

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 AOÛT 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 Biologiques

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé

*Isolement et Identification de Bactéries
lactique à intérêts biotechnologique à partir
de différents miels et de la propolis (région
de Skikda)*

Présenté Par : - Cheribet Ala Eddine
- Bourrich Assil El Malak
- Boukartous Hadil
- Berrahal Rihab

Membres de Jury:

Dr. Bouhaddouda N.	MCA	Président	Univ. 20 août 1955- Skikda
Dr. Bechecker I.	MCA	Directeur de mémoire	Univ. 20 août 1955- Skikda
Dr. Aggoun A.	MCA	Examinatrice	Université 20 août 1955- Skikda

Année universitaire 2024/2025

Remerciements

Avant tout, nous tenons à remercier Dieu tout puissant qui nous a donné la santé, la volonté, et la force pouvoir accomplir ce travail.

Nous tenons en premier lieu, à exprimer notre profonde gratitude à notre Promotrice : **Dr. BECHEKER Imène**, pour la qualité de son encadrement, Nous la remercions du fond du coeur pour sa patience, sa positivité et sa gentillesse à notre égard ont contribué au bon déroulement de ce travail de recherche, ses conseils constructives, ses orientations et ses encouragements durant toute la période de réalisation de ce travail.

Nous tenons également à exprimer nos remerciements aux membres du jury : **Dr. Bouhaddouda Nabila** et **Dr. Aggoun Asma**, qui ont accepté de juger ce travail.

Nous également exprimons nos remerciements à tous les membres du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 Skikda.

À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin et qui nous ont soutenus durant notre cursus universitaire et nous ont encouragé afin de persévérer et d'avancer.

Dédicace

À la mémoire de ma mère bien-aimée,
Ton absence est une douleur silencieuse, mais ton amour continue de vivre en moi, chaque jour,
comme une lumière douce qui me guide.
Ce travail, je le dédie à toi, avec un cœur rempli de gratitude, d'admiration et d'un amour éternel.
Maman. Tu es et resteras mon étoile.

À mon père, exemple de force tranquille, qui m'a transmis le respect, l'humilité et le courage.

À mes frères la précieuse recommandation de ma mère **Chiheb** et **Abd Essamed**, piliers de mon équilibre, pour leur affection, leurs encouragements et leur présence indéfectible.

À celle qui occupe une place unique dans mon cœur...
Mon amour, ma fiancée, mon roc silencieux **Houda**.
Tu as été là quand tout semblait flou, quand la fatigue prenait le dessus, quand les mots ne suffisaient plus.
Ton regard, ta patience, ta foi en moi, m'ont souvent donné la force de continuer là où je voulais abandonner.
Chaque page de ce mémoire porte un peu de toi — dans mes silences, dans mes espoirs, dans mes petits succès que tu as célébrés avec un cœur immense.
Merci d'exister, merci d'être toi. Ce mémoire, je te le dédie aussi, car sans toi, il n'aurait pas eu la même âme.

À toute ma famille, proche ou lointaine, à ceux qui ont prié pour moi, qui m'ont encouragé ou simplement écouté. Votre amour a rendu ce chemin moins lourd.

À mes amis sincères, qui ont su me tendre la main quand j'en avais besoin, partager les nuits de stress, les instants de joie et de doute.

À mes collègues de mémoire **Hadil** et **Riheb**, pour la complicité, les rires, les efforts partagés ce travail est aussi le vôtre et spécialement à **Assil El Malak** complice de cinq années de partage, de travail, de stress, mais aussi de rires et de souvenirs inoubliables.
Merci pour ta présence constante, ton énergie positive.
Ce mémoire marque la fin d'un long chemin parcouru ensemble, et je suis fière d'avoir eu une collègue comme toi à mes côtés.
Que la vie t'offre le meilleur, car tu le mérites sincèrement.

À mon encadrante, **Dr. Becheker** que je considère comme la meilleure des mentors,
Merci pour votre accompagnement bienveillant, votre rigueur inspirante et votre confiance en moi.
Votre présence m'a permis de franchir chaque étape avec clarté et détermination.
Ce travail porte aussi la marque de votre excellence

Enfin, à moi-même, pour avoir tenu bon malgré les absences, le manque, la fatigue.
Ce mémoire est plus qu'un document, c'est un hommage, un aboutissement, un symbole de persévérance et d'amour

Dédicace

À ma mère, "**Hakima**"

Toi qui as été ma force tranquille, mon refuge réconfortant,
Merci pour ta tendresse qui m'a enveloppée, pour ton battement de cœur qui a rythmé le mien à chaque pas. Et pour tes prières silencieuses qui m'ont toujours précédée sans que je le sache.

À mon père, "**Farid**"

Merci pour ton soutien discret et ta patience infinie. Tu as été l'équilibre dont j'avais besoin chaque fois que j'ai senti vaciller mes pas.

À mes frères : "**Nour El Islam**", "**Aymen**" et "**Houd**"

Vous avez été ma roche quand mes pas fléchissaient, l'épaule sur laquelle je savais pouvoir m'appuyer. Dans un monde parfois instable, vous étiez la constance... Et dans les moments de fragilité, vous avez réparé mes fissures en silence, d'une façon qui ne ressemble à aucune autre.

À ma tante, "**Bourriche Meriem**"

Tu occupes une place particulière dans mon cœur. Merci pour ta présence constante, et pour cette tendresse offerte sans condition, mais avec tant de générosité.

À mes coéquipières de recherche : "**Boukertous Hadil**" et "**Berrahal Rihab**". Merci pour ce voyage partagé, pour votre engagement, votre bonne volonté, et votre soutien mutuel.

À mon partenaire dans ce travail, "**Cheribet Ala Eddine**"

Merci pour ta rigueur, ton dévouement, et cette présence constante et déterminée. Tes efforts, déployés pendant cinq années que nous avons couronnées avec ce mémoire, méritent toute ma reconnaissance. Je suis fière d'avoir étudié à tes côtés, et triste que ces années passées ensemble prennent fin. Je te souhaite sincèrement le meilleur pour la suite de ta vie, où que tes pas te mènent.

À ma directrice de mémoire, le "**Dr. Iman Béchéker**"

Merci pour tes orientations décisives, tes conseils précieux et la confiance que tu m'as accordée à chaque étape. Je suis fière que tu aies supervisé mon travail, et honorée que tu sois parmi celles qui m'ont accompagnée sur ce chemin. Reçois tout mon amour et mon profond respect.

À ma meilleure amie "**Mebarek tich tich ferial**"

Tu as été la lumière dans mon obscurité, l'épaule qui ne s'est jamais affaissée... Merci pour la beauté de ton cœur. Ta présence dans ma vie n'a pas été un hasard, mais une véritable bénédiction... Et la plus belle de ces années, c'est que tu en faisais partie.

Et à **mes camarades** du département,

À chacune qui a partagé avec moi rires et inquiétudes,

Vous avez été la partie douce et finale de ce parcours, au cœur de la vie universitaire.

Un remerciement spécial à ma cousine "**Nechoua**" pour être restée à mes côtés dans les bons comme dans les mauvais moments.

Et enfin... à moi-même "**Bourrich Assil El Malak**".

À la jeune femme qui a pleuré, mais ne s'est jamais retirée. À celle qui a marché malgré la fatigue, et a levé la tête malgré les brisures. À celle qui a fait preuve de patience, de persévérance, et qui a attendu ce jour si longtemps. Je suis fière de moi,

Fière de chaque pas, chaque effort, chaque instant où j'ai résisté au besoin d'abandonner.

Oui... je l'ai fait,

Et ce n'est pas la fin...

C'est seulement le commencement.

Assil El Malak

Dédicace

À ma mère « **Houda** » qui ma jamais cessé de formuler les prières à mon égard, de me soutenir et de m'épauler pour que je puisse atteindre mes objectifs.

À mon père « **Mohamed** » pour tous ses sacrifices, encouragement indispensable et ses instructions si précieux tout au long de mes études.

J'espère un jour être à la hauteur de vos attentes.

Mes adorables sœurs « **Rayane** » et « **Ryme** » qui ont été toujours là pour moi, elles sont une source de motivation, de tendresse dans tous les moments de stress et mon petit frère « **Majdou** » la clé de joie et de bonheur, que Dieu vous protège et vous donne le meilleur pour vous méritez je vous aime.

Un dédicace toute particulière à mon oncle **Salah Bendjama**, spécialiste d'Apiculture, pour nous avoir fourni les échantillons de miel et de propolis. Je lui exprime toute ma gratitude pour son soutien et sa précieuse contribution à la réalisation de ce travail.

Et je n'oublie pas mon oncle bien-aimé **Nouro**, mon soutien constant.

À mes cousines « **Fifi** », « **Khouloud** », « **Yasmine** » et « **khaoula** » qui ont été toujours à mes coté dans les moments difficiles.

Et sans oublier ceux qui m'ont accompagné dans mon parcours de recherche, d'études et d'obtention de diplôme, mes collègues **Assil** et **Hadil**, **Ala**. Merci beaucoup. Que Dieu vous bénisse, moi et vous. Portez-vous bien.

Roudaina

Dédicace

Avant tout, Je rends grâce à **Allah**, Le Très-Haut, pour Sa miséricorde infinie et pour m'avoir accordé la force, la patience et la persévérance tout au long de ce parcours.

Je dédie ce travail :

À mon père, modèle de sagesse et de persévérance. Merci pour tes sacrifices silencieux, ta force tranquille et ton regard fier qui m'a toujours poussée à aller plus loin.

À ma mère, la source de tendresse et la lumière qui guide mes routes et m'emmène aux chemins de la réussite.merci pour ton amour inconditionnel ,pour tous tes sacrifices consentis ,ton dévouement infini, ton soutien inébranlable et pour ta présence précieuse dans ma vie.

À mes frères "**Sliman**" "**Abd El Madjed**" "**Fadl Allah**"

Vous m'avez toujours fait sentir comme une princesse au milieu de ses gardiens.Merci pour votre affection discrète, vos encouragements silencieux et votre présence rassurante , ont été un appui précieux tout au long de mon parcours .

À mes sœurs de vie "**Maram**" et "**Lina**"

Votre amitié m'a donné l'impression d'avoir deux sœurs, choisies par le cœur. Merci pour votre présence lumineuse, votre soutien, et tout l'amour sincère que vous m'avez offert .

À "**Dr.Imen Becheker**"

Avoir été encadrée par vous a été un véritable honneur. Merci du fond du cœur pour votre soutien, votre confiance,vos encouragements et votre bienveillance qu'ont été une source précieuse de motivation tout au long de ce travail.

À mes collègues de travail "**Assil El Malak,Rihab** et **Ala Eddine**"

Merci pour votre collaboration précieuse, votre esprit d'équipe et votre soutien indéfectible. Travailler à vos côtés a été un véritable plaisir et une expérience profondément enrichissante.

Hadil

TABLE DES MATIÈRES :

RESUMES

LISTE DES ABREVIATIONS :

LISTE DES FIGURES :

LISTES DES TABLEAUX :

Introduction	1
--------------------	---

SYNTHESEBIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre 01 : les bactéries lactiques

1. Définition des bactéries lactiques.....	3
2. Caractéristiques générales.....	3
3. Les voies des fermentations lactiques	4
3.1 La voie homofermentaire.....	4
3.2 La voie hétérofermentaire	4
4. Classification des bactéries lactiques.....	5
4.1 Le genre <i>Lactobacillus</i>	5
4.2 Le genre <i>Bifidobacterium</i>	6
4.3 Le genre <i>Leuconosto</i>	6
4.4 Le genre <i>Lactococcus</i>	6
4.5 Le genre <i>Enterococcus</i>	6
4.6 Le genre <i>Streptococcus</i>	6

Chapitre 02 : le miel

1. Histoire sur le miel	8
2. Définition du miel	8
3. Origine botanique.....	9
3.1 Miel de Nectar.....	9
3.2 Miel de miellat	9
4. La composition physico-chimique du miel.....	10
4.1 Composition chimique du miel.....	10
4.2 Les propriétés physiques	10
5. La culture du miel en Algérie.....	10
6. Les microorganismes présents dans le miel	10

Chapitre 03 : la propolis

1. Historique	13
2. Définition	13
3. Origine et composition analytique de la propolis	14
4. Caractère physicochimique de la propolis.	15

5. La récolte	15
6. La conservation	15
<i>Matériel et méthodes</i>	
1. Matériel	17
1.1 Matériel biologique	17
2. Méthodes	18
2.1 Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.....	18
2.2 Isolement des bactéries lactiques	18
2.3 Purification des isolats de bactéries lactiques.....	18
2.4 Conservation des isolats.....	19
2.5 Identification des souches	19
2.5.1 Identification phénotypique	19
2.5.1.1 Examen macroscopique	19
2.5.1.2 Examen microscopique	20
2.5.2 Identification physiologique	20
2.5.2.1 Croissance à différentes températures	20
2.5.2.2 La thermorésistance des bactéries	20
2.5.2.3 Croissance à différents pH : 4,4 ; 4,9 ; 9 ; 9,6	20
2.5.2.4 Croissance en milieu hyper salé NaCl	20
2.5.3 Identification biochimique.....	21
2.5.3.1 Test catalase	21
2.5.3.2 Test oxydase	21
2.5.3.3 Croissance sur le lait bleu de Sherman	22
2.5.3.4 Test Mannitol-Mobilité	22
2.5.4 Identification technologique	23
2.5.4.1 Pouvoir protéolytique	23
2.5.4.2 Pouvoir aromatisant.....	23
2.5.4.3 L'activité antibactérienne.....	23
Résultats et Discussion.	
1. Isolement des bactéries lactiques	26
2. Purification des isolats de bactéries lactiques.....	26
3. Conservation des isolats.....	26
4. Identification des souches lactiques	26
4.1 Identification phénotypique	27
4.1.1 Examen macroscopique	27
4.1.2 Examen microscopique	27

4.2 Identification physiologique	27
4.2.1 Croissance à différentes températures	27
4.2.2 La thermorésistance des bactéries	29
4.2.3 Croissance à différents Ph	30
4.2.4 Croissance en milieu hyper salé NaCl	31
4.3 Identification biochimique.....	31
4.3.1 Test catalase	31
4.3.2 Test oxydase	32
4.3.3 Croissance sur le lait bleu de Sherman	32
4.3.4 Test Mannitol-Mobilité	34
4.4 Identification technologique	35
4.4.1 Pouvoir protéolytique	35
4.4.2 Pouvoir aromatisant.....	36
5. Identification des bactéries isolées	38
6. Résultats de l'activité antibactérienne.....	39
Conclusion.....	41

Résumé

Le miel et la Propolis constitue une ressource très intéressante pour l'isolement de nouvelles souches de bactéries lactiques possédant un potentiel technologique prometteur, Ces souches sont exploitées dans divers secteurs industriels telle que l'industrie agroalimentaire. L'objectif de ce travail est d'isoler et purifier des bactéries lactiques à partir du miel et du Propolis de SKIKDA, Tester l'activité antibactérienne des bactéries lactiques. L'isolement de ces bactéries a été réalisé sur des milieux sélectifs MRS et M17, L'identification basée sur des caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques (Température de croissance, coloration de Gram, test catalase, la résistance à différents pH, Mannitol mobilité, pouvoir aromatisant.), et l'activité antibactérienne des souches a été testé par la méthode des spots. Finalement, nous avons pu isoler et identifier 07 souches de bactéries lactiques, à savoir six genres : *Lactobacillus spp*, *Streptococcus*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc plantarum* et *Weissella*. Les résultats de l'activité antibactérienne indiquent que certaines souches lactiques isolées ont un effet antibactérien contre les germes pathogènes testés à savoir *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Klebsiella*.

Mots-clés : Bactéries lactiques, Miel, Propolis, Activité antibactérienne, Germes pathogènes.

Abstract

Honey and Propolis is a very interesting resource for isolating new strains of lactic acid bacteria with promising technological potential. These strains are utilized in various industrial sectors such as the food industry. The objective of this work is to isolate and purify lactic acid bacteria from honey and propolis sourced from Skikda and to test the antibacterial activity of these lactic acid bacteria. The isolation of these bacteria was performed on selective media MRS and M17. Identification was based on phenotypic, physiological, biochemical, and technological characteristics (growth temperature, Gram staining, catalase test, resistance to different pH levels, mannitol fermentation, mobility, flavoring capability), and the antibacterial activity of the strains was tested using the spot method. Ultimately, we isolated and identified 7 strains of lactic acid bacteria, encompassing six genera: *Lactobacillus spp*, *Streptococcus*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc plantarum* et *Weissella*. The results of the antibacterial activity indicate that certain isolated lactic acid strains exhibit antibacterial effects against tested pathogenic strains such as *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*.

Keywords : Lactic acid bacteria, Honey, propolis, Antibacterial activity, Pathogenic germs.

المخلص

شكل العسل والدنج مورداً مثيراً للاهتمام لعزل سلالات جديدة من بكتيريا حمض اللاكتيك ذات إمكانات تكنولوجية واعدة ويتم استغلال هذه السلالات في مختلف القطاعات الصناعية مثل صناعة الأغذية. الهدف من هذا العمل هو عزل وتنقية بكتيريا حمض اللاكتيك من العسل والدنج الخاص بولاية سكيكدة، اختبار النشاط المضاد للبكتيريا لبكتيريا حمض اللاكتيك. تم عزل هذه البكتيريا على أوساط انتقائية MRS و M17، وتم تحديدها بناءً على الخصائص المظهرية والفيولوجية والكيميائية الحيوية والتكنولوجية (تطبخ الجرام، درجة حرارة النمو، مقاومة الحرارة، مقاومة الأس الهيدروجيني المختلفة وتركيزات كلوريد الصوديوم المختلفة، واختبار الكاتالز وأوكسيديز، اختبار النمو على حليب شيرمان الأزرق، اختبار مانيتول التنقل، ومحلل البروتين ملكية). تم اختبار النشاط المضاد للبكتيريا للسلالات بطريقة البقعة. وأخيراً تمكنا من عزل وتحديد 07 سلالات من بكتيريا حمض اللاكتيك وهي ستة أجناس *Lactobacillus* : *Streptococcus*, *Enterococcus faecium*, *Pediococcus*, *Leuconostoc plantarum* و *Weissella*. تشير نتائج النشاط المضاد للبكتيريا إلى أن بعض السلالات اللبنية المعزولة لها تأثير مضاد للجراثيم ضد الجراثيم المسببة للأمراض التي تم اختبارها، وهي المكورات العنقودية الذهبية، الإشريكية القولونية الكلبسيلة. الكلمات المفتاحية: بكتيريا حمض اللاكتيك، العسل، الدنج، النشاط المضاد للبكتيريا، الجراثيم المسببة للأمراض.

LISTE DES ABREVIATIONS:

% :	Pourcentage.
°C:	Degré Celsius.
ADN :	Acide Désoxyribonucléique.
ADP:	Adénosine diphosphate.
ARN:	Acide Ribonucléique.
ATP:	Adénosine triphosphate.
BL:	Bactéries lactiques.
CO2 :	Dioxyde de carbone.
g:	gramme.
GRAS:	Generally Recognized as Safe.
h:	Heure.
H2O2:	L'eau oxygénée.
HMF:	Hydroxyméthylfurfural.
j:	Jours.
Kg:	kilogramme.
LAB:	Lactic Acid Bacteria.
Mg:	Milligramme.
Min:	Minute.
Mm:	Millimètre.
MRS:	Milieu de Man Rogosa Sharpe.
NaCl:	Chlorure de sodium.

NAD:	Nicotinamide-adénine-dinucléotide.
NADH:	Nicotinamide adénine dinucléotide d'hydrogène.
O ₂ :	Oxygène.
pH:	potentiel Hydrogène
S :	Souche.
ssp/ subsp :	Sous-espèce.
T° :	Température.
UE :	Union Européenne.
VP :	Voges Proskauer.
Zi :	Zone d'inhibition.

LISTE DES FIGURES:

Numéro	Titre	Page
01	Miel des différentes couleurs.	08
02	Une abeille sur une fleur de ronce butine le nectar sécrété.	08
03	Une abeille sur un épicéa, récolte les gouttes poisseuses excrétées par les insectes piqueurs-suceurs.	10
04	Les différentes couleurs de la propolis	14
05	colmatage des fissures de la ruche par l'abeille	14
06	Vue globale du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda.	17
07	Préparation de la solution mère et des dilutions décimales.	18
08	Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir du miel sur milieu M17.	19
09	La réalisation du test catalase.	21
10	La réalisation du test oxydase.	21
11	Test de Mannitol Mobilité.	22
12	Résultats de la purification des isolats sur gélose MRS à partir du miel Amer	25
13	Résultats de la conservation des isolats sur milieu MRS incliné.	25
14	Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir du miel (A : Milieu M17), (B : Milieu MRS).	26
15	Résultat de l'observation microscopique d'un isolat à partir du miel après coloration de Gram (X100).	26
16	Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries lactiques testées (A à T = 30°C), (B à T = 37°C).	27
17	Résultats du test de thermorésistance des bactéries testées.	28
18	Résultats du test de croissance à différents pH (A=9), (B=9.6).	29
19	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : (A= 3,5%) (B= 6,5%).	30
20	Résultats du test catalase.	31
21	Résultats du test oxydase.	32
22	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman (A) à 1% de bleu de méthylène (B) à 3%).	33
23	Résultats du test Mannitol-Mobilité.	34
24	Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées.	36

25	Résultats du test aromatisant après l'addition de VP1 et VP2.	37
26	Les diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.	40

LISTES DES TABLEAUX:

Numéro	Titre	Page
01	Familles et principaux genres des bactéries lactiques.	5
02	La composition chimique du miel.	10
03	Micro-organismes présents dans le miel	12
04	Résultats du test de croissance à différentes températures.	27
05	Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.	28
06	Résultats du test de croissance à différents pH.	29
07	Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl.	30
08	Résultats du test catalase.	31
09	Résultats du test oxydase.	32
10	Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman.	33
11	Résultats du test Mannitol mobilité.	34
12	Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur milieu M17 et MRS additionné de lait écrémé à 10%.	35
13	Résultats du pouvoir aromatisant.	37
14	Caractérisation des Bactéries lactiques présentes dans le miel.	38
15	Bactéries lactiques identifiées.	39
16	Les diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.	40

INTRODUCTION

Les bactéries lactiques (BL) sont parmi les micro-organismes les plus étudiés en raison de leur rôle essentiel dans divers environnements naturels et systèmes biologiques. Elles se distinguent par leur capacité à produire de l'acide lactique par fermentation des sucres, leur tolérance aux environnements acides et leur nature anaérobie facultative. De plus, leur absence de production de catalase leur permet de s'adapter à plusieurs niches écologiques, allant du tube digestif des organismes vivants aux produits alimentaires fermentés (**Marco et al., 2021**).

Traditionnellement associées aux produits laitiers fermentés tels que le yaourt et le fromage, les bactéries lactiques ont récemment attiré l'attention des chercheurs en raison de leur présence dans d'autres sources, notamment le miel. Ce dernier est un produit naturel complexe, riche en sucres et en composés bioactifs, dont la diversité microbienne inclut plusieurs groupes bactériens, notamment les bactéries lactiques, qui contribuent à ses propriétés de conservation et à ses bienfaits pour la santé (**Mandal et Mandal, 2011**).

Le miel est l'un des remèdes naturels les plus anciens utilisés par l'homme pour traiter diverses maladies et améliorer la santé. Son importance est reconnue dans de nombreuses civilisations anciennes et il est même mentionné dans le Coran, sourate An-Nahl (versets 68-69), mettant en évidence ses propriétés curatives. Cet intérêt historique a encouragé les recherches modernes à explorer sa composition chimique et ses effets biologiques (**Jouve, 1997**).

D'un point de vue microbiologique, des études récentes ont révélé que les bactéries lactiques sont un composant essentiel du microbiome intestinal des abeilles. Elles jouent un rôle clé dans la fermentation du nectar, sa transformation en miel, ainsi que dans la production du "pain d'abeille", un aliment essentiel pour le développement des larves. En outre, ces bactéries produisent des composés antimicrobiens qui protègent le miel contre les contaminations, expliquant ainsi sa stabilité exceptionnelle par rapport à d'autres produits naturels (**Anderson et al., 2013 ; Cheng et al., 2017**).

Si le miel est le produit de la ruche le plus connu, la propolis (ou résine d'abeille) est l'un des composés naturels les plus fascinants d'un point de vue médical. Il s'agit d'un mélange complexe de résines, de cires, d'huiles essentielles et de composés phénoliques, dont la composition chimique varie selon l'environnement et la flore locale. Utilisée depuis l'Antiquité pour ses propriétés médicinales, la propolis est reconnue aujourd'hui pour ses effets antimicrobiens, antiviraux, antifongiques et anti-inflammatoires. De plus, ses puissantes propriétés antioxydantes en font un sujet d'intérêt croissant pour la recherche biomédicale et pharmaceutique (**Mandal et Mandal, 2011**).

Vue la richesse du miel ainsi que de la propolis en composés naturels bénéfiques pour la santé et vue leur richesse également en bactéries lactiques qui sont à l'origine de la majorité de ces composés, notre présent travail a pour objectifs :

- ❖ Isoler, purifier et identifier les bactéries lactiques à partir de miels récoltés au niveau

- ❖ Etudier les différents caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques des souches isolées.
- ❖ Evaluer l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées.

**SYNTHESE
BIBLIOGRAPHIQUE**

**CHAPITRE 01:
LES BACTÉRIES
LACTIQUES**

1. Définition des bactéries lactiques :

Les bactéries lactiques (BL), regroupées sous l'appellation Lactic Acid Bacteria (LAB), sont des micro-organismes à Gram positif capables de produire de l'acide lactique en fermentant les sucres. Décrites pour la première fois par Orla-Jensen en 1919 (**Leonard, 2013**), elles incluent plusieurs genres notables comme *Lactobacillus*, *Lactococcus*, *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Pediococcus* et *Bifidobacterium*. Ces bactéries jouent un rôle essentiel dans l'industrie agroalimentaire, notamment dans les fermentations alimentaires. Certaines souches, telles que les lactobacilles et bifidobactéries, font partie du microbiote intestinal humain et sont considérées comme sûres (GRAS) par les organismes de régulation (**Trias, 2008**). Elles sont reconnues pour leurs effets bénéfiques sur la digestion, la modulation du système immunitaire et la prévention de troubles intestinaux (**Luis, 2009**). Cependant, certaines espèces, notamment parmi les genres *Streptococcus* et *Enterococcus*, peuvent présenter un potentiel pathogène opportuniste (**Aguirre et Collins, 1993**).

2. Caractéristiques générales :

Les bactéries lactiques forment un groupe diversifié de bactéries Gram-positives, caractérisées par des traits physiologiques et métaboliques spécifiques. Elles peuvent adopter des formes variées, principalement des bacilles ou des coques, et sont généralement non sporulées et immobiles. Elles ont une capacité à se développer dans des conditions anaérobies facultatives ou strictes, et sont catalase-négatives, ce qui signifie qu'elles ne possèdent pas l'enzyme catalase (**Sampo Lahtinen et al., 2012**). Les bactéries lactiques tolèrent des plages de températures allant de 5°C à 45°C et peuvent croître dans un pH variant de 3,2 à 9,6 (**Van de Guchte et al., 2002**). Leur croissance dépend de plusieurs nutriments essentiels, tels que les vitamines du groupe B, des acides aminés et des peptides, ce qui rend leur culture exigeante (**Trias, 2008**).

3. Les voies des fermentations lactiques :

La fermentation lactique est un processus métabolique utilisé par certaines bactéries, notamment celles présentes dans le yaourt, choucroute, cornichons et d'autres produits alimentaires acides, ainsi que par les animaux lorsqu'ils manquent d'oxygène.

L'équation de fermentation de l'acide lactique est généralement décrite comme :



Dans la première étape, le glucose est converti en acides pyruviques par le processus de glycolyse. Dans la glycolyse, 2 ADP et 2 NAD⁺ sont convertis en 2 ATP et 2 NADH.

Dans la deuxième étape, l'acide pyruvique est converti en acide lactique avec la conversion de 2 NADH en 2 NAD⁺. Dans cette étape, le NAD⁺ est régénéré pour continuer le processus glycolytique (Guillaume et al., 2018).

Par conséquent, l'équation complète de la fermentation lactique s'écrit sous la forme suivante :



3.1. La voie homofermentaire :

La fermentation homolactique constitue une variante spécifique de la fermentation lactique, caractérisée par la conversion intégrale du pyruvate en lactate. Cette forme de fermentation est essentielle dans la production de divers produits alimentaires tels que les yaourts, les laits fermentés, les saucissons, la choucroute, le levain pour le pain, ainsi que certains types de fromages. Elle est qualifiée d'homolactique lorsque, sous l'influence de bactéries homofermentaires, l'acide lactique est produit en grande majorité (Guillaume et al., 2018).

La réaction chimique d'une fermentation homolactique est :



Dans le processus de fermentation homolactique, le produit exclusif est le (S)-lactate, résultant en la transformation d'une molécule de glucose en deux molécules de ce composé.

Parmi les bactéries homofermentaires, on trouve des bactéries des genres *Lactococcus*, *Lactobacillus* et *Streptococcus* !

3.2. La voie hétérofermentaire :

La fermentation hétérolactique représente une modalité particulière au sein de la fermentation lactique, se différenciant de la fermentation homolactique. La réaction chimique caractérisant la fermentation hétérolactique peut être représentée par l'équation suivante :



Cette transformation biochimique implique la décomposition d'une molécule de glucose en acide lactique, dioxyde de carbone et éthanol. Parmi les micro-organismes capables de conduire ce type de

fermentation, on trouve des bactéries appartenant aux genres *Leuconostoc* ainsi que certaines espèces de *Lactobacillus* (Guillaume et al., 2018).

4. Classification des bactéries lactiques :

Le groupe des bactéries lactiques, initialement défini par Orla-Jensen en 1919, a connu plusieurs révisions taxonomiques au fil du temps, conduisant à une classification plus détaillée et rigoureuse. Ces bactéries appartiennent majoritairement au phylum Firmicutes, à la classe Bacilli et à l'ordre Lactobacillales. Elles sont regroupées en plusieurs familles, qui incluent une diversité de genres aux caractéristiques biologiques et fonctionnelles distinctes (Brenner et al., 2005).

Le tableau suivant présente les principales familles et genres de bactéries lactiques identifiés jusqu'à présent :

Tableau 01 : Familles et principaux genres des bactéries lactiques (Brenner et al., 2005).

Familles	Principaux genres
<i>Lactobacillaceae</i>	<i>Lactobacillus sp.</i> , <i>Pediococcus sp.</i>
<i>Leuconostocaceae</i>	<i>Leuconostoc sp.</i> , <i>Oenococcus sp.</i> , <i>Weissella sp.</i>
<i>Streptococcaceae</i>	<i>Streptococcus sp.</i> , <i>Lactococcus sp.</i>
<i>Carnobacteriaceae</i>	<i>Carnobacterium sp.</i>
<i>Enterococcaceae</i>	<i>Enterococcus sp.</i> , <i>Tetragenococcus sp.</i> , <i>Vagococcus sp.</i>

Sur le plan phylogénétique, ces bactéries peuvent être classées en fonction de l'analyse du séquençage de l'ARN ribosomal (ARNr 16S), ce qui permet d'établir des relations évolutives précises entre les différents genres. Il est admis que les bactéries lactiques dérivent d'ancêtres du sol apparentés aux *Bacillus*, ayant progressivement perdu certaines fonctions génétiques au cours de leur adaptation à des environnements riches en nutriments, notamment les écosystèmes fermentaires et digestifs (Sampo Lahtinen et al., 2012).

Voici une description plus détaillée des genres les plus représentatifs de cette classification :

4.1. Le genre *Lactobacillus* :

Le genre *Lactobacillus* regroupe des bactéries Gram-positives, généralement microaérophiles, présentes dans divers environnements riches en nutriments, notamment les produits laitiers fermentés, la flore intestinale humaine et animale, ainsi que les surfaces végétales et le sol. Ce genre est caractérisé par une diversité phénotypique et génétique importante, comprenant plus d'une centaine d'espèces. Parmi les plus notables, on retrouve *L. Acidophilus*, *L. Casei*, *L. Plantarum*, *L. Rhamnosus*

et *L. Salivarius*, connues pour leurs applications en agroalimentaire et en santé humaine (Kleerebezem et Vaughan, 2009).

4.2. Le genre *Bifidobacterium* :

Les bifidobactéries représentent un groupe majeur de bactéries lactiques, particulièrement dominantes dans le microbiote intestinal des nourrissons allaités. Découvertes pour la première fois en 1899 par Tissier, elles ont d'abord été classées sous différentes appellations avant d'être regroupées sous le genre *Bifidobacterium* en 1973. Depuis, de nombreuses nouvelles espèces ont été décrites, portant leur nombre à plus de 30 taxons distincts (Delcenserie et al., 2007).

4.3. Le genre *Leuconostoc* :

Les bactéries du genre *Leuconostoc* sont des cocci ou bacilles Gram-positifs, immobiles et non sporulés, souvent organisés en paires ou en chaînes courtes. Elles se distinguent par leur métabolisme hétérofermentaire, produisant à la fois de l'acide lactique, du CO₂ et des composés aromatiques lors de la fermentation des glucides. Certaines espèces sont adaptées aux environnements froids et sont capables de se développer à des températures proches de 1°C (Johansson et al., 2011).

4.4. Le genre *Lactococcus* :

Les *Lactococcus* sont des bactéries lactiques largement exploitées dans l'industrie agroalimentaire, notamment pour la fermentation des produits laitiers. Elles possèdent un génome plus vaste que la plupart des autres, ce qui leur confère une grande capacité d'adaptation aux milieux variés. *Lactococcus lactis*, en particulier, est une espèce clé dans la production de fromages et d'autres produits fermentés (Elliot et al., 1991).

4.5. Le genre *Enterococcus* :

Les bactéries du genre *Enterococcus* sont des bactéries lactiques ubiquistes, présentes dans une grande variété d'habitats, incluant le sol, l'eau, les plantes, ainsi que le tractus gastro-intestinal des humains et des animaux. Elles jouent un rôle clé dans la fermentation de certains aliments, mais certaines espèces, comme *E. Faecalis* et *E. Faecium* peuvent également être des pathogènes opportunistes responsables d'infections nosocomiales (Holzapfel et al., 2002).

4.6. Le genre *Streptococcus* :

Les streptocoques sont des bactéries lactiques Gram-positives, catalase-négatives et généralement anaérobies facultatives. Elles sont souvent retrouvées sous forme de chaînes cellulaires et jouent un rôle central dans la fermentation de divers produits alimentaires. Cependant, certaines espèces,

comme *Streptococcus pneumoniae* sont des agents pathogènes majeurs impliqués dans des infections respiratoires (Zheng, J., Wittouck, S et al. (2022)).

CHAPITRE 02:

LE MIEL

1. Historique :

Depuis des millénaires, le miel est utilisé aussi bien comme aliment que comme remède naturel en raison de ses nombreuses propriétés bénéfiques pour la santé. Les premières traces écrites de son usage thérapeutique remontent à l'ancienne Mésopotamie, où une tablette d'argile découverte à Nippur, datant d'environ 4700 ans, mentionne douze prescriptions médicales intégrant le miel. Dans l'Égypte antique, le papyrus d'Ebers (1600 av. J.-C.) cite fréquemment le miel comme ingrédient dans diverses préparations médicinales. Pythagore, philosophe et mathématicien grec, en recommandait la consommation, et Jules César l'intégrait dans son alimentation quotidienne. En Inde, l'Ayurveda prônait un régime à base de miel et de lait, censé prolonger la longévité jusqu'à 500 ans. Le miel est également cité dans plusieurs textes religieux et historiques, notamment la Bible, le Talmud et le Coran, où il est mis en avant pour ses vertus thérapeutiques. Plus récemment, durant les guerres napoléoniennes, il était utilisé comme antiseptique et cicatrisant pour traiter les plaies (Jouve, 1997).

2. Définition du miel :

Le miel est une substance sucrée et naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* (Figure 1).



Figure 01 : miel des différents couleurs (Web 01).

Il est élaboré à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions végétales, ainsi que des excréments d'insectes suceurs présents sur certaines plantes. Les abeilles collectent ces éléments, les transforment en ajoutant des enzymes spécifiques, les déshydratent et les stockent dans les alvéoles des ruches où ils mûrissent progressivement (Fanny, 2015).

En fonction de son mode d'extraction et de préparation, le miel peut se présenter sous différentes formes (Homrani M., 2020) :

- **Miel en rayon** : conservé naturellement dans les alvéoles de cire des ruches.
- **Miel égoutté** : extrait par simple égouttage après désoperculation des rayons.
- **Miel centrifugé** : obtenu par centrifugation des rayons désoperculés, avec ou sans chauffage.

- **Miel filtré** : soumis à une filtration éliminant les impuretés et réduisant la teneur en pollen.

Certaines mentions supplémentaires peuvent figurer sur l'étiquetage du miel :

- **Origine florale ou végétale** : précisée si le miel provient majoritairement d'une plante spécifique, avec des caractéristiques organoleptiques et physico-chimiques distinctives.
- **Origine géographique** : mentionnée lorsque le miel est exclusivement issu d'une région donnée.

3. Origine botanique du miel

Selon sa provenance botanique, le miel est classé en deux grandes catégories (**Oddo et Bogdanov, 2004**) :

3.1. Miel de nectar :

Le nectar est une sécrétion sucrée produite par les glandes nectarifères des plantes. Le miel issu du nectar floral contient environ 90 % de sucres, ainsi que des acides organiques, des protéines, des acides aminés et divers minéraux (**Figure 2**). On distingue : miels monofloraux et Miels polyfloraux (**Jean-Prost et Le Conte, 2005**).



Figure 02 : Une abeille sur une fleur de ronce butine le nectar sécrété (**Web 02**).

3.2. Miel de miellat :

Contrairement au miel de nectar, le miel de miellat est principalement produit à partir des excréments laissés par certains insectes (Hémiptères) sur les plantes ou directement des sécrétions végétales (**Figure 3**). Ce type de miel se distingue par sa viscosité plus élevée, sa couleur plus sombre et sa faible teneur en eau. Il est également plus riche en minéraux, en acides organiques et en sucres complexes (**Kaskoniene V., Venskutonis, P.R., (2021).** ; **Jean-Prost et Le Conte, 2005**).



Figure 03 : Une abeille, sur un épicéa, récolte les gouttes poisseuses excrétées par les insectes piqueurs-suceurs (**Web 03**).

4. Caractères physiochimiques du miel :

4.1. Composition chimique :

La composition du miel varie en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'origine botanique, la nature du sol, la race des abeilles et les conditions climatiques

Comparé au miel de nectar, le miel de miellat contient une proportion plus faible de glucose et de fructose, mais davantage de sucres complexes. D'un point de vue microbiologique, le miel est un environnement naturellement pauvre en bactéries et en levures, bien qu'il puisse contenir du pollen et des spores fongiques. Certains miels peuvent aussi présenter des traces de radioactivité, dues à des retombées environnementales (**Gleiter et al., 2006**)

Le tableau suivant montre les différentes propriétés chimiques du miel (**Tableau 2**).

Tableau 2 : La composition chimique du miel (**Gleiter et al., 2006**) :

Propriété	Détails
pH	Entre 3,2 et 5,5, acidité due à la transformation du glucose en acide gluconique.
Sucres	75-80 % de sucres totaux (glucose, fructose, maltose, saccharose).
Eau	Entre 14 et 25 %, idéalement <18 %.
Acides	Acides acétique, citrique, lactique, malique, oxalique, butyrique, succinique.
Oligo-éléments	Potassium, calcium, fer, magnésium, phosphore, silicium, sodium... (traces).
Protéines	Albumines, globulines, acides aminés des pollens, enzymes.
Enzymes	Alpha- et bêta-amylases, gluco-invertase, alpha-glucosidase, gluco-oxydase.
Hydroxyméthylfurfural (HMF)	Indicateur du vieillissement du miel, limite UE de 40 mg/kg.

4.2. Propriétés physiques :

Les propriétés physiques du miel comprennent **Raweh H.S.A., et al (2023)**:

- **Densité et viscosité** : influencées par la teneur en eau et la température.
- **Hygroscopicité** : capacité du miel à absorber l'humidité de l'air.
- **Cristallisation** : tendance à former des cristaux selon la proportion des différents sucres.
- **Conductibilité thermique et électrique** : dépendant de la concentration en sels minéraux.
- **Couleur** : influencée par la présence de pigments naturels et de composés phénoliques.

5. L'apiculture en Algérie :

L'apiculture est une pratique ancestrale en Algérie, qui a connu un essor notable ces dernières décennies. Grâce à une grande diversité de climats et d'écosystèmes, le pays possède une flore mellifère abondante, comprenant forêts, maquis, garrigues et zones steppiques, offrant un large éventail de miels aux saveurs uniques.

Pendant la période coloniale, l'apiculture traditionnelle était largement pratiquée par les populations locales, tandis que l'apiculture moderne était dominée par les colons. Après l'indépendance, l'État algérien a encouragé le développement de ce secteur à travers la mise en place de programmes de soutien et l'importation d'abeilles étrangères (**Web 02**).

6. Micro-organismes présents dans le miel :

Le miel est reconnu comme un milieu favorable au développement d'une diversité de micro-organismes, dont certains présentent des propriétés antimicrobiennes remarquables (**Pajor et al., 2018**). Ces composés naturels, synthétisés par les bactéries présentes dans le miel, pourraient offrir des solutions prometteuses dans divers domaines, notamment la bio-conservation des aliments et la lutte contre les infections microbiennes, y compris celles résistantes aux antibiotiques. L'apport des abeilles au cours de la production du miel joue un rôle crucial dans l'enrichissement du produit en micro-organismes d'origine intestinale. Parmi les bactéries les plus fréquemment identifiées dans le miel figurent les genres : *Lactobacillus*, *Bacillus*, *Streptococcus* et *Clostridium*, ainsi que des bactéries à Gram-négatives telles que *Achromobacter*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Flavobacterium*, *Klebsiella*, *Proteus* et *Pseudomonas* (**Tableau 3**). Ces micro-organismes contribuent à la complexité et aux propriétés bénéfiques du miel (**Raweh H.S.A., et al. (2023)**; **Ahn et al., 2012**).

Tableau 3 : Micro-organismes présents dans le miel (Ahn et al., 2012).

Bactéries	Levures	Champignons
<i>Bacillus</i>	<i>Debaromyces</i>	<i>Asperhillus</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Alihia</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Lipomyces</i>	<i>Bettsiaalvei</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Nematospora</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Pichia</i>	<i>Chaetomium</i>
<i>Neisseria</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Coniothecium</i>
<i>Pseudomonas</i>	<i>Scizosaccharomyces</i>	<i>Hormiscium</i>
<i>Enterococcus</i>	<i>Trichosporium</i>	<i>Peronsporaceae</i>
<i>Lactobacillus</i>	<i>Torula</i>	<i>Peyronelia</i>
<i>Bifidobacterium</i>	<i>Zygasaccharomyces</i>	<i>Tripoosporium</i>

CHAPITRE 03: LA PROPOLIS

1. Historique :

L'utilisation de la propolis remonte à des millénaires, où elle était reconnue pour ses propriétés médicinales et conservatrices. Les premières traces de son usage thérapeutique apparaissent dans la Grèce antique. Aristote la mentionne comme un remède naturel efficace contre diverses affections cutanées et inflammations (**Golder, 2004**).

Les Égyptiens de l'Antiquité exploitaient ses propriétés antiseptiques pour la momification, lui attribuant un rôle essentiel dans la préservation des corps (**Nelsen et al., 2007**). Dans la Rome antique, la propolis était utilisée pour accélérer la cicatrisation des plaies des soldats sur le champ de bataille. Au Moyen Âge, la médecine arabe et européenne l'employait comme agent cicatrisant et antiseptique, notamment dans le traitement des infections buccales et des maladies de la peau (**Castaldo et Capasso, 2002**). Les Incas, en Amérique du Sud, lui conféraient un usage médicinal en tant qu'antipyrétique, tandis qu'en Russie, elle était considérée comme un remède naturel contre les infections respiratoires.

Au XVII^e siècle, la propolis fut officiellement intégrée à la pharmacopée européenne en raison de son efficacité démontrée contre les infections (**Potier, 2014**).

Avec les progrès scientifiques, l'intérêt pour la propolis a fluctué, mais il a connu un regain au cours des dernières décennies, notamment grâce à l'identification de ses nombreuses propriétés biologiques. Aujourd'hui, elle est disponible sous plusieurs formes : extraits hydroalcooliques, poudres, pommades, solutions buccales et gélules (**Cuvillier, 2015**).

2. Définition de la Propolis :

Le mot "propolis" est issu du grec ancien qui signifie "devant la cité", une allusion à son rôle de barrière naturelle protégeant la ruche contre les menaces extérieures (**Jean-Marie, 1993**).

D'un point de vue biologique, la propolis est une substance résineuse que les abeilles (*Apis mellifera*) collectent à partir des bourgeons et des écorces de certaines plantes. Elles la mélangent avec de la cire et des sécrétions salivaires, créant ainsi un matériau aux propriétés antimicrobiennes, antifongiques et antivirales (**Kevitz, 2012**) (**Figure 4**).

Sa consistance varie en fonction de la température :

- À froid (<15°C) : elle devient dure et cassante.
- À température ambiante (15-30°C) : elle est malléable et collante.
- Au-delà de 30°C : elle devient visqueuse et peut fondre partiellement (**Zheng, J., Wittouck, S et al. (2022)**).

Dans la ruche, la propolis remplit plusieurs fonctions essentielles (**Bankova et al., 2000**) :

- Protection contre les pathogènes : elle crée un environnement stérile en empêchant la prolifération des bactéries et champignons.
- Colmatage des fissures : elle scelle les interstices de la ruche pour éviter les courants d'air (**Figure 5**).
- Renforcement de la structure interne : elle solidifie les parois internes et réduit les vibrations.



Figure 4 : Les différentes couleurs de la propolis : (a): vert, (b): brune, (c): rouge (*Web 02*).



Figure 5 : colmatage des fissures de la ruche par l'abeille (*Web 02*).

3. Origine et Composition de la Propolis :

Les études scientifiques montrent que la propolis est un produit complexe dont les composants proviennent de **trois sources principales** :

a. Origine Végétale :

La propolis est principalement issue des **exsudats résineux** collectés par les abeilles sur différentes essences d'arbres. Parmi les espèces les plus courantes figurent :

- **Les peupliers (*Populus spp.*)**, considérés comme la source végétale dominante.
- **Les conifères (pins, sapins, épicéas)**, riches en terpènes.
- **Le châtaignier et le bouleau**, qui apportent des flavonoïdes.
- **L'érable**, qui contribue à la diversité phénolique (**Bankova et al., 2000**).

Ces résines végétales sont ensuite modifiées par les abeilles, qui y ajoutent des enzymes et de la cire pour en faire un matériau stable et bioactif (**Perreau, 1985**).

b. Origine Animale :

Les abeilles sécrètent des substances qui enrichissent la propolis :

- **La cire d'abeille**, qui améliore sa malléabilité.

- **Les enzymes salivaires**, qui modifient chimiquement les résines et participent à leur transformation en composés bioactifs (**Jean-Marie, 1993**).

c. Matières Accessoires :

En plus des composés végétaux et animaux, la propolis contient des éléments annexes introduits lors de sa production :

- **Pollen**, apportant des enzymes et des nutriments.
- **Traces de nectar et de miel**, influençant sa composition chimique.
- **Petits débris organiques**, issus de la ruche (**Ghisalberti, 1979**).
-

Néanmoins, la composition chimique de la propolis varie selon plusieurs facteurs :

- **La diversité des plantes butinées**, influençant la richesse en flavonoïdes et en acides phénoliques.
- **Les saisons et le climat**, qui modifient la production de résines par les plantes.
- **L'écosystème et l'altitude**, qui influencent la disponibilité des ressources (**Perreau, 1985**).

4. Caractéristiques Physico-chimiques de la Propolis

Les propriétés physico-chimiques de la propolis dépendent de sa provenance botanique. Elles incluent (**Pamplona-Zomenhane et al., 2021**) :

- **Solubilité** : soluble dans l'alcool et d'autres solvants organiques, mais peu dans l'eau.
- **Point de fusion** : situé entre 60 et 70°C .
- **pH** : légèrement acide, ce qui contribue à son action antimicrobienne.
- **Densité** : environ 1,1-1,2 g/cm³.
- **Couleur** : allant du jaune au brun foncé, selon son origine.
- **Odeur et goût** : résineux, parfois légèrement amer.

Grâce à ces propriétés, elle est utilisée en pharmacologie et en cosmétique, notamment pour la formulation de produits cicatrisants et antiseptiques (**Zheng, J., Wittouck, S et al. (2022)**).

5. La Conservation de la Propolis :

La propolis est un produit dont la conservation ne présente pas de difficulté majeure, quel que soit son état physique. Cependant, afin de garantir l'intégrité de ses composants actifs et de préserver ses propriétés thérapeutiques, il est recommandé de la stocker dans des récipients hermétiques et d'éviter son exposition à l'humidité, à la lumière et à la chaleur excessive. Ces précautions permettent de préserver ses caractéristiques biologiques et d'optimiser son efficacité (**Bankova et al., 2000**).

Bien que les études indiquent que le stockage prolongé n'entraîne pas une altération significative de ses propriétés antibactériennes ni une diminution de la concentration en composés actifs, il est conseillé de

consommer la propolis dans l'année suivant sa récolte pour bénéficier pleinement de ses bienfaits (**Perreau, 1985**).

**MATÉRIEL
ET MÉTHODES**

La partie pratique de notre étude a été menée au sein du Laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda (**Figure 06**), sur une période allant du 21 avril au 2 juin 2025. soit six semaines d'activités intensives visant à isoler, caractériser et identifier des bactéries lactiques à partir d'échantillons apicoles.



Figure 06 : Vue globale du laboratoire de Microbiologie de l'Université 20 Août 1955 – Skikda (**Prise personnelle**).

1. Matériel :

1.1. Matériel biologique :

Dans le cadre de cette recherche, trois échantillons de miel ainsi qu'un échantillon de propolis ont été collectés exclusivement dans la wilaya de Skikda, sélectionnée pour sa diversité botanique et apicole. Ces produits apicoles, issus d'une filière locale, ont été récoltés au début de l'année 2025, dans le but de préserver leur intégrité physico-chimique et microbiologique. Chaque échantillon a été soigneusement étiqueté selon sa provenance géographique et sa date de récolte, afin d'assurer une traçabilité rigoureuse lors des phases analytiques :

Miel amer (A)

Miel de la montagne (M)

Miel à l'orange (O)

Propolis (P)

2. Méthodes :

2.1. Préparation de la solution mère et des dilutions décimales :

Une masse de 20 g de miel a été diluée dans 20 ml d'eau peptonée tamponnée dans un sac de congélation stérile, puis homogénéisée manuellement pendant une minute. Une série de dilutions décimales stériles allant jusqu'à 10^{-5} a ensuite été préparée : à partir de cette solution mère, 1 ml est transféré aseptiquement dans 9 ml d'eau peptonée stérile, et ce processus est répété jusqu'à la dernière dilution (**Figure 07..**). La méthode appliquée s'appuie sur le protocole établi par **Fessard et al., (2016)**.

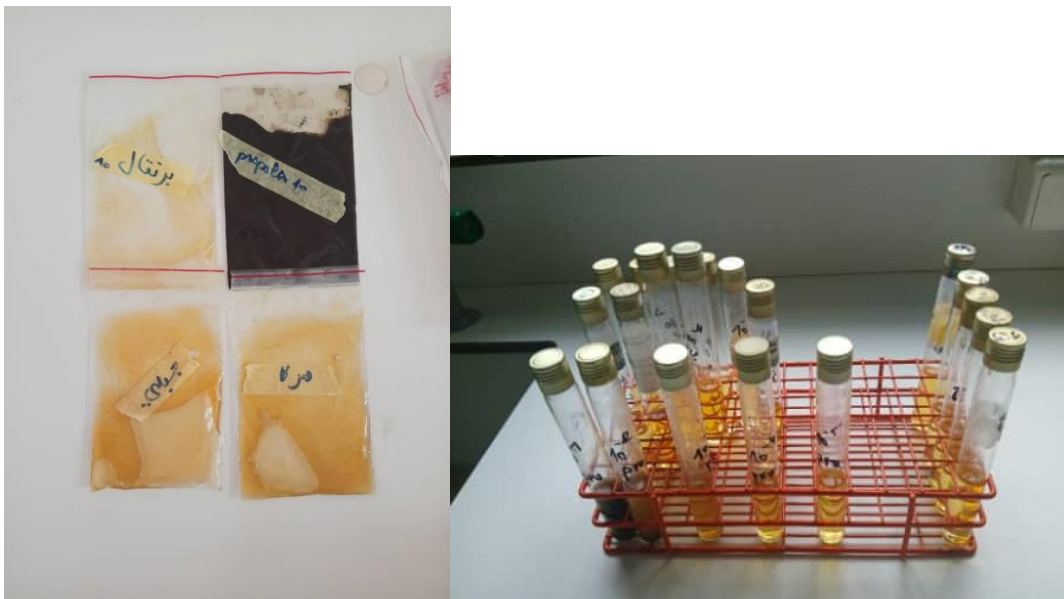


Figure 07 : Préparation de la solution mère et des dilutions décimales (**Prise personnelle**).

2.2. Isolement des bactéries lactiques :

Les dilutions 10^{-3} , 10^{-4} et 10^{-5} ont étéensemencées par étalement (0,1 ml) sur des milieux gélosés MRS et M17, solidifiés dans des boîtes de Petri. L'incubation a été effectuée à 37 °C pendant 24 à 48 heures, dans des conditions strictes d'anaérobiose, conformément aux recommandations de **Monnet et al., (2008)**. Seules les colonies présentant une morphologie caractéristique et étant Gram-positives ont été retenues pour les étapes ultérieures.

2.3. Purification des isolats de bactéries lactiques :

Les colonies sélectionnées ont été purifiées par repiquages successifs sur gélose MRS et M17 à l'aide de la méthode des stries en quatre quadrants, jusqu'à l'obtention de souches homogènes présentant une morphologie stable. Ce processus visait à garantir la pureté des isolats, conformément aux approches décrites par **Guiraud (2004)** et **Heleni et al., (2006)**.

2.4. Conservation des isolats :

Afin de préserver la viabilité des souches purifiées, celles-ci ont été conservées sur milieux inclinés MRS et M17, après une incubation de 18 heures à 30 °C. Les tubes ont ensuite été stockés à 4 °C, avec un repiquage bihebdomadaire pour éviter toute altération génétique ou physiologique des isolats (Saidi *et al.*, 2004).

2.5. Identification des souches :

L'identification bactérienne a été menée en combinant plusieurs approches : phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques, afin d'établir un profil exhaustif de chaque souche.

2.5.1. Identification phénotypique :

2.5.1.1. Examen macroscopique :

Cette étape consiste à observer les colonies bactériennes à l'œil nu, après leur croissance sur les milieux gélosés MRS et M17. L'objectif est d'évaluer plusieurs critères visuels qui peuvent orienter l'identification initiale des bactéries lactiques. Ces critères incluent la forme des colonies (circulaire, irrégulière), leur taille, la couleur (blanche, crème...), l'opacité, ainsi que l'aspect de la surface (lisse, rugueuse, brillante ou mate) et du bord (régulier ou dentelé). Ces observations, bien qu'élémentaires, permettent d'éliminer certaines souches indésirables et de sélectionner les isolats présentant un phénotype typique des bactéries lactiques (**Figure 08**).

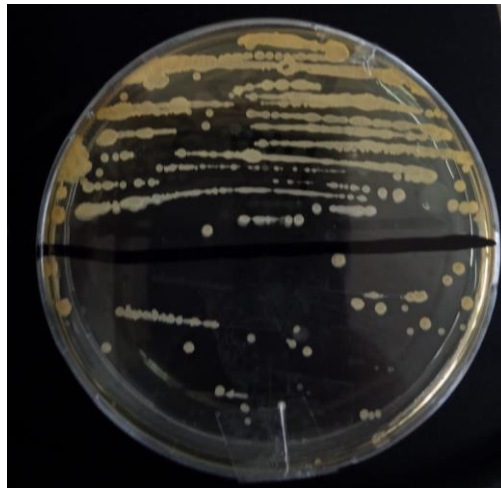


Figure 08 : Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir du miel sur milieu M17 (**Prise personnelle**).

2.5.1.2. Examen microscopique :

Après isolement, les colonies sélectionnées sont soumises à une coloration de Gram. Ce test fondamental permet d'identifier la structure de la paroi cellulaire des bactéries, et donc de distinguer les Gram positives, caractéristiques des LAB. À travers une observation au microscope optique, on peut également déterminer la morphologie cellulaire (bacille ou coque) ainsi que leur mode d'arrangement (en chaînes, en amas, en paires). Cet examen est essentiel pour confirmer l'appartenance des souches au groupe des bactéries lactiques, qui sont généralement des bacilles ou cocci Gram +, non sporulés.

2.5.2. Identification physiologique :

2.5.2.1. Croissance à différentes températures :

Ce test a pour but de déterminer la plage de température optimale de croissance pour chaque souche isolée. Les souches sont ensemencées dans des milieux liquides MRS et M17 puis incubées à trois températures différentes : 4°C, 30°C et 37°C. Après incubation, la croissance est évaluée par la turbidité du milieu (présence de troubles). Cette caractérisation est importante pour sélectionner des souches adaptées à des usages industriels spécifiques, notamment en fermentation ou en conservation à froid (Guiraud, 2003).

2.5.2.2. Thermorésistance des bactéries :

Pour évaluer leur capacité à résister à une température élevée, les isolats ont été exposés à 63,5°C pendant 30 minutes, puis incubés à 30°C pendant 24 à 48 heures. Les bactéries qui conservent une capacité de croissance après ce traitement sont dites thermorésistantes, une propriété recherchée dans certaines applications agroalimentaires où les conditions de production impliquent un stress thermique (Guiraud, 2003).

2.5.2.3. Croissance à différents pH :

Ce test vise à déterminer l'aptitude des souches à se développer dans des environnements acides ou alcalins. Des bouillons MRS et M17 ont été ajustés à quatre valeurs de pH extrêmes. Après incubation à 37°C pendant 24 heures, la croissance a été observée par la formation de troubles dans le milieu. Les bactéries lactiques, connues pour leur tolérance aux milieux acides, sont souvent capables de croître à des pH inférieurs à 5, ce qui constitue un atout pour leur utilisation en tant qu'agents conservateurs naturels (Guessas *et al.*, 2006 ; Rouisset & Bensoltane, 2006).

2.5.2.4. Croissance en milieu hypersalé NaCl :

Ce test permet d'évaluer la tolérance osmotique des souches en présence de sel. Les cultures ont été mises dans des bouillons contenant 3,5 % et 6,5 % de NaCl, puis incubées à 37°C pendant 24 h. La

croissance a été jugée en comparant la turbidité des cultures avec celle d'un témoin non inoculé. Cette propriété est particulièrement utile dans les environnements de transformation alimentaire riches en sel, comme les produits fermentés ou les charcuteries (Carr *et al.*, 2002).

2.5.3. Identification biochimique :

2.5.3.1. Test catalase :

Ce test a pour objectif de mettre en évidence la production de l'enzyme catalase, qui permet de décomposer le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) en eau et oxygène. Pour cela, une goutte de H₂O₂ est déposée directement sur une colonie fraîche. L'apparition rapide de bulles indique une activité catalasique positive.

Les bactéries lactiques, par nature, sont catalase négatives, donc l'absence de bulles est un critère d'identification important pour confirmer leur appartenance à ce groupe (Delarras, 2014).

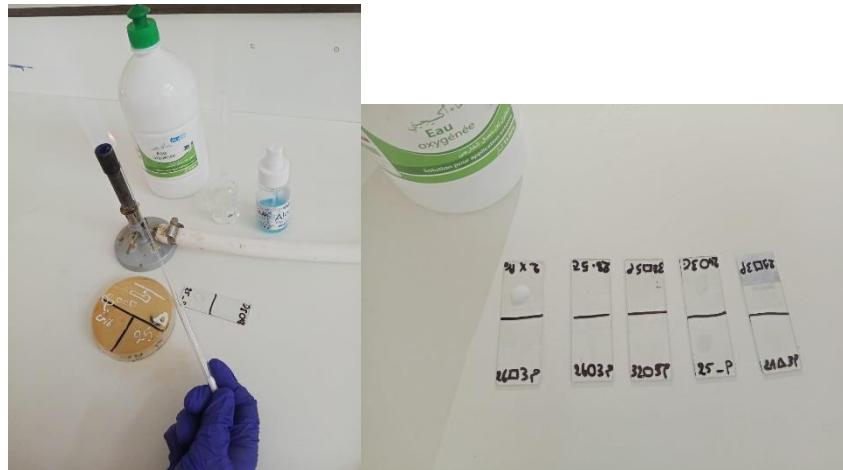


Figure 09 : La réalisation du test catalase (Prise personnelle).

2.5.3.2. Test oxydase :

Ce test permet de vérifier la présence d'enzymes cytochromes oxydases, absentes chez la majorité des bactéries lactiques. Une colonie est appliquée sur un disque imprégné de réactif oxydase, puis humidifiée. Si le disque vire rapidement au violet foncé (moins de 30 secondes), le test est positif. Chez les LAB, le test est généralement négatif, ce qui permet d'éliminer d'autres groupes bactériens aérobies (Marchal *et al.*, 1991).



Figure 10 : la réalisation du test oxydase (**Prise personnelle**).

2.5.3.3. Croissance sur le lait bleu de Sherman :

Le but de ce test est d'évaluer l'activité réductrice des souches sur un milieu nutritif contenant du lait écrémé et du bleu de méthylène. Deux concentrations du colorant (0,1 % et 0,3 %) sont utilisées. Les bactéries réductrices vont provoquer la décoloration du milieu (de bleu à incolore), témoignant d'une activité métabolique intense. Ce test donne un aperçu de la vitalité et de la performance fermentaire des isolats (**Benreguieg, 2014 ; Bekhouche, 2006**).

2.5.3.4. Test Mannitol-Mobilité :

Ce test a un double objectif :

- ❖ **Détecter la fermentation du mannitol.**
- ❖ **Évaluer la mobilité des bactéries.**

Les souches sont ensemencées par piqûre centrale dans un tube contenant un milieu rouge. Si le milieu vire au jaune, cela signifie que la souche a fermenté le mannitol (acidification). La mobilité est révélée par la diffusion du trouble loin du point d'ensemencement, formant un voile diffus (**Figure ..**). Une croissance uniquement localisée indique une souche immobile (**Gerhardt et al., 1994**).



Figure 11 : Test Mannitol Mobilité (Prise personnelle).

2.5.4. Identification technologique :

2.5.4.1. Pouvoir protéolytique :

Les souches ont été cultivées sur un milieu MRS ou M17 enrichi à 10 % de lait écrémé, puis incubées à 30°C pendant 24 à 48 h. La présence d'une zone claire autour du spot d'inoculation indique une dégradation des protéines du lait (caséines) par des enzymes protéolytiques. Ce pouvoir est particulièrement recherché dans la production de yaourts, fromages et autres produits fermentés où la texture et la saveur dépendent de l'activité enzymatique (Franciosi et al., 2009).

2.5.4.2. Pouvoir aromatisant :

La capacité à produire des composés aromatiques (notamment l'acétoïne) est testée via la réaction de Voges-Proskauer (VP). Après culture dans un milieu Clark et Lubs, on ajoute deux réactifs : VP1 (NaOH) et VP2 (α -naphthol). L'apparition d'un anneau rose à la surface indique la production d'acétoïne, molécule aux propriétés aromatiques intéressantes. Cette caractéristique technologique est utile pour améliorer le profil sensoriel des produits laitiers fermentés (Zouarari et al., 1992).

2.5.4.3. Activité antibactérienne :

Ce test est crucial pour évaluer le potentiel probiotique et conservateur des souches lactiques. Il vise à mesurer la capacité des souches à inhiber la croissance de bactéries pathogènes, telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. La méthode utilisée est celle de la diffusion sur gélose Mueller-Hinton. Le protocole comprend plusieurs étapes rigoureuses :

- Ensemencement de la gélose avec les pathogènes par écouvillonnage
- Dépôt de cultures lactiques sous forme de spots
- Incubation à 37°C pendant 24 h

- Observation des zones d'inhibition autour des spots

Une zone claire supérieure à 1 mm indique une activité antibactérienne significative Schillinger et Lucke, 1989 (**Rahal, 2005**). Ce test met en évidence la capacité des souches à produire des substances antimicrobiennes naturelles, comme les acides organiques ou les bactériocines, ce qui leur confère un intérêt en industrie alimentaire ou pharmaceutique.

RÉSULTATS ET DISCUSSION

1. Isolement des bactéries lactiques :

Lors de cette étude nous avons isolé les souches à partir de différentes variétés de miels et de la propolis (Skikda). Nous avons procédé à l'étude des caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques.

2. Purification des isolats de bactéries lactiques :

Après plusieurs repiquages successifs des isolats sur les milieux MRS et M17, nous avons obtenu des colonies pures (**Figure 12**).

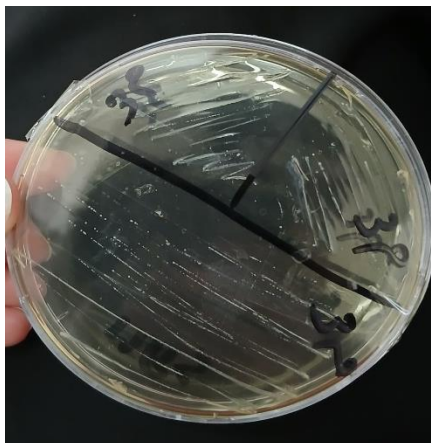


Figure 12 : Résultats de la purification des isolats sur gélose MRS à partir du miel Amer (**Prise personnelle**).

3. Conservation des isolats :

Une fois les différentes colonies purifiées, nous les avons conservées sur milieu solide MRS et M17 incliné en attendant leur identification. Après une incubation à 30°C pendant 18 heures, les tubes ont été placés à 4°C pour le stockage ultérieur (**Figure 13**).



Figure 13 : Résultats de la conservation des isolats sur milieu MRS incliné (**Prise personnelle**).

4. Identification des souches lactiques :

Les 16 isolats ont été caractérisés en examinant leurs caractères phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques.

4.1. Identification phénotypique :

4.1.1. Examen macroscopique : Les colonies développées sur le milieu M17 présentent une couleur allant du blanc crème au jaune, avec une forme circulaire ou lenticulaire et des contours réguliers ou irréguliers.

Quant aux colonies cultivées sur gélose MRS, elles se distinguent par leur couleur blanchâtre, leur forme ronde et leurs contours réguliers (**Figure14**).

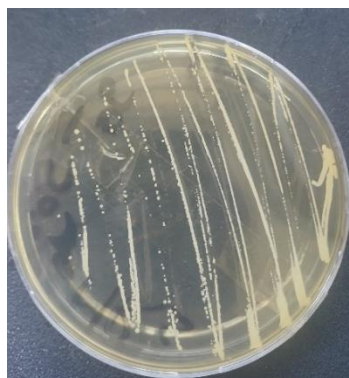


Figure 14 : Résultat de l'observation macroscopique des bactéries lactiques isolées à partir du miel (Milieu MRS) (**Prise personnelle**).

4.1.2. Examen microscopique :

La coloration de Gram révèle la présence de souches bactériennes immobiles à Gram positif et à Gram négatif, coques et bacilles avec différents modes de regroupements (monocoque, diplocoque, en amas ou en chaînette) (**Figure 15**).

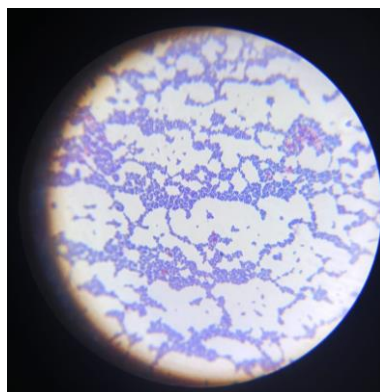


Figure 15 : Résultat de l'observation microscopique d'un isolat à partir du miel de montagne après coloration de Gram (X100) (**Prise personnelle**).

4.2. Identification physiologique :

4.2.1. Croissance à différentes températures :

La croissance est détectée par l'apparition de turbidité dans les tubes contenant le bouillon MRS. Les souches testées ont manifesté une croissance aux températures : 30°C, 37°C. Aucune croissance n'a été observée pour les différentes souches à 4°C (**Tableau 04**) (**Figure 16**).

Tableau 04 : Résultats du test de croissance à différentes températures.

Types de miel	Souches testées	Croissance à différentes températures		
		4°C	30°C	37°C
Amer	A1	-	+	+
	A2	-	+	+
	A3	-	+	+
	A4	-	+	+
	A5	-	+	+
	A6	-	+	+
	A7	-	+	+
	A8	-	+	+
	A9	-	+	+
Montagne	M1	-	+	+
Orange	O1	-	+	+
Propolis	P1	-	+	+
	P2	-	+	+
	P3	-	+	+
	P4	-	+	+
	P5	-	+	+

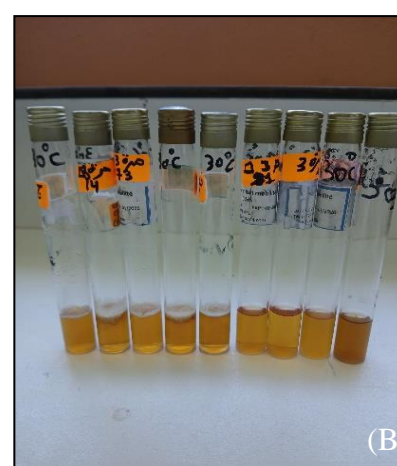
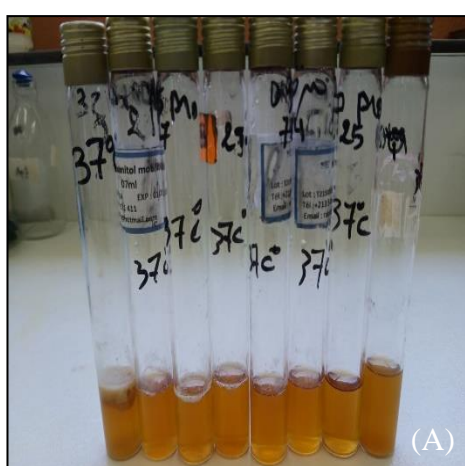


Figure 16 : Résultats du test de croissance à différentes températures des bactéries lactiques testées (A à T = 37°C), (B à T = 30°C) (Prise personnelle).

4.2.2. La thermorésistance des bactéries :

La capacité de résistance à une température de 60°C est confirmée par l'apparition de turbidité dans le milieu liquide MRS et M17. Deux souches seulement ont démontré leur résistance à cette température pendant 30 minutes (**Tableau 05**) (**Figure 15**).

Tableau 05 : Résultats du test de thermorésistance des bactéries à 60°C pendant 30 min.

Types de miel	Souches testées	Thermorésistance
Amer	A1	-
	A2	-
	A3	-
	A4	-
	A5	-
	A6	-
	A7	-
	A8	-
	A9	-
Montagne	M1	+
Orange	O1	-
Propolis	P1	-
	P2	-
	P3	-
	P4	-
	P5	+

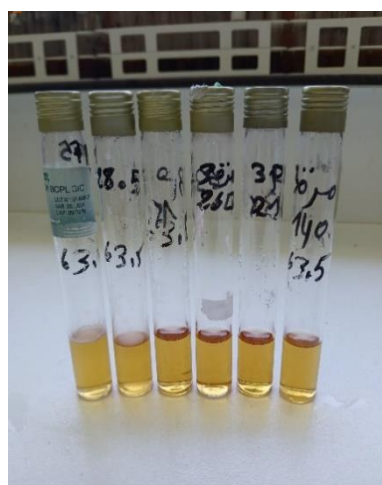


Figure 17 : Résultats du test de Thermorésistance des bactéries testées (**Prise personnelle**).

4.2.3. Croissance à différents pH :

La plupart des souches montrent une croissance optimale à un pH de 9,6, tandis que la croissance est inhibée à un pH de 4,4. Pour les deux autres valeurs de pH testées, soit 4,9 et 9, les résultats varient en fonction des souches bactériennes testées (**Tableau 06**) (**Figure 18**).

Tableau 06 : Résultats du test de croissance à différentes pH.

Types de miel	Souches testées	Croissance à différentes Ph			
		4.4	4.9	9	9.6
Amer	A1	-	-	+	-
	A2	-	-	+	+
	A3	-	-	-	+
	A4	-	-	-	+
	A5	-	-	-	+
	A6	-	-	+	+
	A7	-	-	+	+
	A8	-	-	+	+
	A9	-	-	-	+
Montagne	M1	-	-	-	+
Orange	O1	-	-	+	+
Propolis	P1	-	-	+	+
	P2	-	-	-	+
	P3	-	-	-	+
	P4	-	-	+	+
	P5	-	-	+	+

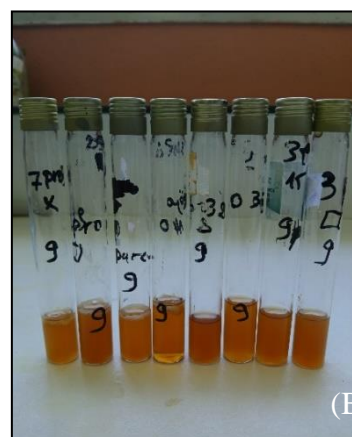
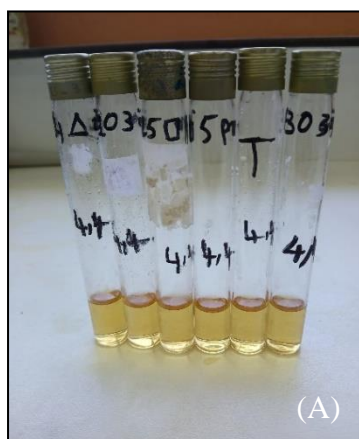


Figure 16 : Résultats du test de croissance à différents pH (A=4,4), (B=9) (**Prise personnelle**).

4.2.4. Croissance en milieu hyper salé NaCl :

La majorité des souches présentent un résultat positif dans des milieux hypersalés contenant respectivement 3,5 % et 6,5 % de NaCl (Tableau 07) (Figure 19).

Tableau 07 : Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl.

Types de miel	Souches testées	Croissance à différentes concentrations d'NaCl	
		3,5%	6,5%
Amer	A1	-	+
	A2	+	+
	A3	+	+
	A4	+	+
	A5	+	+
	A6	+	+
	A7	+	+
	A8	+	+
	A9	+	+
Montagne	M1	+	+
Orange	O1	+	+
Propolis	P1	-	+
	P2	-	+
	P3	+	+
	P4	+	+
	P5	+	+

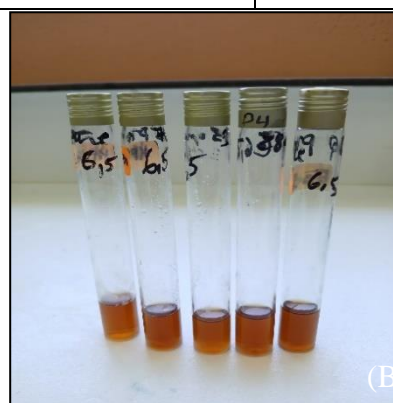
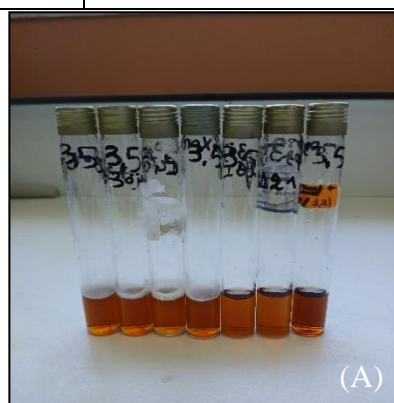


Figure 19 : Résultats du test de croissance en milieu hyper salé NaCl : (A= 3,5%) (B= 6,5%) (Prise personnelle).

4.3. Identification biochimique :

4.3.1. Test catalase :

Selon ce test, toutes les souches purifiées montrent une réaction négative à la catalase, car aucun dégagement gazeux n'a été observé après le traitement des colonies avec de l'eau oxygénée (**Tableau 08**) (**Figure 20**).

Tableau 08 : Résultats du test catalase.

Types de miel	Souches testées	Catalase
Amer	A1	-
	A2	-
	A3	-
	A4	-
	A5	-
	A6	-
	A7	-
	A8	-
	A9	-
Montagne	M1	-
Orange	O1	-
Propolis	P1	-
	P2	-
	P3	-
	P4	-
	P5	-

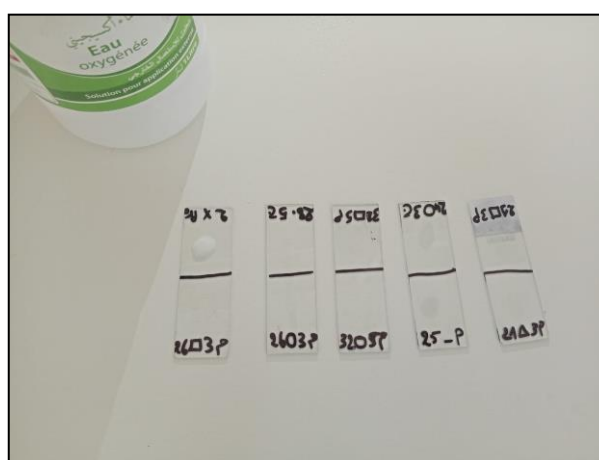


Figure 20 : Résultats du test catalase (Prise personnelle)

4.3.2. Test oxydase :

D'après ce test, la majorité des souches purifiées affichent une réaction négative à l'oxydase, car aucun changement de couleur du disque en violet foncé n'a été observé dans les 30 premières secondes mise à part les deux souches A7 et O1 (Tableau 09) (Figure 21).

Tableau 09 : Résultats du test oxydase.

Types de miel	Souches testés	Oxydase
Amer	A1	-
	A2	-
	A3	-
	A4	-
	A5	-
	A6	-
	A7	+
	A8	-
	A9	-
Montagne	M1	-
Orange	O1	+
Propolis	P1	-
	P2	-
	P3	-
	P4	-
	P5	-



Figure 21 : Résultats du test Oxydase (Prise personnelle)

4.3.3. Croissance sur le lait bleu de Sherman :

La majorité des souches ont montré une croissance positive sur le lait bleu de Sherman, aux concentrations de bleu de méthylène de 1 % et 3 %. Ce test a démontré l'aptitude des bactéries à se

développer en utilisant l'oxygène du bleu de méthylène, entraînant la décoloration de ce dernier. La formation d'un caillé blanc peut être attribuée à l'augmentation de la charge bactérienne (**Tableau 10**) (**Figures 22**).

Tableau 10 : Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman.

Types de miel	Souches testées	Croissance sur le lait bleu de Sherman	
		1%	3%
Amer	A1	-	-
	A2	+	+
	A3	+	+
	A4	+	+
	A5	+	+
	A6	+	+
	A7	-	-
	A8	-	-
	A9	-	-
Montagne	M1	+	+
Orange	O1	-	-
Propolis	P1	-	-
	P2	+	+
	P3	+	+
	P4	+	+
	P5	-	-

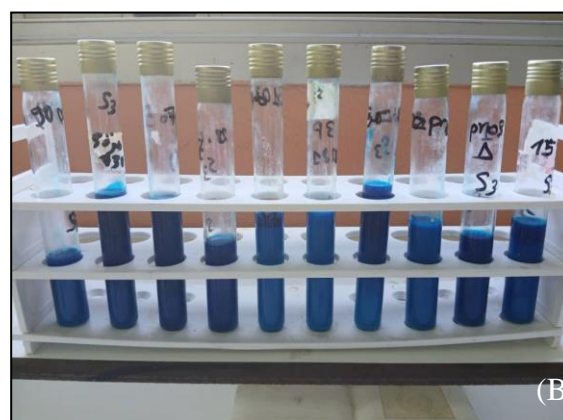
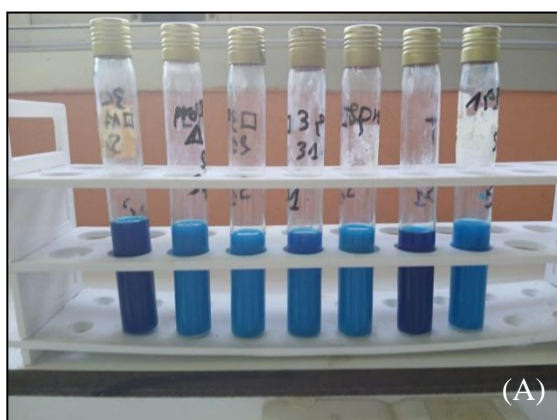


Figure 22 : Résultats du test de croissance sur le lait bleu de Sherman(A) à 1% de bleu de méthylène (B) à 3% (**Prise personnelle**).

4.3.4. Test du Mannitol-Mobilité :

Aucune des souches testées n'a révélé de mobilité ni de fermentation du mannitol (**Tableau 11**) (**Figure 23**).

Tableau 11 : Résultats du test Mannitol mobilité.

Types de miel	Souches testées	Mannitol mobilité.	
		Mannitol	Mobilité
Amer	A1	-	-
	A2	-	+
	A3	-	+
	A4	-	+
	A5	-	+
	A6	-	+
	A7	-	+
	A8	-	+
	A9	-	+
Montagne	M1	-	+
Orange	O1	-	+
Propolis	P1	-	+
	P2	-	+
	P3	-	+
	P4	-	+
	P5	-	+



Figure 23 : Résultats du test Mannitol-Mobilité (Prise personnelle).

4.4. Identification technologique :

4.4.1. Pouvoir protéolytique :

Toutes les souches testées ont montré une activité protéolytique se manifestant par la formation d'un halo clair autour des colonies ensemencées, résultant de la dégradation de la caséine. La mesure de diamètre de cette zone claire permet de quantifier l'activité protéolytique de chaque souche (**Tableau 12**) (**Figure 24**).

Tableau 12 : Résultats de l'activité protéolytique des souches testées sur milieu M17 et MRS additionné de lait écrémé à 10%.

Types de miel	Souches testées	Activité protéolytique	Diamètres (mm)
Amer	A1	+	25
	A2	+	31
	A3	+	2
	A4	+	29
	A5	+	25
	A6	+	17
	A7	+	2
	A8	+	21
	A9	+	24
Montagne	M1	+	3
Orange	O1	+	3
Propolis	P1	+	15
	P2	+	3
	P3	+	27
	P4	+	25
	P5	+	2



Figure 24 : Zones claires traduisant l'activité protéolytique des souches testées (**Prise personnelle**).

4.4.2. Pouvoir aromatisant :

Les résultats obtenus sont représentés dans le **tableau 13**. D'après les résultats nous remarquons que 13 souches sont capables de produire l'acétoïne ou un anneau rouge clair a apparu dans le milieu Clark et Lubs, Cela indique leurs capacités à produire des substances aromatisantes (l'acétoïne).

Les autres souches sont incapables de produire l'acétoïne ce qui est traduit par l'absence de formation de l'anneau rouge dans le milieu **Tableau 13 et Figure 25**

Tableau 13 : Résultats du pouvoir aromatisant.

Types de miel	Souches testées	Pouvoir aromatisant	
		Après l'incubation	Après VP1-VP2
Amer	A1	-	+
	A2	-	+
	A3	-	+
	A4	-	+
	A5	-	-
	A6	-	+
	A7	-	+
	A8	-	+
	A9	-	+
Montagne	M1	-	+
Orange	O1	-	+
Propolis	P1	-	+
	P2	-	-
	P3	-	+
	P4	-	-
	P5	-	+

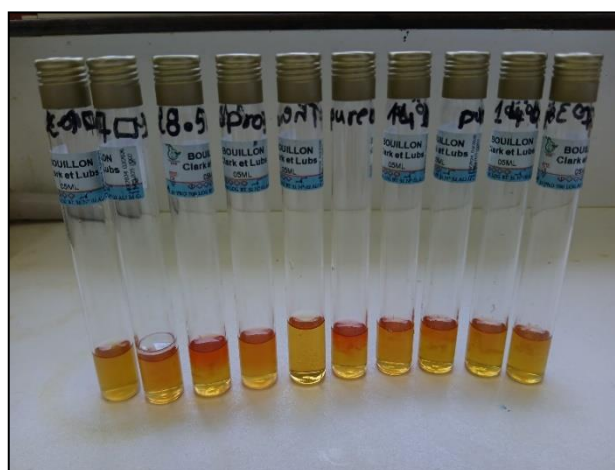


Figure 25 : Résultats du test aromatisant après l'addition de VP1 et VP2 (Prise personnelle).

5. Identification des bactéries isolées : Le tableau suivant englobe un récapitulatif de tous les tests effectués afin de caractériser l'ensemble des souches isolées dans le but de les identifier.

Tableau 14 : Caractérisation des Bactéries lactiques présentes dans le miel.

Type de miel	Souche testée	Croissance à différentes températures			Thermorésistance	à Croissance différents pH				à Croissance différents NaCl		Test catalase	Test oxydase	Croissance sur lait bleu de sherman		Mannitol mobilité		Pouvoir aromatisant		Pouvoir protéolytique
		4°C	30°C	37°C		4.4	4.9	9	9.6	3,5%	6,5%			1%	3%	Mannitol	mobilité	Après 1 ^{re} incubati	Après VP1-VP2	
Amer	A1	-	+	+	-	-	-	+	-	-	+	-	-	-	-	-	-	+	+	
	A2	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	A3	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	A4	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	A5	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
	A6	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	A7	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	
	A8	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
	A9	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
Montagne	M1	-	+	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
Orange	O1	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	+	-	-	-	+	-	+	
Propolis	P1	-	+	+	-	-	-	+	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	+	
	P2	-	+	+	-	-	-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	-	-	
	P3	-	+	+	-	-	-	-	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	P4	-	+	+	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+	+	-	+	-	+	
	P5	-	+	+	+	-	-	+	+	+	+	-	-	-	-	-	+	-	+	

D'après ce tableau et en étudiant les différents caractères des bactéries étudiées, nous avons pu identifier 7 souches lactiques (Tableau 15.).

La majorité des bactéries lactiques isolées proviennent du miel Ames avec une souche isolée du miel de montagne et une souche à partir de la propolis. Les genres identifiés sont en majorité des *Lactobacillus* spp., *Pediococcus*, *Enterococcus* et le *Leuconostoc*. Une identification moléculaire confirmera le genre et espèce.

Tableau 15 : Bactéries lactiques identifiées.

Souche	Catalase / Oxydase	Croissance pH acide / NaCl 6.5%	Mannitol / Mobilité	Pouvoir aromatisant / protéolytique	Hypothèse de genre
A2	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol + / mobilité -	+ / -	<i>Lactobacillus</i> spp.
A3	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol + / mobilité -	+ / -	<i>Lactobacillus</i> spp.
A5	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol + / mobilité -	+ / -	<i>Lactobacillus</i> spp. ou <i>Pediococcus</i>
A6	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol - / mobilité -	+ / -	<i>Leuconostoc</i> spp.
A8	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol - / mobilité -	+ / -	<i>Pediococcus</i> ou <i>Enterococcus</i>
M1	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol + / mobilité +	+ / -	<i>Enterococcus faecium</i>
P3	Catalase -, Oxydase -	pH 4.4 / NaCl 6.5 % : +	Mannitol + / mobilité +	+ / -	<i>Lactobacillus plantarum</i> ou <i>Weissella</i>

6. Résultats de l'activité antibactérienne :

L'évaluation du pouvoir antibactérien des isolats lactiques a été étudié vis-à-vis de deux souches cliniques, à savoir *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. L'inhibition se traduit par la formation de zones claires autour des souches ensemencées par spot. Les diamètres des zones d'inhibitions (Zi) sont représentés dans (le tableau 15) et (la figure 26).

Tableau 16 : Les diamètres des zones d'inhibition des souches lactiques vis-à-vis des souches pathogènes.

Souche lactique \ Souche cible	A1	A4	A5	A6	A7	A9	P1	P2	P3	P4
<i>E. coli</i>	25 mm	13 mm	/	20 mm	15 mm	55 mm	/	25 mm	30 mm	30 mm
<i>Klebseilla</i>	5 mm	8 mm	10 mm	15 mm	25 mm	19 mm	9 mm	6 mm	7 mm	9 mm
<i>S. aureus</i>	10 mm	5 mm	/	8 mm	9 mm	/	7 mm	/	3 mm	6 mm



Figure 26 : la zone d'inhibition d'*E.coli* par la souche A9 (Prise personnelle).

*Conclusion et
perspective*

L'étude menée sur les bactéries lactiques isolées à partir de différents miels algériens (miel amer, miel de montagne, miel d'orange et propolis) a permis de mettre en évidence une biodiversité microbienne remarquable, souvent négligée dans les travaux classiques. Les résultats obtenus à travers une série d'analyses phénotypiques, physiologiques, biochimiques et technologiques ont révélé l'existence de souches présentant des caractéristiques intéressantes à plusieurs niveaux. La majorité des isolats ont démontré une croissance optimale à 30°C et 37°C, une bonne résistance à des pH élevés (jusqu'à 9,6), à des concentrations salines importantes (jusqu'à 6,5 % NaCl), ainsi qu'une capacité d'adaptation à des stress thermiques modérés (60°C). Ces propriétés physiologiques traduisent une robustesse métabolique qui confère à ces bactéries un avantage compétitif dans des environnements hostiles, mais aussi une aptitude à être intégrées dans des procédés industriels, notamment dans la fermentation contrôlée de produits alimentaires.

Sur le plan biochimique, l'ensemble des souches testées étaient catalase- et oxydase-négatives, critère fondamental dans la classification des bactéries lactiques. De plus, la majorité des isolats ont révélé une capacité à fermenter le mannitol, témoignant de leur potentiel métabolique et de leur aptitude à métaboliser certains sucres complexes. D'un point de vue technologique, plusieurs souches ont affiché une activité protéolytique mesurable, traduite par des halos clairs sur milieux enrichis, ce qui laisse envisager leur intégration dans des produits laitiers fermentés pour améliorer la digestibilité et la qualité nutritionnelle. L'aspect organoleptique n'est pas en reste, puisque certaines souches ont également démontré un pouvoir aromatisant par la production d'acétoïne, molécule clef dans l'arôme typique des produits fermentés.

Suite à l'analyse de tous ces caractères, l'identification des souches nous a mené à mettre en évidence 7 souches lactiques A2, A3, A5 (miel amer) et P3 représente le genre *Lactobacillus* (P3 *Lactobacillus plantarum*) ; A6 *Leuconostoc* sp. ; A8 le genre *Pediococcus*.

Ce résultat prouve que le miel reste un excellent réservoir pour les bactéries lactiques.

L'un des résultats les plus significatifs de ce travail réside dans la mise en évidence d'une activité antimicrobienne prononcée chez certaines souches contre des agents pathogènes tels que *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, ou encore *Klebsiella pneumoniae*. Ces propriétés antibactériennes, couplées à la résistance aux conditions physiologiques extrêmes, positionnent ces bactéries comme des candidates prometteuses dans la conception de bioconservateurs naturels, ou de probiotiques à usage thérapeutique ou préventif.

Toutefois, bien que les résultats soient encourageants, plusieurs pistes restent à explorer afin de

confirmer l'exploitation potentielle de ces souches à plus grande échelle. Il serait primordial de procéder à une caractérisation moléculaire avancée, notamment via le séquençage du gène 16S rRNA, pour déterminer avec exactitude l'identité taxonomique des isolats et identifier d'éventuelles espèces nouvelles. De plus, une évaluation fonctionnelle *in vitro* et *in vivo* s'impose pour valider leurs effets bénéfiques sur le microbiote intestinal, leur stabilité dans le tractus digestif, ainsi que leur sécurité d'utilisation. L'intégration de ces souches dans des produits alimentaires expérimentaux (yaourts, boissons fermentées, fromages) permettrait également d'en évaluer la performance technologique dans des conditions proches de la réalité industrielle.

Enfin, la mise en place d'une plateforme de valorisation des souches locales, en collaboration avec les secteurs de l'agroalimentaire et de la santé, pourrait représenter une avancée majeure dans l'exploitation durable de la biodiversité microbienne algérienne. Ce travail constitue donc une base solide, mais non exhaustive, ouvrant la voie à des recherches appliquées, innovantes et porteuses de retombées socio-économiques et scientifiques à l'échelle nationale et internationale.

***RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES***

A

Aguirre, M. et Collins, M. D. (1993). Lactic acid bacteria and human clinical infection. *Journal of Applied Microbiology*, 75 : 95–107.)

Ahn, J.H., Hong, I.P., Bok, J.I., Kim, B.Y., Song, J., Weon, H.Y. 2012. Pyrosequencing analysis of the bacterial communities in the guts of honeybees *Apis cerana* and *Apis mellifera* in Korea. *J. Microbiol.* 50 :735–745)

Allouche F.N., Hellal A., Laraba A., (2010). Etude de l'activité antimicrobienne des souches de lactobacilles thermophiles utilisées dans l'industrie laitière. *Nature et Technologie*, (3) :13- 20.

Anderson, K. E., Ricigliano, P. J., Mott, T. M., Copeland, H. A., Floyd, L. K., & Maes, B. A. (2013). Distinct phage communities in the honeybee gut microbiota modulate microbiome diversity and function. *Applied and Environmental Microbiology*, 79(13) : 4005-4016.

B

Badis A ., Laouabdia-Sellami N ., Guetarni D ., Kihal M ., Ouzrout R. (2005). Caractérisation phénotypique des bactéries lactiques isolées à partir de lait cru de chèvre de deux populations caprines locales "arabia et kabyle". *Sciences & Technologie C* (23) :30-37.

Belina-Aldemita, M. D., Schreiner, M., and D'Amico, S. (2020). Characterization of phenolic compounds and antioxidative potential of pot-pollen produced by stingless bees (*Tetragonula biroi* Friese) from the Philippines. *J. Food Biochem.* 44 **Benreguieg M., (2014).** Propriétés antibactériennes et probiotiques de bactéries lactiques isolées à partir de lait de vache, de chèvre et de brebis dans la région de l'ouest algérien. Thèse de doctorat, Université de Mostaganem.

Bekhouche F. (2006). Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes : 1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturonase, Thèse : Génie alimentaire, Institut de la nutrition de l'alimentation et des technologies agro-alimentaires, Université Mentouri, Constantine, Algérie, p29, 31.

Bekhouche F., 2006 : Bactéries lactiques du lait cru de vache et Microorganismes pectinolytiques des olives noires et vertes (1. Isolement et Identification biochimique. 2. Evaluation et Optimisation de la production d'enzyme polygalacturona). Thèse de doctorat. Université de Mentouri Constantine. Pp : 149. **Birollo, G.A., J.A. Reinheimer and C.G. Vinderola. (2001).** Enterococci vs. nonlactic acid microflora as hygienic indicators in sweetened yogurt. *Food Microbiol.* 18: 597–604.

Brenner, D. J., Krieg, N. R., Garrity, G. M., et Staley, J. T. (2005). Bergey's manual of systematic bacteriology: The proteobacteria Springer.

Brøkke, H., A. Flåøyen, and S.O. Johnsen. (2011). Honeybee lactic acid bacteria as a potential source for natural antimicrobial compounds. *Apidologie*, 42(4) : 442-450.

Bogdanov, S., Ruoff, K., Oddo, L.P. Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys, (2004).

C

Chollet. M Dominik. G,(2017), Determination of menaquinone production by *Lactococcus* spp. and propionibacteria in cheese.

Cai, Y., J. Yang, H. Pang and M. Kitahara. (2010). *Lactococcus fujiensis* sp nov., a lactic acid bacterium isolated from vegetable. *IJSEM*. In press. **Cheng, P., Chang, P., and Koppenhöfer, H. (2017).** Seasonal variation in the gut microbiota of worker honeybees (*Apis mellifera* L.). *Applied Microbiology and Biotechnology*, 101(12):4739-4750.

Chollet. M Dominik. G,(2017), Determination of menaquinone production by *Lactococcus* spp. and propionibacteria in cheese.

Corby-Statham, G., Atrée, A., Ng, A., & Campbell, E. (2013). Key role of the honeybee gut microbiome in sugar metabolism and resistance to pathogens. *PLoS One*, 8(11). **Codex Stan 12-1981** : Honey/THAI AGRICULTURAL STANDARD TAS 8003-2013.

D

Delarras C., (2014). Pratique en microbiologie de laboratoire recherche de bactéries et de levures-Moisissures. Editions Lavoisier. Pp: 65-66-67-111-113-114.

Delcenserie, V., F. Gavini, H. Beerens, O. Tresse, C. Franssen and G. Daube. (2007). Description of a new species, *Bifidobacterium crudilactis* sp. nov., isolated from raw milk and raw milk cheeses. *Syst. Appl. Microbiol.* 30: 381–389.

E

E. Hajj Semaan, H. Dib, R. Abi Ramia et M. Chedid (2010). Caractérisation chimique et qualité bactériologique de produits laitiers caprins traditionnels libanais, *Lebanes science journal*, Libon, Vol.11, No.1.

Elliot, J.A., M.D. Collins, N.E. Pigott and R.R. Facklam. (1991). Differentiation of *Lactococcus lactis* and *Lactococcus garvieae* from humans by comparison of whole-cell protein patterns. *J. Clin. Microbiol.* 29: 2731–2734.

F

Fanny Balas. Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. *Médecine humaine et pathologie.* (2015). dumas-01293955 **Fessard A, Bourdon E, Payet B, Remize F.** Identification, stress tolerance, and antioxidant activity of lactic acid bacteria isolated from tropically grown fruits and leaves. *Can J Microbiol.* (2016);62(7) : 550-561.

Foulquie Moreno, M.R., Sarantinopoulos, P., Tsakalidou, E., & De Vuyst, L. (2006). *The Journal of Applied Microbiology*, 100(6), 1173-1181. **Franciosi E., Settanni L., Cavazza A., Poznanski E., (2009).** Biodiversity and technological potential of wild lactic acid bacteria from raw cows' milk. *International Dairy Journal.* 19 (1): 3–11.

G

Gerhardt P., Murray R.G.E., Wood W.A., Krieg N.R., (1994). Method for general and molecular bacteriology. American Society for Microbiology. Pp: 518.

Gilliland S.E.(1985). Role of starter culture bacteria in food preservation. *Bacteria starter cultures for food.* Gilliland S. E. Boca Raton, USA, CRC Press Inc: 175 185

Gleiter, R.A., Horn, A., & Kühn, W. (2006). Influence du type et de l'état de cristallisation sur l'activité aqueuse du miel. *Food Chemistry*, 96: 441-445.

Guessas B., Hadadji M., Saidi N. and Kihal M., (2006).Inhibition of *Staphylococcus aureus* Growth by Lactic Acid Bacteria in Milk. *Dirasat, Agricultural Sci.* 32: (3): 304-312

Guillaume, É., Le Maréchal, P. And Baratti-Elbaz, C. (2018). Fiche 21. Fermentations. Dans : , *Biochimie* (pp. 152-161). Paris: Dunod.

Guiraud JP. (2012). *Microbiologie Alimentaire*, édition DUNOD, Paris, France, p 92-139- 140-141.

Guiraud J.P., Rosec J.P., (2004). *Pratique des normes en microbiologie alimentaire.* Afnor. Saint-Denis la plaine, Paris, Pp : 300. **Guiraud J.P., (2003).** *Microbiologie alimentaire.* Tec &Doc, Dunod. Paris. Pp : 90-292.

H

Heleni S., Lefki P., Nikolaos T et Evanthia L.T.2006. Population, types and biochemical activities of aerobic bacteria and lactic acid bacteria from the air of cheese factories. *Int.J.Dairy technol.* 59: (3200): 208.

Holzappel, W.H., C. Guigas and C.H.M.A.P. Franz. (2002). General overview of the enterococci. In Programme and Book of Abstracts from Conference Enterococci in Foods, 30–31 May, Berlin, Germany, p. 1.

Homrani M. (2020). Caractérisation physico-chimique, spectre pollinique et propriétés biologiques de miels algériens crus de différentes origines florales. Thèse de doctorat. Univ abdelhamid ben badis Mostaganem. Pp : 253.

J

Jean-Prost P, Medori P, Le Conte Y. Apiculture: connaître l'abeille - conduire le rucher. Paris: Editions Tec & Doc; (2005).

Jouve F., (1997). Le grand livre du miel des abeilles. ED : Solar; Paris. Pp : 87-112

Johansson, P., L. Paulin, E. Vihavainen, N. Salovuori, A. Edward, K. J. Björkroth and P. Auvinen. (2011). Genome sequence of a food spoilage lactic acid bacterium *Leuconostoc gasicomitatum* LMG 18811T in association with specific spoilage reactions. *Appl. Environ. Microbiol.* 77: 4344–4351

K

Khan, S. U., Anjum, S. I., Rahman, K., Ansari, M. J., Khan, W. U., Kamal, S. (2018). Honey: Single food stuff comprises many drugs. *Saudi J. Biol. Sci.* 25, 320.

Kleerebezem, M., J. Boekhorst, R. van Kranenburg, D. Molenaar, O.P.

Kuipers, R. Leer, R. Tarchini, S.A. Peters, H.M. Sandbrink, M. Fiers, W. Stiekema, R.M.K. Lankhorst, P.A. Bron, S.M. Hoffer, M.N.N. Groot, R. Kerkhoven, M. de Vries, B. Ursing, W.M. de Vos and R.J. Siezen. (2009). Complete genome sequence of *Lactobacillus plantarum* WCFS1. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 100 (4): 1990 –1995.

Kaskoniene V., Venskutonis, P.R., (2021). Honeydew honey: Determination of its origin, composition, and antioxidant properties. *Food Research International.* 140, 109879

L

Labioui H ., Laaroussi E.M ., El yachioui M ., Ouhsine M. (2005).Sélection de souche des bactéries lactiques antibactérienne, Bull. Soc Pharm, Bordeaux, France. N°144 237-250.

Larpent J-P., (1996). Les bactéries lactiques In Microbiologie alimentaire : Aliments fermentés et fermentation alimentaires. Microbiologie alimentaire: tome 2 -Aliments fermentés et fermentations alimentaires Volume 2 de Microbiologie alimentaire. Pp : 215-301

Lauková, A., M. Mareková and P. Javorský. (1993). Detection and antimicrobial spectrum of a bacteriocin-like substance produced by *Enterococcus faecium* CCM 4231. Lett. Appl. Microbiol. 16: 257–260.

Leonard L., (2013). Evaluation du Potentiel Bioprotecteur des Bactéries Lactiques Confinées dans une Matrice Polymérique. Thèse de Doctorat. Discipline : Sciences de l'Alimentation : Université de Bourgogne. 8-18.

Leroi, F. (2010). Occurrence and role of lactic acid bacteria in seafood products. Food microbiology, 27, 698–709.

Luis G. Bermúdez-Humarán et Philippe Langella,(2009) Utilisation des bactéries lactiques comme vecteurs vaccinaux.

M

Mami A., Kihal M., Hamedi A.R ., Henni J.E ., Kerfouf A. (2010). Antibacterial activity of *Lactobacillus plantarum* isolated from algerian raw goat's milk against *Staphylococcus aureus*, les technologies de laboratoire, 2010, volume 5, N° 21.

Mandal, M. D., & Mandal, S. (2011). Honey: its medicinal property and antibacterial activity. Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine, 1(2) : 154-160. Marchal N., Bourdon J.L et Richard C.L., (1991). Les milieux de culture pour l'isolement et l'identification biochimique des bactéries .3 ème Ed., Doin éditeurs, Paris. Pp : 222-293

Mechai A. (2009). Isolement, caractérisation et purification de bactériocines produites par des bactéries lactiques autochtones: études physiologiques et biochimiques, Thèse : Faculté des sciences, Université Badji-Mokhtar- Annaba, Algérie, p 05, 12, 13, 92-95.

Monnet C., Latrille E., Béal C., Corrieu G., (2008). Croissance et propriétés fonctionnelles des bactéries lactiques. In Corrieu G. et Luquet F.M. Bactéries lactiques, de la génétique aux ferments. Tec & Doc, ED : Lavoisier, Paris. Pp : 511-593.

Mărgăoan, R., Cornea-Cipcigan, M., Topal, E., and Kösoglu, M. (2020). Impact of fermentation processes on the bioactive profile and health-promoting properties of bee bread, mead and honey vinegar. Processes. 8, 9.

N

Ngunjiri, J., & Gichure, J. (2016). Lactic acid bacteria in honey and their effect on honey preservation. "African Journal of Microbiology Research", 10(5) : 151-158.)

P

Pajor, M., Worobo, R.W., Milewski, S., Szweda, P. (2018). The Antimicrobial Potential of Bacteria Isolated from Honey Samples Produced in the Apiaries Located in Pomeranian Voivodeship in Northern Poland. International journal of environmental research and public health.15(9).

Papagianni, M., Papamichael, E.M. (2011). Current Opinion in Biotechnology, 22(2), 174-183.

R

Raweh H.S.A., Badjah-Hadj-Ahmed A.Y., Iqbal J., Alqarni A.S. (2023). Physicochemical composition of local and imported honeys associated with quality standards. Foods. 12(11): 2181.

S

Sampo Lahtinen, Arthur C. Ouwehand, Seppo Salminen, Atte von Wright ,(2012), Lactic Acid Bacteria : microbiological and functional aspects International Standard Book Number-13 978-1-4398-3678-1.

Saidi N., Guessas B., Bensalah F., Badis A., Hadadji M., Henni D.E., Salminen S .,Gorbach S ., Lee Y.K ., Benno Y., (2004). Human studies on probiotics: what is scientifically proven today.In: Lactic acid bacteria: microbiological and functional aspects (Salminen S., Wright A.V. et Ouwehand A.). 3e Ed., Marcel Dekker, Inc. New York.Pp : 515- 530.

Simonová et Lauková(2007). Bacteriocin activity of enterococci from rabbits. Vet. Res. Commun.

31: 143–152.

Souza, E. C. A., Menezes, C., and Flach, A. (2021). Stingless bee honey (Hymenoptera, Apidae, Meliponini): a review of quality control, chemical profile, and biological potential. *Apidologie*. 52: 113–132.

Suba, S., Vijayakumar, S.V., Vasantharaj, S., Rajeshkumar, M., Munusamy, S., & Solomon, A.A. (2022). Lactococcus spp. mediated MgO nanoparticles: Assessment of antimicrobial and anticancer activities against intestinal disorder.

Strompfová, V., D. Mudroňová and A. Lauková. (2003). Effect of bacteriocin-like substance produced by *Enterococcus faecium* EF55 on the composition of avian gastrointestinal microflora. *Acta Vet. Brno* 72: 559–564.

T

Tabak S ., Bensoltane A. (2012). L'activité antagoniste des bactéries lactiques (*Streptococcus thermophilus*, *Bifidobacterium bifidum* et *Lactobacillus bulgaricus*) vis à vis de la souche *Helicobacter pylori* responsable des maladies gastroduodénales, *Nature & Technologie* 6 :71-79. 123.

Trias, R. (2008). Lactic acid bacteria as bioprotective agents against foodborne pathogens and spoilage microorganisms in fresh fruits and vegetables. PhD thesis, University of Girona.

V

Van de Guchte, M., Serror, P., Chervaux, C., Smokvina, T., Ehrlich, S. D., et Maguin, E. (2002). Stress responses in lactic acid bacteria. *Antonie van Leeuwenhoek*, 82: 187–216.

W

Web 01: Miel suisse Bettens

Web 02: L'APICULTURE EN ALGERIE – Agronomie

Web 03: Les Trésors de la ruche/ le miel

Z

Zheng, J., Wittouck, S., Salvetti, E., Franz, C. M. A. P., Harris, H. M. B., Mattarelli, P., Ouwehand, A. C., Pot, B., Vandamme, P., Walter, J., Watanabe, K., Wuyts, S., Felis, G. E., Gänzle, M. G., & Lebeer, S. (2022). A taxonomic note on the genus *Lactobacillus*: Description of

23 novel genera, emended description of the genus *Lactobacillus* Beijerinck 1901, and union of Lactobacillaceae and Leuconostocaceae. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*, 72(1), 005298.