donc elle conditionne la conservation du produit (**kucuket al, 2007**).

Les valeurs de nos miels varient entre 1.45 % pour M 3 % et M 2 %1.53% et 1.45%. Pour le **M1** le **M4** est 1.38. Le **M3** Présente la faible teneur en eau 1.45%contrairement à le **M1** il présente la plus forte en eau 1.67 %. ces valeurs sont largement en dessous de la limite maximale préconisée bar **Codex (2001)** qui est de 20 maximum. On conclut que les miels analyse peuvent être conserves sans risque d'altération de leur propriétés physico-chimique. La variation de la teneur en eau est due aux différentes conditions.

-Conductivité électrique :

Examen des résultats montre que la conductivité électrique des échantillons est comprise 502 **M3** et 451 ms /cm. Tous les échantillons mesures ont une conductibilité au-dessous de l'imite préconisée ce qui suggère une fois que les miels recueillis pour cette étude étaient de l'origine florale.

Il existe un rapport linéaire entre conductivité électrique et teneur en matière minérales d'un miel sur la base duquel il possible de calculer la teneur en matières minérales à partir des mesures dès la conductivité électrique (**Gonnet ,1982**).On conclut que l'échantillon (**M3**) est le meilleur conducteur du courant électrique 506 ms /cm par rapport aux autres échantillons du miel. En fin tous les échantillons du miel analyse sont d'une bonne qualité physico-chimique d'après les relate.

Tableau 10 :Les paramètre physico-chimiques des miels utilisés.

Echantillons	PH	Densité	Humidité	Conductivité électrique
M1	3,1	1,34	16,7	0,579
M2	3,6	1,46	15,3	0,451
M3	4,2	1,49	14,5	0,451
M3	4,8	1,35	13,8	0,533

VI .1-Méthode de diffusion en puits sur milieu solide :

La recherche des diamètres de la zone d'inhibition des différents échantillons de miel vis-à-vis des souches choisies a été réalisée par la méthode des puits. La méthode de puits de diffusion fournit des résultats qualitatifs interprétables, et la quantification de l'inhibition de la croissance microbienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition(**Dorman et Deans, 2000; Jason et al., 2004**). Les résultats obtenus sont représentés par les**Figures 27, 28, 29,30 et le Tableau 8**.

Toutes les souches bactériennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice des quatre échantillons de miel naturel (M1, M2, M3 et M4), avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action.

L'effet antibactérien du miel est plus important avec les échantillons non dilués, il diminue avec des dilutions successives. L'échantillon 4 (M4) est l'échantillon le plus efficace et qui possède une activité antibactérienne élevée sur les quatre souches testées, dont les Partie expérimentale Résultats et discussion diamètres de la zone d'inhibition varient de 11 à 35 MM. L'échantillon 1(M1) présente aussi une activité élevée des zones d'inhibition allant de 12 à 43 mm et aussi que l'échantillon 2(M2) présente aussi une activité élevée des zones d'inhibition allant de 11 à 37 MM. A lorsque l'échantillon 3 (M3) est l'échantillon le plus faible.

Les souches *Staphylococcus aureus* et *E CHIRICHIA COLI* sont les plus sensibles à l'effet des différents miels utilisés. Cela a été confirmé par (**Cooperet al ;(1999)**) qui ont montré que *Staphylococcus aureus* est l'une des espèces les plus sensibles à du miel.

Les quatre échantillons de miel possèdent un effet inhibiteur surtout sur la bactérie Gram positif (**S.aureus**) par apport à sa paroi.

Plus le pH est bas plus l'activité inhibitrice est élevée. On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend de leur composition. La

composition du miel elle-même dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie (**Prost, 1979**). **Donadieu (1978)** a montré que tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui (**Donadieu, 2006**).

D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités 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(**Verdan, 2002**).
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production de miel,
- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité (**Caillas, 1974**).**Sib (2007)** testé l'activité antibactérienne de miel sur deux types de Staphylocoque (*S. aureus* sauvage et *S. aureus* ATCC 25923), elle a trouvé des zones d'inhibitions allant de 29.34 mm à 34 mm et donc ces résultats obtenus montrent que notre clinique est plus sensible à l'action de miel par rapport de la souche de référence.

Nos résultats sont confirmés par **Moussa et al.(2012)**diamètre entre (8mm , 38mm). **Merah et al.(2010)** diamètre de (6mm, 34mm) et (**Sufia et al.(2014)** (6mm,34mm).

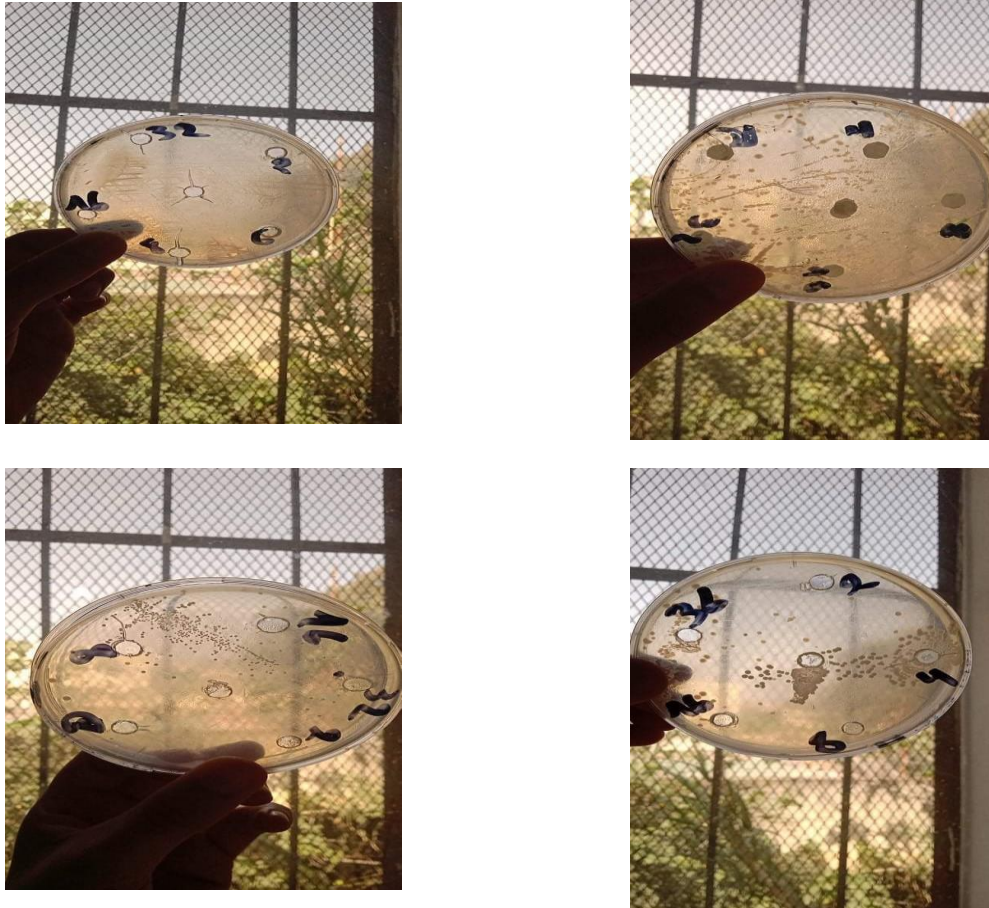


Figure 22 : Effet antibactérien de 4 échantillons de miel naturel sur la croissance de staphylococcus aureus par la méthode des puits

Un puits represente le miel pur (P1 , P2 , P3 , P4) et les 5 autres representent les dilutions (1/2, 1/4 , 1/8 , 1/16, 1/32).

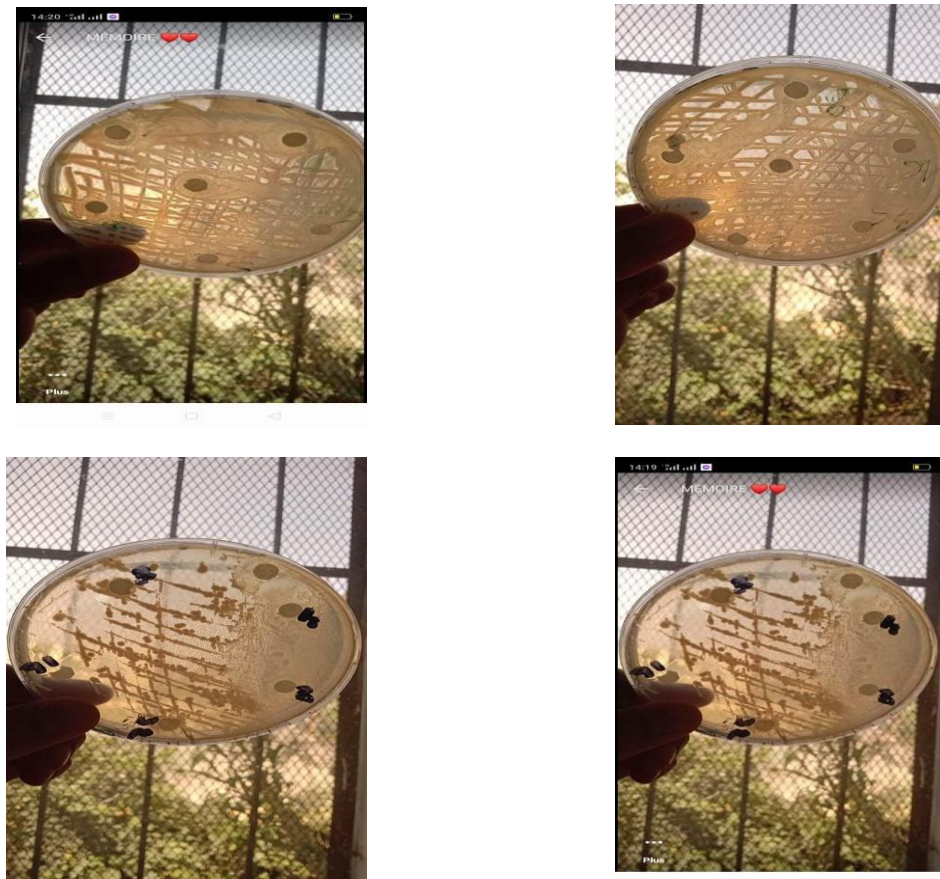


Figure23: Effet antibactérien de 4 échantillons de miel naturel sur lacroissance E-coli par la méthode de puits.

Tableau 11 : Effet du miel sur les souches testés . Les chiffres représentent les diamètres des zones d'inhibition en mm. Les dilutions utilisées sont : P (pur) (Non dilué) , a (1/2) , b (1/4), c (1/8) , d (1/16) , e (1/32).

Les dilutions	(M1)						(M2)						(M3)						(M4)					
	P	a	b	c	d	e	p	a	B	c	d	E	p	a	b	c	d	e	p	a	b	c	d	e
<i>Staphyloco - ccus Aureus</i>	0.544	0.540	0.688	0.601	0.538	0.527	0.530	0.517	0.598	0.555	0.599	0.794	0.586	0.488	0.558	0.494	0.556	0.503	0.675	0.761	0.486	0.628	0.479	0.544
<i>E-coli</i>	0.297	0.377	0.276	0.397	0.338	0.870	0.063	0.057	0.058	0.105	0.046	0.047	0.139	0.109	0.331	0.120	0.404	0.167	0.106	0.100	0.098	0.142	0.153	0.090

Les résultats de l'effet antibactériens des échantillons du miel sur les souches bactériennes sont illustrés par la figure 31.

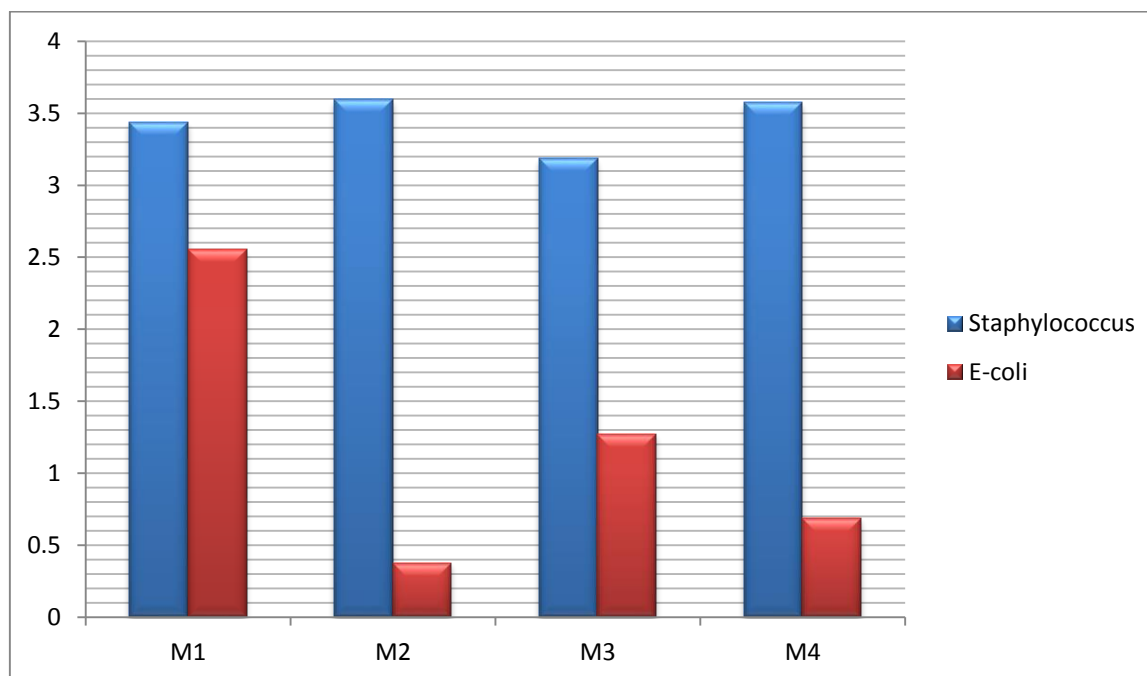


Figure24 : Activité antibacterienne des echantillons du miel par methode des puits.

Les dilutions : a (1/2) , b (1/4) , c(1/8) , d (1/16) , e (1/32), f (1/64) et P (pur , non dilué).

VI.2- Méthode de dilution sur milieu liquide:

La concentration minimale inhibitrice a été déterminée en mesurant la turbidité à l'aide d'un spectrophotomètre (Carson et al, 1995; Parente et al, 1995; Torres et al, 2004). Les résultats obtenus sont représentés dans **Figure 32** et **Tableau 9**.

Les résultats obtenus lors de la recherche des CMI par la méthode de dilution en milieu liquide ont montré que tous les échantillons de miel ont donné une forte activité antibactérienne.

Les CMI obtenues ont été comprises entre staphylocoque aureus (0,190; 0,580;1,620;0,670 ;0,687 ;0,701; 0,710; 0,744; 0,769; 0,780; 0,820; 0,973)et E. coli (la sensibilité des espèces bactériennes ne saurait être comparée en se basant sur les résultats des différentes études, car les miels utilisés pourraient avoir de larges

différences dans leurs activités antibactériennes. "Quand l'effet d'un miel ou d'un groupe de miels, sont testés sur un certains nombres d'espèces bactériennes dans les mêmes conditions et dans une même étude, les sensibilités peuvent être comparées".

Donadieu (1978) a montré que tous les miels ont des propriétés communes, mais chaque miel, se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres à lui. D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités tels quel 'origine botanique des fleures (**Verdan, 2002; Biri, 1999**). Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production de miel. Le mode d'extraction de miel adurée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière quiconditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité (**Caillas, 1974**).



Figure 25 : Résultat de CMI pour les bactéries testées : staphylococcus aureus e-coli

Tableau12 : Résultat de CMI pour , staphylococcus aureus E-coli .

<i>Les souches bactériennes</i>	<i>Les concentrations minimales inhibitrices (CMI)</i>			
	M1	M2	M3	M4
<i>E.coli</i>	2.12	0.83	0.70	1.75
<i>staphylocoaccuse aureus</i>	0.973	0.909	0.190	1.620

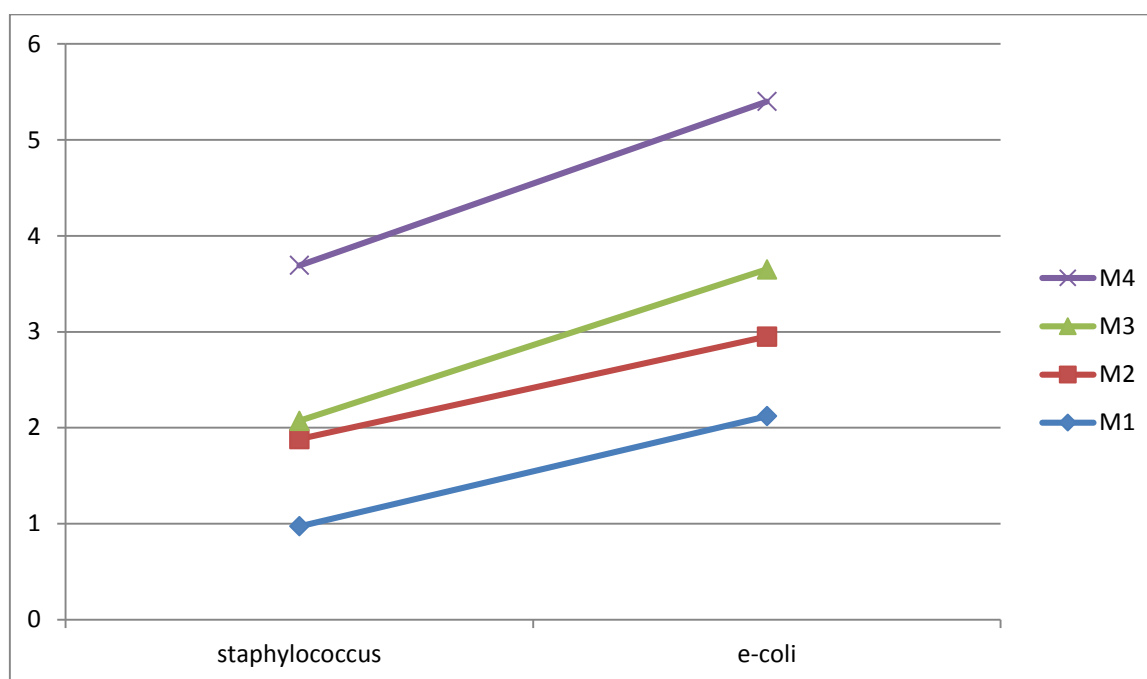


Figure 26 : Les concentrations minimales inhibitrices des différents échantillons de miel vis-à-vis de : Staphylococcus aureus E-coli .

CONCLUSION

Conclusion :

Dans notre présent travail, nous nous sommes intéressés aux deux produits de la ruche que sont le miel et le pollen. Cette initiative s'inscrit comme une contribution à la mise en valeur et la redécouverte de leurs intérêts thérapeutiques à travers une étude physico-chimique, pharmacologique et toxicologique rigoureuse. A été ainsi réalisé sur le miel un contrôle physico-chimique poussé dont les résultats se sont avérés conformes à toutes les exigences internationales en termes de qualité décrites par le Codex²

Alimentaires et l'Union Européenne. Les principaux paramètres représentatifs de la qualité et de la bonne conservation d'un miel à savoir le teneur en eau, la teneur en saccharose et la teneur en HMF se sont tous révélés bien inférieurs aux limites réglementaires.

L'évaluation de l'activité cicatrisante à travers un protocole in-vivo sur des rats de laboratoire a montré une efficacité remarquable avec un net apport du miel sur l'évolution de la plaie, la vitesse de cicatrisation et l'aspect de la cicatrice finale. Aussi, l'étude statistique des données a confirmé ces résultats avec une différence significative entre les groupes traités avec le miel et les groupes témoins dont celui traités avec une crème cicatrisante.

Une évaluation de l'activité antimicrobienne in-vitro réalisée selon des protocoles standardisés a démontré l'activité antibactérienne du miel vis-à-vis de toutes les souches bactériennes testées avec dans certains cas un effet plus prononcé du miel en comparaison à l'antibiotique de référence utilisé comme témoin.

Sur le pollen ont été réalisés un test de toxicité aigüe qui a démontré l'innocuité de ce dernier à des doses élevées et une évaluation de l'apport nutritionnel qui n'a pas donné de résultats statistiquement significatifs mais dont l'investigation mérite d'être poussée plus loin. Enfin, l'extraction, le dosage et l'identification des composés actifs du pollen a montré sa grande richesse en composés phénoliques reconnus pour leur activité thérapeutique. Au cours de notre étude, nous avons donc pu démontrer les différents effets du miel et du pollen.

Toutefois, cette initiative mérite d'être approfondie et complétée par le développement d'autre. L'étude de l'effet antibactérien par une méthode en milieu liquide ainsi que la standardisation d'une méthode de diffusion sur gélose appliquée au miel.

- **Références**

- Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL).
- **AIWAILIN.S.**An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture :an open pilot study .Complementary Therapies in Medicine,2004a, p5
- **ALVAREZ L.M., 2010** - Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p. **Bogdanov S, Ruoff K, Oddo LP. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys: a review. Apidologie. 2004;35(Suppl. 1):S4-S17.**
- **Association Française des Enseignants de Parasitologie et Mycologie (ANOFEL).**
- **AIWAILIN.S.**An alternative treatment for pityriasis versicolor, tinea cruris, tinea corporis and tinea faciei with topical application of honey, olive oil and beeswax mixture :an open pilot study .Complementary Therapies in Medicine,2004a, p5
- **ALVAREZ L.M., 2010** - Honey Proteins and their Interaction with Polyphenols. Submitted in partial fulfilment of the requirements for the degree of Master of Science, Univ. Brock, 93 p.

- **Bastien P.** Généralités sur le parasitisme et les parasites. 2011..
- **BOGDANOV S., BIERI K., GREMAUD G., IFF D., KANZIG A., SEILER K., STOCKLI H. et ZURCHER K., 2003** - Produits Apicoles. 23 A Miel, 1-37.
- **Bonilla FA, Oettgen HC.** Adaptive immunity. Journal of Allergy and Clinical Immunology. 2010

- **BLANC M., 2010-** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 1p.
- **BLANC M., 2010** - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- **Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ.** Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology.* 2015;
- **BLANC M., 2010** - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- **BOGDANOV S., RUOFF K., and PERSANO ODDO L. 2004.** Physico-chemical Methods for the characterization of unifloral honeys: A review *Apidologie*, 35 : 4- 17.
- **BRADBEN N., 2005** - Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 1p
- **BACHER.R ., 2008** ,les abeilles le miel et l'apiculture
- **BENJANIN. A, MCC LLUM .B , 2009.** ELEVER DES ABEILLES .EN FAIRE DU MIEL .
- TERRE S ED DL 2009, 127p.
- **Belhaj , O., Oumato ,j ., and zrira ,s.,** Etude physico chimique de quelques types de miels Marocains . revue marocaine des sciences agronomique et vétérinaires 3,71 – 75,2015 .
- **(BLANC, M, 2010)** .propriétés et usage médical des produits de la ruche. thèse de doctorat, univ, limoges.
- **(BONIMOND., 1983)** la fleur et l'abeille union nationale de l'apiculture français. Paris – 1983.p76.7.
- **(BRADBER N ,2005)** apiculture et moyens d'existence durables . organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture . ISSN 1813 – 6001 , Rome , 64 .

- **Bastien P.** Généralités sur le parasitisme et les parasites. 2011.
- **BOGDANOV S., BIERI K., GREMAUD G., IFF D., KANZIG A., SEILER K., STOCKLI H. et ZURCHER K., 2003** - Produits Apicoles. 23 A Miel, **1-37.**
- **Bonilla FA, Oettgen HC.** Adaptive immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology.* 2010;

- **BLANC M., 2010**- Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 1p.
- **BLANC M., 2010** - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- **Blair JM, Webber MA, Baylay AJ, Ogbolu DO, Piddock LJ.** Molecular mechanisms of antibiotic resistance. *Nature reviews microbiology.* 2015;
- **BLANC M., 2010** - Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, **142 p.**
- **BOGDANOV S., RUOFF K., and PERSANO ODDO L.** 2004. Physico-chemical Methods for the characterization of unifloral honeys: A review *Apidologie*, 35 : 4- 17.
- **BRADBEAR N., 2005** - Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 1p
- **BRADBEAR N., 2005** - Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, **64 p.**
- **CODEX ALIMENTARIUS. 1998.** Standard of Honey, Ref. Nr. CL 1998/12-287 S.FAO and WHO. Rome.Drouet E. *Le monde Microbien : Partie 1 : Microbes et Microbiologie.* 2012.67 CNRS. Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes. Risques biologiques Les cahiers de prévention. 4e ed .2017.
- **CODEX ALIMENTARIUS. 1998.** Standard of Honey, Ref. Nr. CL 1998/12-287 S.FAO and WHO. Rome.Drouet E. *Le monde Microbien : Partie 1 : Microbes et Microbiologie.* 2012.]67 CNRS. Annexe 2. Classement des micro-organismes pathogènes. Risques biologiques Les cahiers de prévention. 4e ed .2017
- *Codex Alimentarius Commission (2001). Codex standard 12, Revises Codex Standard for*
- *Cécile Breffort , 2013 : Le miel : composition et technique de production .*
- *honey, p : 1-7.*
- **Delphine I. Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies [Thèse].**

- **Limoges: Université de Limoges; 2010.**

- **EMMANUELLE H., JULIE C. et LAURENT G., 1996** - Les Constituants Chimiques du Miel.
- **Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire.**
APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.
- **El Hassani N.** Les mycoses : Etude d'une série répertoriée au service de parasitologie mycologie médicale de l'hôpital Ibn Sina de Rabat sur une période de 5 ans (2007 -2011) [Thèse]. Rabat: Université Mohammed V-Souissi; 2013.
- **EMMANUELLE H., JULIE C. et LAURENT G., 1996** - Les Constituants Chimiques du Miel.
- **Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire.**
APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.
- **Essentials of medical microbiology:** Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2018. [11]. Gonnet. M, 1985.Le gout du miel. Edit, U.N.A.F, Paris, 146p.
- **EMANUELLE H., JULIE C. et LAURENT G., 1996** - Les Constituants Chimiques du Miel.
- **Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire.**
APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.
- **El Hassani N.** Les mycoses : Etude d'une série répertoriée au service de parasitologie mycologie médicale de l'hôpital Ibn Sina de Rabat sur une période de 5 ans (2007 -2011) [Thèse]. Rabat: Université Mohammed V-Souissi; 2013.
- **EMMANUELLE H., JULIE C. et LAURENT G., 1996** - Les Constituants Chimiques du Miel.
- **Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire.**
APISERVICES, Galerie Virtuelle apicole.

- **Essentials of medical microbiology:** Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2018. [11]. Gonnet. M, 1985. Le gout du miel. Edit, U.N.A.F, Paris, 146p.
- **Gonnet M 1963 :** L'hydroxyméthylfurfural dans les miels .Mise au point d'une méthode de dosage . Station expérimentale d'Apiculture , Ceyevct de Recherches ogonomiques du Sud-Est , Montfavet (Vaucluse) .
- **Introduction** à la mycologie .2016 [01/04/2020]. ; . Available from: <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/mycologie/site/html/1.html> . [6, 7].
- **In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate(IY-1)** compared to that of some antimycotic agents .J. Pharm.Pharmacol.,1984,p6
- **Israili ZH.** Antimicrobial properties of honey. American journal of therapeutics. 2014; [20].

Introduction à la mycologie .2016 [01/04/2020]. ; . Available from:

In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate(IY-1) compared to that of some antimycotic agents .J. Pharm.Pharmacol.,1984,p6

- **Israili ZH.** Antimicrobial properties of honey. American journal of therapeutics. 2014
- **Katz A, Alimova A, Xu M, Rudolph E, Shah MK, Savage HE,** et al. Bacteria size determination by elastic light scattering. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. 2003;[3.4] Kwakman PH, Zaat SA. Antibacterial components of honey. IUBMB life. 2012;64(1): [21]. LAYKA S. 1989. Les méthodes de la palynologie appliquées à l'étude des papavéracées. Thèse de doctorat. Université de Montpellier France pp 18-25.
- **Katz A, Alimova A, Xu M, Rudolph E, Shah MK, Savage HE,** et al. Bacteria size determination by elastic light scattering. IEEE Journal of Selected Topics in Quantum Electronics. 2003;[3.4] Kwakman PH, Zaat SA. Antibacterial components of honey. IUBMB life. 2012;64(1): [21]. LAYKA S. 1989. Les méthodes de la palynologie appliquées à l'étude des papavéracées. Thèse de doctorat. Université de Montpellier France pp 18-25.

- **LOUVEAUX J., and MAURIZIO A. 1970.** Methods of mellissopalynology. *Bee World*, 59(4) :139-157.
- **Molan P.C,(2002) « Hydroxymethylfural (HMF) and related compounds.** In : Stadler R.H. ,Lineback D.R . (Eds) ,ProCESS- Induced food Toxicant: occurrence , formation mitigation , and health risks . Wiley-Blackwell: Hoboken. .[19]
- **Mărgăoan R, Mărghițaș LA, Dezmirean DS, Gherman B, Chirilă F, Zacharias I, et al.** Antimicrobial activity of bee pollen ethanolic and methanolic extracts on *Staphylococcus aureus* bacterial strain. *Bulletin of University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca Animal Science and Biotechnologies*. 2015; [22,23].
- **MAURIZIO A. 1975.** Microscopy of Honey, in: E, Crane ed., *Honey: a comprehensive survey*, London Heinemann 257p
- **OCDE.** Essai n° 425: Toxicité aiguë par voie orale: méthode de l'ajustement des doses 2008.p5
- **OBASEIKI-EBORE.E., AFONYAT.C.A.REILLE M. 1990.** Leçons de palynologie et d'analyse pollinique. Editions du C.N.R.S.,Paris, 206 p.
- **Paniker CJ, Ghosh S. Paniker's textbook of medical parasitology:** JP Medical Ltd; 2017. [9].
- **Presterl E, Diab-El Schahawi M, Lusignani LS, Paula H, Reilly JS.** General and Specific Virology. *Basic Microbiology and Infection Control for Midwives*: Springer; 2019. [10]. Sastry AS, Bhat S.
- **Presterl E, Diab-El Schahawi M, Lusignani LS, Paula H, Reilly JS.** General and Specific Virology. *Basic Microbiology and Infection Control*
- **Sastry AS, Bhat S.** Essentials of medical microbiology: Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2018. [12].
- **Sastry AS, Bhat S.** Essentials of medical microbiology: Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2018.
- **Sastry AS, Bhat S.** Essentials of medical microbiology: Jaypee Brothers, Medical Publishers Pvt. Limited; 2018. [17].
- **Turvey SE, Broide DH.** Innate immunity. *Journal of Allergy and Clinical Immunology*. 2010; [13, 14]

- **TOMCZAK C., 2010** - Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Thèse de doctorat, école nationale vétérinaire, Univ. Lyon, 1 p.
- **Webster J, Weber R.** Introduction to fungi: Cambridge University Press; 2007.
- **Younes-Chaouch L, Bounsiar N.** Contrôle qualité des miels locaux et importés [Mémoire]. Tizi Ouzou: Université Mouloud Mammeri de Tizi Ouzou; 2018. [2].
- **Zarrouq B.** Etude phytochimique et activité antibactérienne d'Anabasis aretioides[Mémoire]. Fès: Université Sidi Mohammed Ben Abdellah; 2010.

Webographie:

http://fr.wikipedia.org/wiki/Pseudomonas_aeruginosa

- <http://campus.cerimes.fr/parasitologie/enseignement/mycologie/site/html/1.html>
- [http : // www . planète abeille . com](http://www.planeteabeille.com)
- [http:// www.01 Santé .com](http://www.01Santé.com)

Annexe 01 :Quelque types polliniques contenus dans les miels analysés



Image 01 : Capsella_bursa-pastoris



Image 02 :Calluna_vulgaris



Image 03 : Cistus_incanus__NOTE3

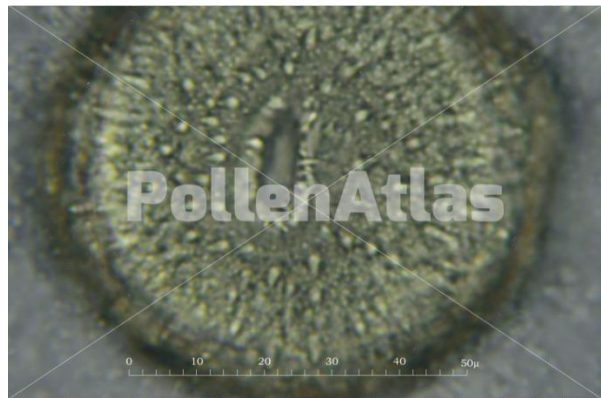


Image 04 : Dipsacus_fullonum_NOTE_2



Image 05 : Malus_domestica_NOTE_5

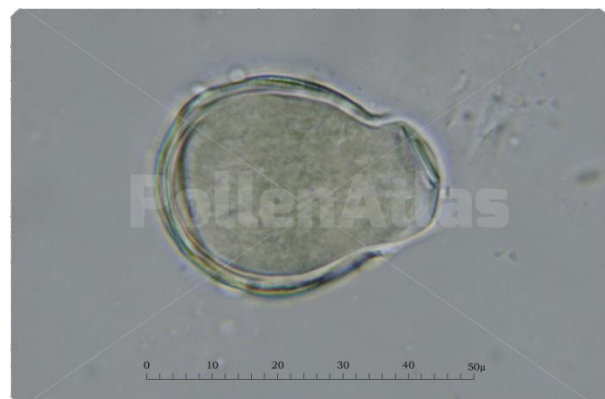


Image 06 : Prunus_avium_X6



Image 07 : Rosmarinus_officialis



Image 08 : Viburnum_suspensum

Annexe 02 : Composition du milieu de culture et solution utilisée :

➤ (G.N) gélose nutritif :

-Extrait de viande 10g

-Extrait de levure 2g

-Peptone 10g -Na Cl 5g

➤ (M.H) Muller Hinton : -Extrait de viande 2g

-Caséine 17,5g

-Agar 15g -Glucose 20g

-E.D 1000ml

➤ (B.N) bouillon nutritive :

-Extrait de viande 3 g / L

-Na Cl 6g / L

-Peptone 15g / L

-D (+) Glucose 1g / L

Remerciements

Nos remerciements s'adressent premièrement et avant tout au « Bon Dieu » tout puissant, qui nous a donné la santé pour réaliser ce travail, et pour sa grâce tout au long de notre vie.

Nous tenons à remercier vivement notre enseignant et promotrice ; Dr : Bouzebda. A, pour ses précieux conseils, ses encouragements et sa disponibilité à tout heure pour mener à temps notre travail.

Nous remercions aussi les membres du jury qui ont bien voulu examiner notre travail et l'apprécier à sa juste valeur.

Nous remercier chaleureusement le personnel du laboratoire d'hygiène de la willaya Merdj Dib et laboratoire de l'université 20 Aout 1955.

Nous remercions vivement et sans exception tous mes précepteurs, directeur, administrateur et enseignants de l'école primaire et de l'école fondamentale lycée et du département des sciences biologiques

Je dédie ce modeste travail à celle qui m'a donné la vie, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, qui a été à mes cotées durant toutes les années de mes études, à ma très chère mère.

A l'âme pure de cher père, qui a toujours été là pour moi, et qui m'encouragé pendant toute ma vie.

- *A mon cher mari : Hichem*
- *A mon frère : Marwen*
- *A mes sœurs : Imen, Nedjwa, khouloud*
 - *A tous mes amis*
- *A tous ceux qui me sont chères*

Ahs, Soulef

Liste d'abrviation

ATCC: American type culture collection.

b/ml : bactéries / millilitre.

BN : bouillon nutritif.

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

D : diamètre.

DO : densité optique.

E : Echantillon.

FAO : Food and agriculture organization : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

g : gramme.

GN : gélose nutritif.

MH : La gélose Mueller Hinton.

ml : millilitre.

n: numéro.

OMS : organisation mondiale de la santé.

pH : Potentiel d'hydrogène.

µl : Micro litre.