

---

République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique  
Centre Universitaire Belhadj Bouchaib d'Aïn-Témouchent



Institut des sciences

Département des sciences de la nature et de la vie

### **Mémoire**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en biologie

Option : Microbiologie appliqué

Présentée par :

**Mlle FIZAZI Imene**

**Mme ZEDDAM Fatima Zohra**

---

Etude de l'effet antibactérien du miel sur des souches  
d'origine hospitalière

---

Encadrant : Mme M'hamedi

Maitre de conférence "B" à C.U.B.B.A.T.

Soutenu en 2018

**Devant le jury composé de :**

---

Président : Mr Ziane M « MCA »

C.U.B.B.A.T

Examineur : Mme Lachachi M « MCB »

C.U.B.B.A.T

Encadrant : Mme M'hamedi I « MCB »

C.U.B.B.A.T

---

## Remerciement

*Nous tenons tout d'abord à remercier Dieu le tout puissant et miséricordieux, qui nous a donné la force et la patience d'accomplir ce Modeste travail.*

*La première personne que nous tenons à remercier est notre encadrant Madame **Imène M'HAMEDI**, pour l'orientation, la confiance ainsi que la patience qui a constitué un apport considérable, sans lequel ce travail n'aurait pas pu être mené au bon port. Nous la remercions d'avoir contribué à la réalisation de celui-ci dans les conditions les plus extrêmes et pour ses bonnes explications qui nous ont éclairé le chemin de la recherche. Veuillez trouver ici cher Madame un hommage vivant à votre haute personnalité ainsi que l'expression de notre profonde estime.*

*On tient également à remercier **Mr ZIANE**, maitre de conférence «A» au centre universitaire **BELHADJ Bouchaïb** pour l'honneur qu'il nous a fait en acceptant de présider notre jury.*

*On est très sensible à l'honneur que nous fait madame **LACHACHI.M**, maitre de conférence «B» au centre universitaire **BELHADJ Bouchaïb** d'avoir accepté d'examiner ce travail. On lui adresse nos sincères remerciements.*

*On tient à remercier le personnel du laboratoire Khaled et Chokria du centre universitaire **BELHADJ Bouchaïb d'Ain Temouchent***

*A tous nos enseignants qui nous ont initiés aux valeurs authentiques, en signe d'un profond respect*

**Imene e Fatima Zohra**

## Dédicace

### *Imene*

*Ce modeste travail que je dédie à :*

*A toi Mon Grand Père, mon cher Papy, qui reste toujours mon premier maître dans la vie, en témoignage de votre affection, vos sacrifices et vos précieux conseils qui m'ont conduit à la réussite dans tout ce que je fais ; Je te tiens particulièrement un grand remerciement et que dieu te protège Inchaàlah.*

*A la plus belle perle du monde...ma tendre mère,*

*L'étoile de ma vie qui fait briller mes jours les plus sombres, qui réchauffe mon cœur quand il fait froid. Aucune langue ne peut exprimer ta beauté et ta force. Mon respect et ma reconnaissance pour tout ce que tu as sacrifié pour ma formation, ma réussite et mon bien être.*

*A celles qui partagent ma vie dans le meilleur et dans le pire, ma sœur Zoubida, merci de m'avoir encouragée le long de ce travail. Que dieu te garde pour moi.*

*A ma Grand-mère, mes tantes (Fatima, Soraya, Rachida, Khaira, Rahmouna, et Hayet), Mes oncles Said et Hamid, Mes Chères cousins cousines, merci de faire partie de ma vie, aussi pour leur compréhension et encouragement.*

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

*A mes amies Assia, Bouchra, Imene, Radia, Zahra pour tous les bons moments ainsi que les moments de désespoir que nous avons partagé.*

## Dédicace

**Fatima Zohra**

*A la mémoire de la plus belle personne que Dieu a créée sur terre, À cette source de tendresse, de patience et de générosité, ma défunte mère.*

*A la mémoire de mon frère qui nous as quitté très jeune.*

*A mon très cher père que dieux le garde pour nous*

*A mes chères sœurs (Meriem, Nadia, Houaria, Karima, Naima) qui m'ont soutenu tout au long de mon parcours sans oublier mon frère Saïd et sa femme Houaria*

*A mes nièces et neveux qui ont tous fait pour me décourager  
A ma collègue madame BELARBI Bakhta qui m'a soutenu pour que je puisse finir mes études  
sans oublier DIDI Asma*

*A mon binôme Imene qui m'a beaucoup aidé et qui a été très patiente tout au long du projet*

*A tous mes amis et collègues*

# Table des matières

## Liste des abréviations

## Liste des figures

## Liste des tableaux

## Introduction.....1

## Première partie : Synthèse bibliographique.....2

### 1. Généralité sur le miel.....2

1.1.L'origine du miel.....2

1.2.La formation du miel.....2

1.3.Les différents types de miel.....2

1.4.Le miel Algérien.....3

2. La Composition et les caractéristiques du miel.....4

2.1.La composition chimique du miel.....4

2.2.Les contaminants et les composés toxiques potentiels.....5

3. Les caractéristiques du miel.....6

3.1.Les caractéristiques organoleptiques.....6

3.2.Les caractéristiques nutritionnelles.....7

3.3.Les caractéristiques thérapeutiques.....7

4. L'activité antimicrobienne du miel.....10

5. Les mécanismes antimicrobiens.....10

5.1.L'osmolarité.....10

5.2.Le Ph acide.....11

5.3.Le peroxyde d'hydrogène .....11

5.4.Le système non peroxyde.....11

5.5.La Méthylglyogxal.....12

5.6. La Defensine-1.....12

## Deuxième partie : Matériel et méthodes

1. Lieu d'étude.....13

2. L'origine des miels.....13

3. Les souches bactériennes.....14

3.1. Le Choix des souches bactériennes.....14

3.2. Provenance des souches microbiennes.....14

4. Ensemencement des souches bactériennes.....15

|   |    |
|---|----|
| 5. Confirmation de l'identification.....                      | 15 |
| 6. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques..... | 15 |
| 7. L'évaluation de l'activité antibactérienne.....            | 16 |
| 7.1 Préparation des échantillons du miel.....                 | 16 |
| 7.2 Méthode des puits de diffusion.....                       | 16 |

### **Troisième partie : Résultats et discussion**

|  |    |
|--|----|
| 1. Ensemencement et identifications.....                   | 18 |
| 2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....          | 20 |
| 3. L'évaluation de l'activité antibactérienne du miel..... | 21 |
| 4. 4. Discussion.....                                      | 25 |

|                        |           |
|------------------------|-----------|
| <b>Conclusion.....</b> | <b>27</b> |
|------------------------|-----------|

### **Références bibliographiques**

### **Annexes**

## Liste des abréviations

**ATB** : Antibiotique

**AMC**: Amoxicillin/clavulanic acid

**AX**: Amoxicillin

**BN**: Bouillon nutritive

**CHU** : Centre hospitalo-universitaire

**CIP**: Ciprofloxacine

**CT**: Colistine

**CTX**: Cefotaxime

**DO**: densité optique

**G-** : Gram négatif

**G+** : Gram Positif

**IMP**: Imipenème

**LAMAABE** : laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement.

**M**: Miel

**MH**: Mueller Hinton

**mL** : millilitre

**PIP**: Pipéracilline

**R**: résistance

**S**: sensible

**TCC**: Ticarcilline-Acide clavulanique

**TIC**: Ticarcilline

**UFC** : Unité(s) Formant Colonie(s)

**V/V** : volume par volume

**HSV** : virus herpes simple

## Liste des tableaux

|  |    |
|--|----|
| <b>Tableau 1</b> : production algérienne de miel en 2011 .....   | 03 |
| <b>Tableau 2</b> : les principaux constituants de miel .....   | 05 |
| <b>Tableau 3</b> : Microorganismes répertoriés dans le miel .....  | 06 |
| <b>Tableau 4</b> : Variétés de miel et leurs propriétés spécifiques.....   | 09 |
| <b>Tableau 5</b> : l'origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de six échantillons de miel étudiés. .... | 14 |
| <b>Tableau 6</b> : les antibiotiques testés vis-à-vis de <i>P.aeruginosa</i> et <i>K.pneumoniae</i> .....                            | 16 |
| <b>Tableau 7</b> : Résultat de l'antibiogramme pour les deux souches testés.....   | 20 |

## Liste des figures

|   |    |
|---|----|
| <b>Figure 1</b> : Composition moyenne du miel.....  | 5  |
| <b>Figure 2</b> : les échantillons de miel testés.....  | 13 |
| <b>Figure 3</b> : Aspect des colonies de deux souches sur la gélose cétrimide et Mackonky<br>A : <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , B : <i>Klebsiella pneumoniae</i> ..... | 18 |
| <b>Figure 4</b> : Observation microscopique de deux souches après coloration de Gram<br>(Grossissement x100).....   | 19 |
| <b>Figure 5</b> : Identification de deux souches de par galerie API 20E.....  | 19 |
| <b>Figure 6</b> : Résultat de l'antibiogramme pour les deux souches testés.....   | 19 |
| <b>Figure 7</b> : Mesures de l'activité antibactérienne de six échantillons du miel vis-à-vis<br><i>Pseudomonas aeruginosa</i> par la méthode de puits. ....            | 21 |
| <b>Figure 8</b> : Mesure de l'activité antibactérienne de six échantillons du miel vis-à-vis<br><i>Klebsiella pneumoniae</i> par la méthode des puits.....              | 22 |
| <b>Figure 9</b> : le pouvoir antibactérien des miels testés vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i> .....   | 24 |
| <b>Figure 10</b> : le pouvoir antibactérien des miels testés vis-à-vis <i>K.pneumoniae</i> .....  | 24 |

Le miel est un produit utilisé depuis l'antiquité comme remède dans de nombreuses cultures et communautés, et est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle [(Bogdanov *et al.*, 2008) ; (Farzana *et al.*, 2016)]. Ce produit élaboré par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou du miellat, constitue d'abord un aliment remarquable, et l'un des aliments les plus complexes qui représente de très haute valeur énergétique, puisqu'il renferme de grandes concentrations de sucres, étant un mélange de glucose et de fructose [(Azeredo *et al.*, 2003); (Yaiche Achour et Khali, 2014)].

Cet aliment a accompagné les plus anciennes civilisations dans leur évolution et, de tout temps, il a été utilisé pendant des centaines d'années dans l'alimentation tout d'abord, comme édulcorant pour la fabrication de pâtisseries ou du vin puis dans la pharmacopée de l'époque (Ndife *et al.*, 2014).

La confrontation de la médecine moderne à divers problèmes, tel que la résistance aux traitements conventionnels et l'augmentation des dépenses de santé, amènent l'homme à exploiter toutes les vertus de cette denrée noble. En effet, le miel fait l'objet de nombreuses études où lui est attribué une multitude de propriétés bénéfiques pour l'organisme, citant les activités antioxydants et anti-inflammatoires (Farzana *et al.*, 2016). D'autres vertus lui sont aussi attribuées grâce à ses propriétés antimicrobiennes et cicatrisantes, qui sont utiles pour le traitement des brûlures et des blessures (Al-Mamary *et al.*, 2002). Actuellement, la recherche de nouvelles molécules actives, constitue un but majeur pour les scientifiques qui cherchent à valider les effets thérapeutiques des centaines de variétés de miels monofloraux et polyfloraux, qui peuvent être administrés seuls, ou comme remède aux agents antimicrobiens (Antibiotique, Antifongique, traitements chimiques) pour améliorer leurs efficacités (Farzana *et al.*, 2016).

Le coût peu élevé du miel en fait une thérapeutique idéale dans les pays en voie de développement où les médicaments manquent cruellement que dans les pays développés où les économies de santé sont devenues le maître mot. En Algérie, malgré une flore mellifère extrêmement riche, un climat favorable et un sol fertile, la production des miels reste très inférieure par rapport aux potentialités mellifères existantes. Cependant, plusieurs recherches montrent les meilleures qualités et propriétés antimicrobienne de ces miels algériens [(Makhloufi, 2010) ; (Nadir, 2014)].

Dans ce contexte, l'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne de six échantillons de miels Algériens vis-à-vis de bactéries responsable d'infections nosocomiales.

## **1. Généralité sur le miel**

### **1.1. L'origine du miel**

Le miel est élaboré par les abeilles à partir de sucres produits par des végétaux, précisément de leur sève. Elle est extraite de deux manières différentes, soit de façon directe, à partir du nectar, qui est un liquide sucré et mielleux, produit à la surface des nectaires, extrafloraux (situés sur les feuilles) ou des nectaires floraux (situés sur les fleurs) (Ancheling, 2005) ; soit de façon indirecte, à partir du miellat (produit plus complexe que le nectar) qui est élaboré par l'intermédiaire de plusieurs espèces d'insectes parasites, vivant sur les feuilles de nombreuses plantes. Ces insectes absorbent la sève des végétaux et rejettent l'excédent de matières sucrées, qui sera ensuite récupérée par les abeilles (Schweitzer, 2004).

### **1.2. Formation du miel**

Qu'il soit extrait de façon directe ou indirecte, le nectar ou le miellat est prélevé par les abeilles butineuses puis stockés dans leurs jabots au contact des sécrétions salivaires. De retour vers la ruche, une enzyme, l'invertase est mélangée à celui-ci permettant d'hydrolyser le saccharose en glucose et en fructose. Le nectar circule ensuite très vite d'une abeille à une autre, réduisant la teneur en eau de la solution sucrée jusqu'à un taux avoisinant les 50% de manière répétitive ; parallèlement de nouveaux sucres sont synthétisés. (Alphandery, 1992). La solution sucrée ainsi transformée est déshydratée par l'évaporation qui s'effectue sous la double influence de la chaleur régnant dans la ruche (37 °C), et la ventilation assurée par les ailes des abeilles ventileuses (Ballot-Flurin, 2013). Au bout de quelques jours, cette solution contiendra environ 18% d'eau et 80% de sucre et sera stockée dans des alvéoles, qui sont colmatées par un mince opercule de cire permettant une excellente conservation (Viel et Doré, 2003). Finalement, Le travail de l'apiculteur est de récolter le miel quand la majorité des alvéoles sont operculé, à cette étape, il désopercule les cadres et extrait le miel, Il le filtre puis le conditionne (Nicolay, 2014).

### **1.3. Les différents types de miel**

Il existe de nombreuses variétés de miel qui peuvent être classées de façon diverses. Outre l'origine sécrétoire qui permet de distinguer le miel du nectar, du miel de miellat, l'origine géographique qui repose sur l'analyse pollinique permet de distinguer :

- Les miels monofloraux élaborés à partir du nectar et/ou du miellat, provenant d'une seule espèce végétale (Rossant, 2011), Avec des caractéristiques

palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques tel que ; le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (Bogdanov *et al.*, 2004).

- les miels polyfloraux élaborés à partir du nectar et/ou du miellat, provenant de plusieurs espèces végétales, dont la valorisation de leurs spécificités et la reconnaissance de leurs caractères dominants, est indiquée selon l'air de production (miel de printemps ou d'été), ou la région de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.) [(Rossant, 2011) ; (Donnadieu, 1982)].

#### 1.4. Le miel algérien

Le miel algérien répond aux normes internationales, car il est naturel n'ayant subi aucun traitement technologique qui pourra nuire à sa qualité. L'Algérie importe de grandes quantités de miel de différent pays tel que : l'Arabie saoudite, la chine ou encore l'inde, suite à une production locale très faible malgré la grande potentialité mellifères dont dispose ce pays (Oudjet, 2012). En effet, l'apiculture est prédominante dans :

- La zone de littoral (miel d'agrumes et eucalyptus).
- La zone de montagne (Kabylie : miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère).
- Les hauts plateaux : miel de sainfoin, romarin et jujubier, maquis et forêts : miel toutes fleurs et miellat (Tableau1).

**Tableau 1** : production algérienne de miel en 2011 (Faostat, 2011).

| Pays      | Production |
|-----------|------------|
| Seddouk   | 19546.2    |
| Bejaia    | 12950      |
| Amizour   | 11260      |
| Tazmalt   | 10611.4    |
| Sisi-aich | 9998       |
| Aokas     | 9938.2     |
| EL-Kseur  | 8656.4     |
| Akbou     | 8445       |

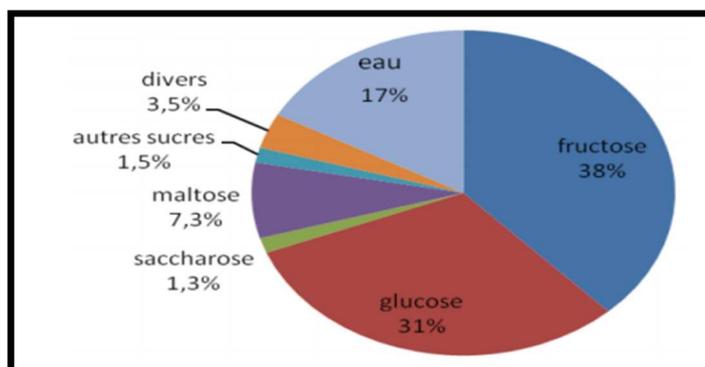
## **2. La composition et les caractéristiques du miel**

### **2.1. la composition chimique du miel**

La composition qualitative du miel est soumise à de nombreux facteurs qu'il est impossible de maîtriser comme : la nature de la fleur visitée et celle du sol sur lequel pousse ces plantes, les conditions météorologiques lors de la miellée, la race des abeilles, l'état physiologique de la colonie, etc.

Mélange d'origine végétale et animale, 200 substances y ont été identifiées jusqu'à présent (Ali Raessi *et al.*, 2013). De manière grossière, le miel est vu comme un produit sucré, majoritairement composé de sucres simples (Figure1). L'hydrate de carbone est l'ingrédient le plus important du miel, et représente 65 à 70% de glucides, principalement des monosaccharides (glucose, fructose) suivi de disaccharides (saccharose) et d'une faible concentration de tri-saccharides (Meo *et al.*, 2016). Sa teneur en eau oscille de 14 à 25 % avec un optimum de 17 % ce qui facilite son extraction et sa conservation [(Apimondia, 2000) ; (Clément H *et al.*, 2011)]. Le miel contient environ 0.5% de protéines, essentiellement représentées par des enzymes et des acides aminés. En effet, de nombreuses enzymes sont retrouvées dans le miel, elles peuvent être soit d'origine animale, produites par les glandes hypopharyngées de l'ouvrière ; soit d'origine végétale et proviennent des nectars, tels que l' $\alpha$ -amylase et  $\beta$ -amylase qui transforment l'amidon en glucose, la glucose oxydase (GOX) responsable de la production de peroxyde d'hydrogène et l'invertase qui transforme le saccharose du nectar [(Cheorun *et al.*, 2005) ; (Schweitzer, 2015)].

Le miel est pauvre en lipides, on y retrouve principalement les acides palmitiques et oléiques, ainsi que de très faibles quantités d'acides laurique [(Cernak *et al.*, 2001) ; (Irlande D, 2015) ; (Laboratoire de cari, 2015) ; (Schweitzer, 2015)]. Sa concentration en vitamine est également pauvre, il s'agit essentiellement du groupe B, cependant, il est possible d'y trouver de la vitamine C [(Desmoulier, Bonte, Couquet, *et al.*, 2013)]. Sa teneur en protides représente moins de 1%, néanmoins, il contient de nombreux acides aminés libres comme la proline, qui provient des sécrétions salivaires de l'abeille [(Cheorun *et al.*, 2005 ; Ioiriche, 1979)]. Le miel apporte de nombreux minéraux (potassium et calcium) indispensables à la santé de l'homme ; leurs concentrations sont variables selon les origines florales, géographiques, et saisonnières. On y trouve également des oligo-éléments comme : le cuivre, le zinc, et d'autres constituants tel que les grains de pollen (Tableau 2) (Ioiriche, 1979).



**Figure 1** : Composition moyenne du miel (Bruneau, 2004).

**Tableau 2** : les principaux constituants de miel [(Pham-Delegue, 1999) ; (Meda, 2005)].

| Composition            |            | Teneur                         |
|------------------------|------------|--------------------------------|
| Eau                    |            | 14-20%                         |
| Glucides               | Fructose   | 38%                            |
|                        | Glucose    | 31%                            |
|                        | Saccharose | 1.3%                           |
| Protéines              |            | 0.6%                           |
| Acides aminés          |            | >180 mg /Kg                    |
| Substances minérales   |            | Ne dépasse pas 1.2%            |
| Substances aromatiques |            | 100-150 substances différentes |
| Acides organiques      |            | Teneur faible                  |

## 2.2. Les contaminants et les composés toxiques potentiels

Du miel, ressort l'image d'un produit pur, sain et naturel, cependant, il peut être contaminé par différentes sources. Plus étonnant, un certain nombre de microorganismes ont été répartis dans le miel, cette présence est due à une contamination via les pollens, l'air, les fleurs, le contenu digestif des abeilles, et la poussière... (Tableau 3).

Autres sources de contamination résulte de l'environnement, de l'agriculture et de la pratique apicole [(Bogdanov S, 2006) ; (Ioiriche N, 1979) ; (Schweitzer P, 2015)]. Les polluants environnementaux sont représentés par : les métaux lourds (principalement le plomb, le cadmium et le mercure) ; les isotopes radioactifs ; les polluants organiques ; les pesticides (insecticides, fongicides, herbicides et bactéricides) ; et les organismes génétiquement modifiés (OGM). Les principaux contaminants agricoles sont les acaricides, à savoir les acides organiques et composants d'huiles essentielles ; les antibiotiques utilisés dans le traitement des maladies chez les abeilles, dont les tétracyclines, la streptomycine, les

sulfamides et le chloramphénicol (Wacker R, 2013). D'autres substances utilisées dans les pratiques d'apiculture jouent un rôle mineur ; c'est le cas du paradichlorobenzène (PDCB).

**Tableau 3 :** Micro-organismes répertoriés dans le miel [(Olaitan *et al.*, 2007) ; (Sib, 2007)].

| Bactéries              | Levures                   | Champignons           |
|------------------------|---------------------------|-----------------------|
| <i>Alcaligenes</i>     | <i>Ascochera</i>          | <i>Aspergillus</i>    |
| <i>Achromobacter</i>   | <i>Debaromyces</i>        | <i>Alihia</i>         |
| <i>Bacillus</i>        | <i>Hansenula</i>          | <i>Bettsia alvei</i>  |
| <i>Bacteridium</i>     | <i>Lipomyces</i>          | <i>Cephalosporium</i> |
| <i>Brevibacterium</i>  | <i>Nemalospora</i>        | <i>Chaetomium</i>     |
| <i>Citrobacter</i>     | <i>Oosporidium</i>        | <i>Coniothecium</i>   |
| <i>Clostridium</i>     | <i>Pichia</i>             | <i>Hormiscium</i>     |
| <i>Enterobacter</i>    | <i>Saccharomyces</i>      | <i>Peronsporaceae</i> |
| <i>Esherichia coli</i> | <i>Scizosaccharomyces</i> | <i>Peyronelia</i>     |
| <i>Erwinia</i>         | <i>Trichosporium</i>      | <i>Tripoosporuim</i>  |
| <i>Flavobacterium</i>  | <i>Torula</i>             | <i>Uredianceae</i>    |
| <i>Klebsiella</i>      | <i>Torulopsis</i>         | <i>Ustilaginaceae</i> |
| <i>Micrococcus</i>     | <i>Zygasaccharomyces</i>  |                       |
| <i>Neisseria</i>       |                           |                       |
| <i>Pseudomonas</i>     |                           |                       |

### 3. Les caractéristiques du miel

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

#### 3.1. Les caractéristiques organoleptiques

Les miels récoltés peuvent être très divers, tant par leurs colorations que par leurs consistances et leurs arômes. Le miel contient une palette de couleurs très large déterminée par les espèces de fleurs butinées ainsi que par l'âge du miel, elle peut aller du blanc ivoire (miel de lavande), à noire pour les miels les plus minéralisés; en passant par le jaune intense (miel de pissenlit), ocre ou brun (miellat, miel de bruyère), parfois teintée de reflets verts (miel de sapin) [(Schweitzer, 2000) ; (Ibrahim Khalil *et al.*, 2012)]. Son odeur est très variable, et dépend de l'origine botanique des essences aromatiques. Elles sont végétales, puissantes ou non, florale ou fruitées, fines, lourdes ou vulgaires (Donadiou, 1978), il peut avoir une odeur de fumée, de métal de fermentation ou de produits chimiques, cet état pourrait

provenir des manipulations de l'apiculteur. Le miel peut présenter une grande variété de saveurs et d'arômes différents, cependant, ils présentent tous une remarquable saveur sucrée [(Cheorun *et al.*, 2005) ; (laboratoire du cari, 2015)].

Le miel peut être cristallisé finement ou grossièrement, dur ou souple, pâteux ou liquide, se présentant sous de nombreux aspects. La cristallisation de celui-ci est un processus naturel, complexe, du fait de la présence de plusieurs sucres en mélange et de leurs différences de solubilité [(Bogdanov, 1984) ; (Guerriat, 2000) ; (El Sohaimy *et al.*, 2015)]. La cristallisation est plus ou moins rapide et dépend de la nature des sucres dont le miel est composé. Ainsi, un miel riche en glucose (comme le miel de colza) cristallise rapidement en 2 à 3 jours alors qu'un miel riche en fructose (comme le miel d'acacia) restera liquide pendant plusieurs années. Deux autres paramètres influencent la vitesse de cristallisation, à savoir la teneur en eau et la température de conservation (Cernak M *et al.*, 2012).

### **3.2. Les caractéristiques nutritionnelles**

Le miel est un aliment naturel, riches en sucres simples (glucose et fructose), directement assimilable, il permet de couvrir les besoins énergétiques de l'organisme dans des conditions optimales, grâce à sa teneur élevée en glucides, enzymes et vitamines (Guinot *et al.*, 1996). Il constitue également une source importante de nombreux oligo-éléments indispensables au métabolisme et à la digestion, favorisant ainsi l'assimilation du calcium et l'absorption du magnésium, qui sont deux minéraux indispensables au bon fonctionnement de l'organisme [(Meda, 2005) ; (Mendes *et al.*, 1998)].

### **3.3 Les caractéristiques thérapeutiques**

Le miel a toujours eu une place dans la médecine traditionnelle, il a été principalement utilisé pour cicatrisation des plaies et les maladies de l'intestin (Boussaid *et al.*, 2004). Aujourd'hui, le miel peut être qualifié d'antianémique (fer, vitamines B6 et B9), antiseptique, apéritif, béchique (calme la toux), digestif, diurétique, dynamogénique, émollient, fébrifuge, laxatif, sédatif et vicariant (supplée aux carences) (Cheorun *et al.*, 2005). Cependant, chaque type de miel à des caractéristiques thérapeutiques qui lui sont propres (tableau4). En effet, certains miels sont connus pour améliorer les performances physiques en augmentant l'endurance, en favorisant la récupération et en facilitant les efforts prolongés notamment pour le sportif (Delphine, 2010). Grâce à ses deux facteurs glycolytiques et cholinergiques, ces miels se présentes comme des reconstituants cardiaques et sanguins. Le glycutile, substance fabriquée par l'abeille permet au cœur d'utiliser au mieux les sucres qu'il

reçoit et ainsi résister à quelconque effort violent et prolongé. L'acétylcholine quant à elle, ralentit et régularise le rythme cardiaque, favorisant la diminution de la tension artérielle et assurant une meilleure circulation au niveau des coronaires, soit un effet hypotenseur [(Cheorun *et al.*, 2005 ; Phillipe, 2007)].

D'autres miels sont bénéfiques dans certaines pathologies du système respiratoire, tel que les rhinites, coryzas, les irritations de la gorge et les infections bronchiques, grâce à leurs propriétés antibactériennes mais aussi leurs effets apaisant et décontractant. Enfin, En usage externe, plusieurs miels font appel à leurs propriétés antibactériennes et antifongiques pour guérir rapidement les coupures et les brûlures, ainsi que les inflammations cutanées. Ils luttent contre les infections, favorisent la régénération des tissus et réduisent les cicatrices (Delphine, 2010).

**Tableau4** : Variétés de miel et leurs propriétés spécifiques [(Aboussedik, 2008);(Bazoche, 2011)]

| Origine florale | Type de miel | Description  | Action   |
|-----------------|--------------|--|--|
| Acaria          | Mono floral  | jaune-or clair<br>odeur légère saveur très douce                     | Laxatif, anxiolytique.   |
| Tilleul         | Mono floral  | jaune clair ou foncé<br>goût typique et prononcé                     | Anti sécrétoire, respiratoire, somnifère (effet sédatif)   |
| Sarrasin        |              | Brun et épais<br>goût fort et piquant                                | efficace pour renforcer les os<br>stimule la digestion   |
| Châtaignier     |              | couleur marron sombre odeur de bois<br>prononcé                      | Fluidifiant du sang<br>Anti-inflammations, antibiotique pour le système urinaire   |
| Montagne        | Poly floral  | Foncé, presque noir,<br>Crémeux                                      | Désinfectant et antiseptique<br>renforce le système immunitaire<br>Troubles hépatiques, anémie   |
| Lavande         | Mono floral  | claire, goût et un parfum intenses.                                  | antiseptiques et anti-inflammatoires   |
| Aubépine        | Mono floral  | aspect marron, goût amer   | Relaxant, antispasmodique, myorelaxant, effet sédatif,<br>vasodilatateur   |
| Euodia          | Mono floral  | ne cristallise pas et possède un goût fruité                         | préviennent les maladies cardiovasculaires,<br>antihypertenseur.   |
| Bruyère callune | Mono floral  | miel aromatique, avec une saveur intense                             | antirhumatismal et les troubles du système urinaire  |
| Tournesol       | Mono floral  | jaune vif, sucré avec un arrière-goût de pollen                      | renforce le système immunitaire, traite les maladies respiratoires, les troubles digestifs et les maladies des reins<br>cicatrisant, anti-inflammatoire          |
| Amorpha         | Mono floral  | Rougeâtre, goût doux et sucré  | Anti-sécrétoire respiratoire, anti-inflammatoire   |
| Pissenlit       | Mono floral  | jaune vif, saveur discrète et douce                                  | efficace pour traiter les maladies du foie, laxatif  |
| Romarin         | Mono floral  | claire avec un aspect granuleux                                      | Stimulant hépatique, insuffisances digestives  |
| Colza           | Mono floral  | ris clair et le blanc paille<br>aromatique, plutôt sucré             | énergisant, bénéfique en cas de rhumatisme,<br>hypolipidémique, anti-hémorroïdaire indiqué pour les problèmes cardio-vasculaires, laxatif et antiacide gastrique |
| Forêt           | Poly floral  | couleur foncée, son goût âcre  | vasodilatateur renforce les muscles du cœur  |
| Manuka          | Mono floral  | très foncée, très forte  | Renforce l'immunité  |
| Eucalyptus      | Mono floral  | irisée, jaune pâle<br>très sucré et peu acide                        | Antitussif<br>Renforce l'immunité, soulager certains problèmes gastriques  |
| Thym            | Mono floral  | sombre, ambré ou brun, saveur<br>extrêmement forte                   | cicatrisant, ulcères ou aphtes, antiseptiques  |
| Sapin           | Mon floral   | très foncée, presque noire<br>malté, balsamique, doux, sans amertume | antiseptique, anti-inflammatoire, reminéralisant,<br>dynamogénique et diurétique   |
| Sauge           |              | ambre clair<br>aromatique, corsé, léger arrière-goût<br>poivré       | Antiseptique, traiter affections, du système urinaire et des voies respiratoires.  |
| Miel d'Oranger  | Mon floral   | Liquide, dorée et<br>Translucide                                     | Sédatif, antispasmodique   |

#### 4. l'activité antimicrobienne du miel

L'activité antimicrobienne est multifactorielle, le miel peut donc inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, champignons, protozoaires et virus, sans que ces derniers ne puissent développer de résistance (Delphine, 2010). Une étude de l'activité antibactérienne de plusieurs miels, montre que ceux-ci inhibent la croissance de différents germes de façon proportionnelle à la dose administrée (Souza *et al.*, 1993). De la même façon, il a été démontré que le miel est capable d'éliminer certaines toxines, notamment d'origine fongique et d'inhiber complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida albican*, *Penicillium spp* et *Penicillium chrysogenum* (Molan, 1992). Effectivement, Son efficacité sur les mycoses cutanées a été prouvée lors d'un essai clinique sur des patients atteints de mycoses dermiques dues à *Pythiriacis Versicolor* et à *Epidermophyton Inguinale*, suite à l'utilisation d'une mixture composée à parts égales, de miel, d'huile d'olive et de cire d'abeille [(AI waili, 2004) ; (Clémence, 2005)]. Son efficacité a été également montrée sur les mycoses vaginales en utilisant une mixture de miel et de yaourt pour traiter les candidoses (Obaseiki- Ebor et Afonya, 1984). L'activité antivirale du miel n'est à ce jour pas expliquée, cependant, certains composants présents dans le miel sont connus pour leurs effets antiviraux sur l'HSV comme les flavonoïdes et le cuivre [(Amoros *et al.*, 1992) ; (Sagripanlı *et al.*, 1997)]. Le monoxyde d'azote (NO) jouerait aussi un rôle antivirale [(AI waili, 2003) ; (Torre, 2002)]. Enfin, le miel est également connu pour son activité antimycobactérienne [(Asadi-Pooya *et al.*, 2003)].

#### 5. Les mécanismes antimicrobiens

Les scientifiques ont montré que les propriétés bactéricides et bactériostatiques du miel reposent sur quatre facteurs : l'effet osmotique, le peroxyde d'hydrogène, les facteurs non-peroxydes et l'acidité [(Assie et Descottes, 2004) ; (Olaitan *et al.*, 2007)].

##### 5.1 L'osmolarité

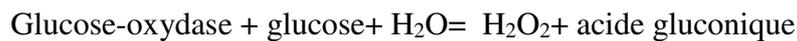
L'effet osmotique du miel est la conséquence de sa forte teneur en sucre (84%). En effet, cette forte teneur provoque une déshydratation osmotique ce qui laisse très peu d'eau disponible pour les microorganismes et par conséquent inhibe la croissance de ces derniers. (Olaitan *et al.*, 2007). Cependant, certaines levures réussissent à se développer dans tels conditions [(Molan, 2001) ; (Olaitan *et al.*, 2007)].

## 5.2 Le Ph acide

Le Ph du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces pathogènes, puisqu'il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est due essentiellement à la présence des acides organiques, en particulier l'acide gluconique, ainsi que d'ions inorganiques (Ouchemoukh *et al.*, 2007).

## 5.3 Le peroxyde d'hydrogène

L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène, appelé aussi l'eau oxygénée (Brudzynski, 2006). Elle est considérée comme étant la principale inhibine contenue dans le miel, elle est produite sous l'action d'une enzyme appelée la glucose-oxydase (GOX). Cette enzyme est sécrétée par les glandes hypopharyngées de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel, selon la réaction d'oxydation suivante :



Le peroxyde d'hydrogène est éliminé par les catalases, antagonistes de la glucose oxydase. La GOX est par ailleurs une enzyme sensible, elle est thermolabile et photolabile ; les conditions de conservation du miel sont donc particulièrement importantes (Mandal *et al.*, 2011).

## 5.4 Le système non peroxyde

Il existe d'autres substances antibactériennes hormis le peroxyde d'hydrogène avec différentes origines chimiques comme :

Les lysozymes (produite par les abeilles, enzyme bactériostatique présente dans le miel), la Pinocembrine (un flavonoïde présent dans le miel et produit par les abeilles), et d'autres nombreux composants chimiques comme les terpènes, l'alcool benzénique, l'acide syringique. Ces facteurs sont présents de manière variable selon les plantes butinées qui contiennent différents types de facteurs à activité non peroxyde. Ces facteurs antibactériens sont beaucoup moins sensibles à la lumière, la chaleur et la durée du stockage, contrairement aux composants à activité peroxyde. [(Bogdanov, 1997) ; (Bogdanov et Pascale, 2001) ; (Cushnie et Lamb, 2005)].

### **5.5 La Méthylglyoxal (MGO)**

La Méthylglyoxal est un agent de protéine-glycation, elle est trouvée en grande quantité dans le miel de Manuka, suite à la conversion du dihydroxyacétone, et est identifiée comme deuxième substance à pouvoir bactéricide, [(Henle, 2012) ; (Badet et Quero, 2011) ; (Majtan, 2011) ; (Annie, 2013)]. Sa concentration élevée peut conduire à une augmentation des capacités antibiotiques contre des bactéries multirésistantes ainsi que sa capacité à éradiquer les biofilms formés par les bactéries et sa puissante activité anti-inflammatoire en modulant l'activité d'une protéine, l'Apalbumine-1 [(Lu j et Turnbull *et al.*, 2014 ; Molan, 2014)].

### **5.6 La Défensine-1**

En utilisant une nouvelle approche de neutralisation successive des différents facteurs bactéricides individuels du miel, des chercheurs néerlandais ont identifié, très récemment, en juillet 2010, une molécule sécrétée par les abeilles baptisée la défensine-1 qui serait responsable d'une grande partie de l'activité antibactérienne du miel. Cette protéine, fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles, conserve dans le miel ses propriétés immunitaires, Elle est comparable à la  $\beta$ -défensine 1 d'origine humaine, impliqué dans l'immunité innée (Kwakman et Zaat , 2010).

### **1. Lieu d'étude**

Cette étude a été réalisée au sein des laboratoires de microbiologie de l'institut des sciences du centre universitaire « BELHADJ Bouchaib » à Ain Témouchent.

### **2. L'origine des miels**

L'étude est portée sur six échantillons de miel naturel récoltés de différentes régions du territoire national et de différentes origines florales (Tableau5).

Les échantillons ont été utilisés à l'état dont ils étaient achetés chez les apiculteurs sans aucune modification préalable. Ils sont conditionnés dans des récipients en verre hermétiquement capsulés et conservés à une température ambiante jusqu'à leur utilisation (figure2) :



**Figure 2** : les échantillons de miel utilisés

**Tableau 5** : L'origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de six échantillons de miel étudiés.

| Miel | Origine géographique                       | Origine florale<br>Nom commun<br>scientifique | Date de<br>récolte | La couleur             |
|------|--|---|--------------------|------------------------|
| M1   | Naama<br>(Ain safra)                       | Cidre<br>( <i>Jujubier</i> )                  | Juin<br>2017       | Jaune doré et doux     |
| M2   | Tlemcen                                    | Roquette<br>( <i>Eruca Sativa</i> )           | 2015               | Blanc et crémeux       |
| M3   | Tissemsilt<br>(Montagne Bordj<br>Bounaama) | Poly-floraux                                  | 2017               | Marron foncé à<br>noir |
| M4   | Tlemcen                                    | Thym ( <i>Thymus<br/>vulgaris</i> )           | 2016               | Marron et doux         |
| M5   | Tissemsilt                                 | Poly-floraux                                  | 2017               | Ambré foncé            |
| M6   | Ain Témouchent<br>(Béni saf)               | Poly-floraux                                  | 2017               | Doré claire            |

### 3. Les souches bactériennes

#### 3.1. Le choix des souches bactériennes

Les souches choisies pour cette étude sont l'espèce *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae* ; elles sont reconnues comme étant des agents responsables d'infections associées aux soins. En effet, *Klebsiella pneumoniae* est l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections urinaires nosocomiales (IUN) (Ben Haj Khalifa *et al.*, 2010), tandis que *P.aeruginosa* est considérée comme l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections des grands brûlés et les infections du site opératoires (Pier, 2005).

#### 3.2. Provenance des souches microbiennes

Les souches de *P.aeruginosa* et de *K.pneumoniae* (conservées sur Gélose nutritive inclinée) sont obtenues par l'équipe d'hygiène hospitalière du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement (LAMAABE). Elles sont

respectivement isolées à partir d'une plaie infectée et d'une sonde urinaire chez des patients hospitalisés au service de réanimation du CHU « centre hospitalo-universitaire » de Tlemcen.

#### **4. Ensemencement des souches bactériennes**

Après 24h d'enrichissement à 37°C dans 5ml de Bouillon nutritive (BN), *P.aeruginosa* est ensemencée sur une gélose au Cétrimide. Ce milieu favorise le développement des *P.aeruginosa* en inhibant de nombreuses bactéries par la présence de l'antiseptique Cétrimide, et de l'acide nalidixique.

*K.pneumoniae* est ensemencée sur une gélose Mac Conkey, utilisée pour l'isolement des bactéries à gram négatif grâce à l'action du cristal violet pour l'inhibition de la flore gram positive, et des sels biliaires pour la sélection des *Entérobactéries*. Les deux boîtes sont ensuite incubées à 37°C pendant 24h.

#### **5. Confirmation de l'identification**

L'identification bactérienne est réalisée par les méthodes conventionnelles de microbiologie :

- L'examen microscopique par coloration différentielle de gram

Après la réalisation d'un frottis et le passage par tous les colorants nécessaire, cette technique permet de colorer les bactéries et de donner une information rapide afin de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuschine (Gram-).

- Identification des caractères biochimiques à l'aide des galeries API 20 E

L'identification biochimique est basée sur un système standardisé pour l'identification des *Enterobacteriaceae* et autres bacilles à Gram négatif. Les microtubes des galeries sont inoculés avec une suspension bactérienne qui a été réalisé par le prélèvement d'une seule colonie bien isolée sur milieu Mac Conkey et Cétrimide. Les réactions produites après 24h d'incubation à 37°C se traduisent par des virages colorés spontanés ou révélés par l'addition de réactifs. Après une incubation de 24h à 37°C, la lecture des résultats est faite à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide du catalogue analytique.

#### **6. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques**

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique (ATB) à inhiber la croissance bactérienne in vitro et de catégoriser une souche bactérienne en classes semi-quantitatives (sensible, intermédiaire, ou résistante). La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton (Courvalin et Soussy, 1996).

Une suspension bactérienne préalablement préparée et incubée à 37°C pendant 24h, est ajustée à une DO 625nm comprise entre 0.08 et 0,1 ce qui correspond à une charge bactérienne de 10<sup>8</sup> UFC/mL. Après une dilution au 1/100 ( $\approx 10^6$  UFC/mL), l'ensemencement des boîtes de pétries contenant de la gélose Mueller Hinton est accompli par écouvillonnage. L'interprétation des résultats est effectuée selon les normes et les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM, 2018). Les disques antibiotiques testés (Bioanalyse) sont illustrés dans le tableau 6.

**Tableau 6** : Les antibiotiques testés vis-à-vis de *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae*

| <i>L'antibiotique</i>           | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | <i>Klebseilla Pneumoniae</i> |
|---------------------------------|-------------------------------|------------------------------|
| Ticarcilline                    | TIC (75µg)                    | —                            |
| Ticarcilline-Acide clavulanique | TCC (75/10µg)                 | —                            |
| Pipéracilline                   | PIP (75µg)                    | —                            |
| Cefotaxime                      | CTX (10 µg)                   | CTX (10 µg)                  |
| Imipenème                       | IMP (10µg)                    | IMP (10µg)                   |
| Ciprofloxacine                  | CIP (5µg)                     | CIP (5µg)                    |
| Colistine                       | CT (10 µg)                    | CT (10 µg)                   |
| Amoxicillin                     | —                             | AX (25 µg)                   |
| Amoxicillin/clavulanic acid     | —                             | AMC (30 µg)                  |

## 6. L'évaluation de l'activité antibactérienne

### 6.1. Préparation des échantillons du miel :

Les échantillons du miel utilisés pour les tests antibactériens ont été testés aux concentrations de 100%, 75%, 50%, 25% et 12.5% (v/v). Les séries de dilutions ont été préparées instantanément dans de l'eau physiologique stérile pour un volume finale de 5ml.

### 6.2. Méthode des puits de diffusion :

La détermination de l'activité antibactérienne du miel est réalisée par la méthode des puits de diffusion sur gélose Muller Hinton (Djemoui, 2012). Considérée comme la technique de base pour étudier la capacité d'une substance à exercer son effet antimicrobien, elle repose sur le pouvoir migratoire du miel, nous permettant la détermination de la résistance ou la sensibilité des bactéries vis-à-vis de ce dernier en mesurant les diamètres d'inhibition en millimètre (mm) après incubation.

Une suspension bactérienne est préalablement préparée dans 5ml de (BN) à partir d'une culture de 24h. Après 24h d'incubation à 37°C, cette suspension est ajustée à une DO 625nm comprise entre 0.08 et 0,1, de manière à obtenir une charge bactérienne qui correspond à 10<sup>8</sup> UFC/mL. Après une dilution au 1/100, l'ensemencement de l'inoculum est réalisé par écouvillonnage à la surface du milieu Mueller Hinton préalablement coulé dans des boîtes de Pétri. Après le séchage des boites, 5 puits équidistant sont perforés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur stérile, puis remplis par les différentes dilutions du miel (75%, 50%, 25%, 12.5% et 100%). L'ensemble des boites est incubé à 37°C pendant 24h.

Un résultat positif se manifeste par la formation d'une auréole autour des puits, et même une diminution de la croissance bactérienne. Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés avec précision trois fois à des angles différents.

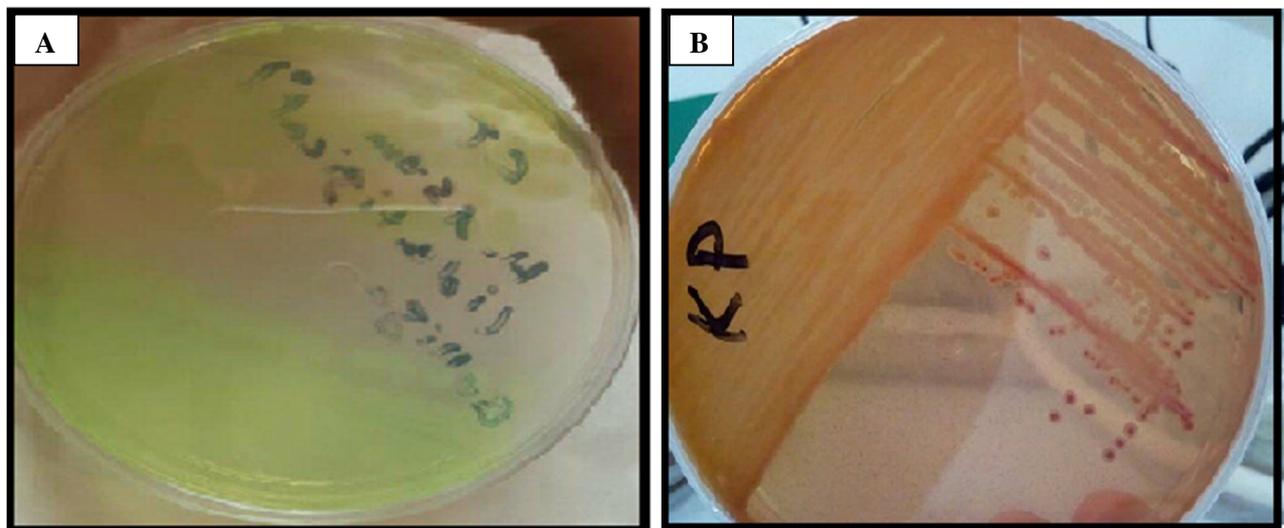
Le miel est considérée comme inactif lorsque le diamètre est inférieurs à 5mm ; comme ayant une très basse activité à un diamètre compris entre 5,5 et 9mm ; comme étant moyennement active à un diamètre compris entre 12 et 15 mm Enfin, à un diamètre supérieure à 15 mm, le miel est considérée comme étant très active (Murat *et al.*, 2007).

### 1. Ensemencement et identifications

Au cours de ce travail nous avons procédé à une confirmation de l'identification des souches obtenues par l'équipe d'hygiène hospitalière du laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédicale et à l'environnement (LAMAABE).

L'observation macroscopique des *P.aeruginosa* cultivés sur une gélose au Cétrimide, a permis l'observation de colonies bactériennes de grande taille, avec un aspect bombé au centre, présentant un reflet métallique au contour irrégulier (colonies larges), et doté d'une pigmentation verte.

Après 24h d'incubation des colonies de *K.pneumoniae* sur gélose Mac Conkey, celles-ci apparaissent de petite taille avec une couleur marron et un aspect bombé muqueux et brillant (Figure3).



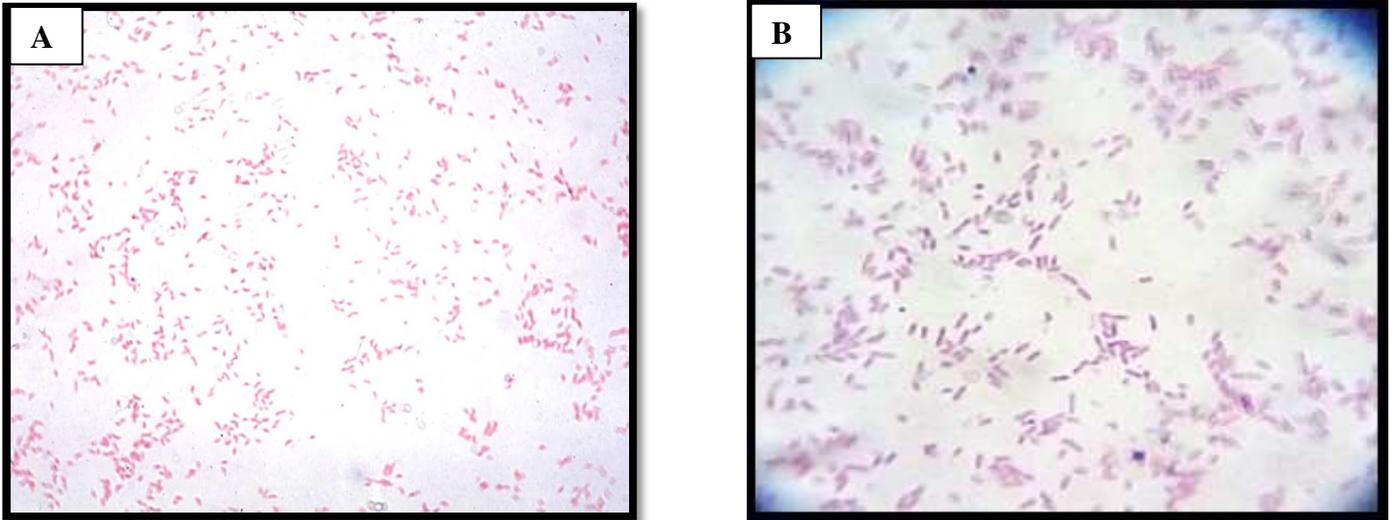
**Figure 3 :** Aspect des colonies de deux souches sur la gélose Cétrimide et Mac Conkey.

A : *Pseudomonas aeruginosa*

B : *Klebsiella pneumoniae*

L'examen microscopique après coloration de Gram des colonies bactériennes des deux espèces a permis l'observation des bacilles roses, à Gram négatif, regroupés par deux ou bien en courtes chainettes (Figure 4).

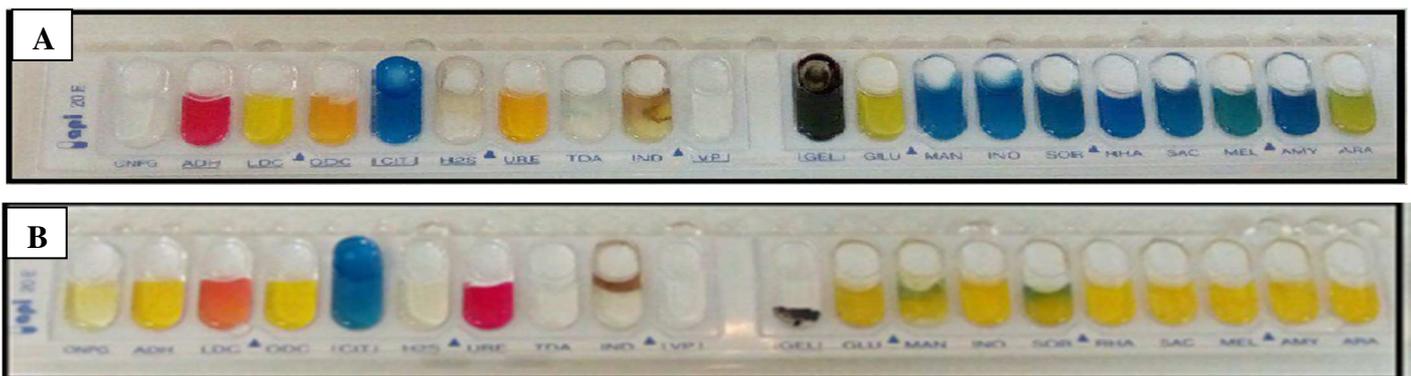
Quant à l'identification par la galerie API20E, celle-ci nous a permis de mettre en évidence les caractères biochimiques, correspondants à l'espèce *P.aeruginosa* (biotype 2206000) et *K.pneumoniae* (biotype 5215773) (figure 5).



**Figure 4** : Observation microscopique des deux souches *après* coloration de Gram (Grossissement x 100).

**A:** *P.aeruginosa*

**B:** *K.pneumoniae*



**Figure 5** : Identification de deux souches de par galerie API 20E.

**A:** *P.aeruginosa* (2206000)

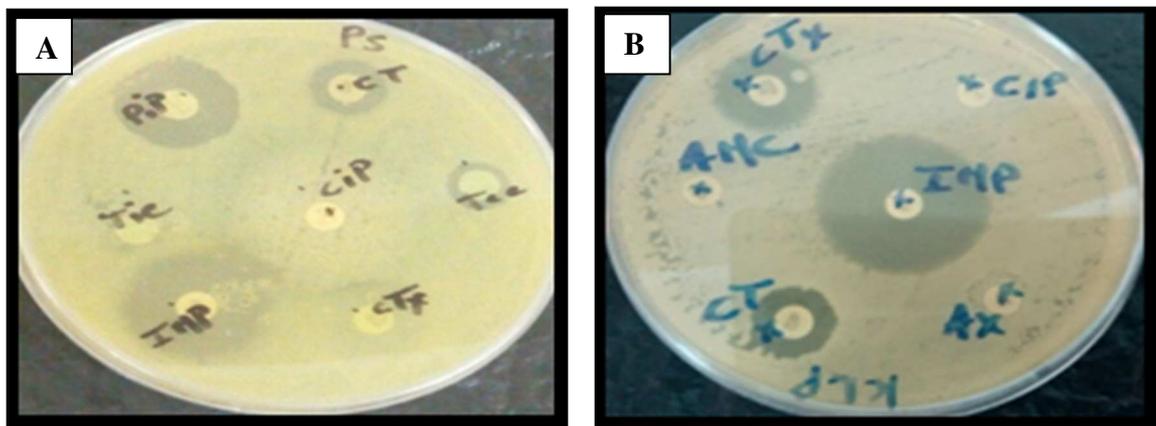
**B:** *K.pneumoniae* (5215773)

## 2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *K.pneumoniae* et *P.aeruginosa* a été réalisée vis-à-vis de neuf antibiotiques (Pipéracilline, Colistine, Ticarcilline-Acide clavulanique, Imipenème, Ticarcilline, Ciprofloxacine, Amoxicillin/clavulanic acid, Amoxicillin, Cefotaxime)

**Tableau 7 :** Résultat de l'antibiogramme pour les deux souches testés.

| <i>ATB</i>          | AX | TIC | TCC | AMC | PIP | CTX | IMP | CIP | CT |
|---------------------|----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|-----|----|
| <i>P.aeruginosa</i> | /  | R   | R   | /   | S   | R   | S   | R   | S  |
| <i>K.pneumoniae</i> | R  | /   | /   | R   | /   | R   | S   | R   | S  |



**Figure 6 :** Résultat de l'antibiogramme pour les deux souches testés.

A : *P.aeruginosa*

B : *K.pneumoniae*

Selon le tableau 7 *P. aeruginosa* montre une résistance vis-à-vis de quatre antibiotiques (Ticarcilline, Ticarcilline-Acide clavulanique , Cefotaxime, Ciprofloxacine) et une sensibilité vis-à-vis de deux ATB (Pipéracilline et Imipenème), concernant *K. pneumoniae* celle-ci présente ainsi une résistance à l'égard de quatre ATB (Amoxicillin, Amoxicillin/acide clavulanique, Cefotaxime, et Ciprofloxacine ). Cependant, l'imipenème et la colistine reste active.

### 3. L'évaluation de l'activité antibactérienne du miel

L'évaluation de l'activité antibactérienne des miels testés sur les deux espèces bactériennes est basée sur la mesure des diamètres d'inhibition en (mm), de différentes dilutions des différents échantillons de miel. Les résultats obtenus pour les deux espèces testés sont résumés dans l'annexe 6.

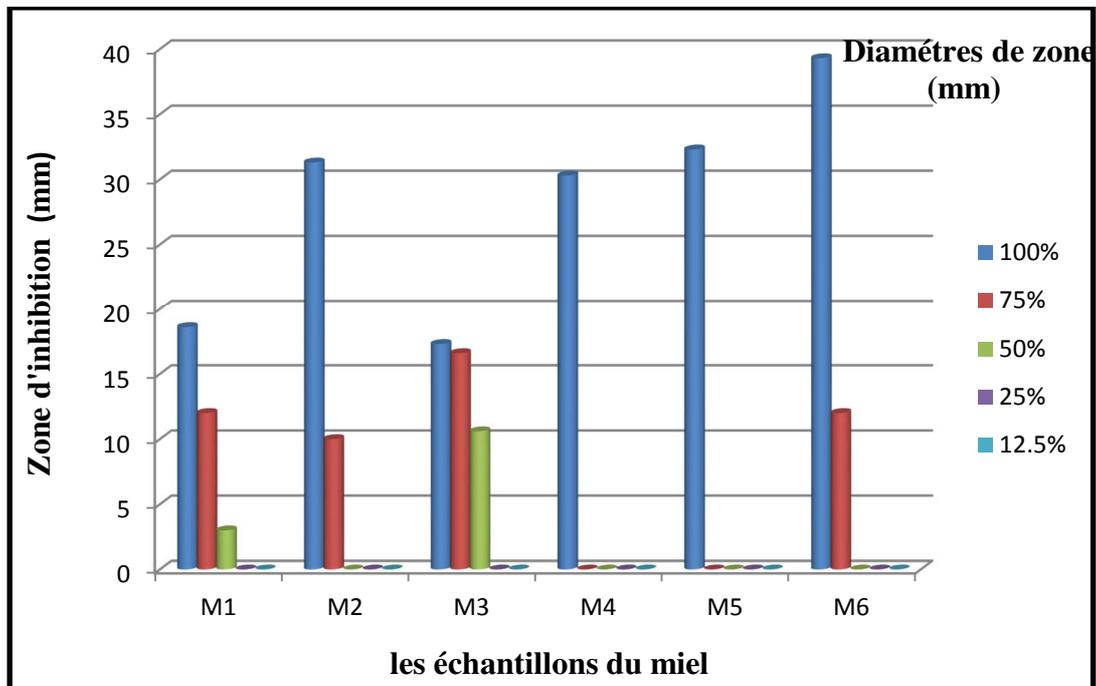
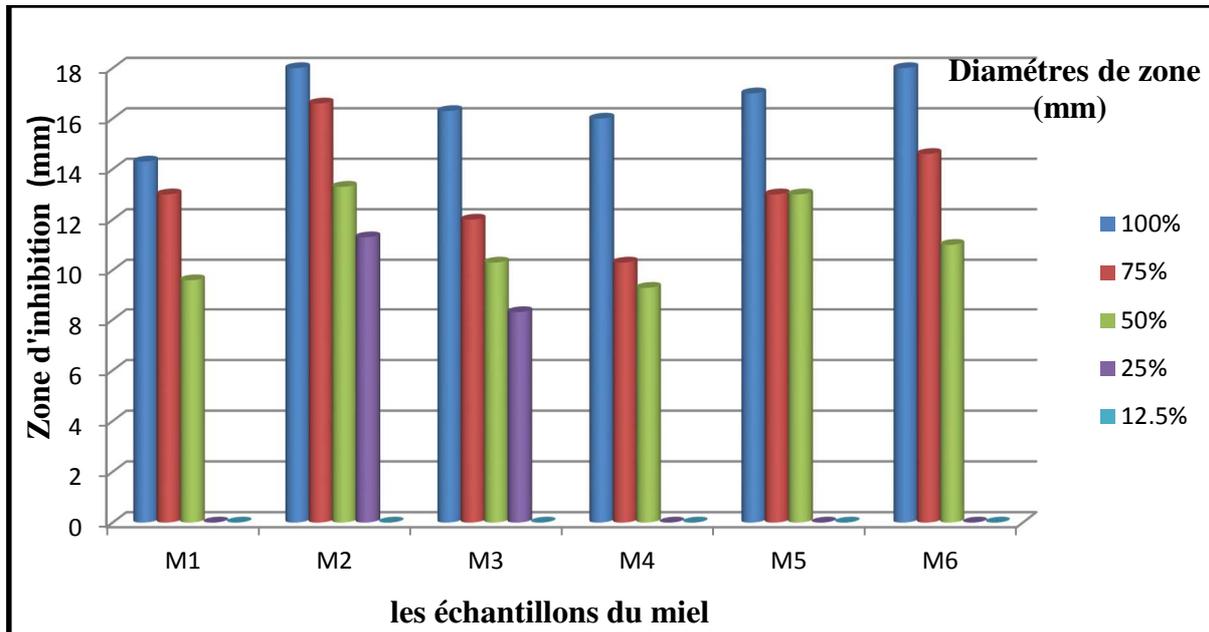


Figure 7 : Mesure de l'activité antibactérienne de six échantillons du miel vis-à-vis *Pseudomonas aeruginosa* par la méthode de puits.

Selon la Figure 7, tous les miels testés contre *P.aeruginosa* donnent une activité antibactérienne élevée à une concentration de 100%, avec des zones d'inhibitions allant de 18,6mm à 39mm. Cependant, à une concentration de 75%, cette activité reste élevée pour le miel de montagne (M3), avec une zone d'inhibition de 16mm et devient moyenne pour le miel poly-floral de Béni Saf (M6) et le miel de *Jujubier* (M1), avec un diamètre de 12mm. Enfin, le miel *d'Eruca Sativa* (M2) présente une faible activité avec une zone d'inhibition de 10mm.

À des concentrations plus faibles (50%, 25% et 12,5%), tous les miels exhibent des zones d'inhibition inférieures à 5mm de diamètre voire nulle, à l'exception du miel de Montagne (M3) qui montre une activité moyenne à une concentration de 50% avec une zone d'inhibition de 10mm.

Les résultats obtenus vis-à-vis de *K.pneumoniae* diffèrent de ceux retrouvés chez *P.aeruginosa* (Figure10).



**Figure 8 :** Mesure de l'activité antibactérienne de six échantillons du miel vis-à-vis *Klebseilla pneumoniae* par la méthode des puits.

En effet, de la même façon tous les miels purs montrent une activité antibactérienne élevée avec un diamètre d'inhibition allant de 14mm à 18mm. Cependant, à une concentration de 75% l'échantillon de miel d'*Eruca sativa* (M2) montre une activité élevée avec une zone d'inhibition de 16,6mm, tandis que le miel de *Jujubier* (M1), de Montagne (M3), le miel poly-floral de Tisemsilt (M5) et de Béni Saf (M6) montrent une activité moyenne avec respectivement des diamètres de 13mm ; 12mm ; 13mm et 14,6mm. Enfin, la plus faible activité antibactérienne est enregistrée par le miel de *thymus vulgaris* (M4) avec un diamètre de 10,3mm.

A une concentration de 50% l'ensemble des échantillons de miel possèdent une activité antibactérienne. Celle-ci est considérée comme moyenne avec une zone d'inhibition de 13,3 mm pour le miel d'*Eruca Sativa* (M2) et le miel Poly-floral de Tisemsilt (M5). Pour le miel de *Jujubier* (M1), de montagne (M3), de *Thymus vulgaris* (M4), et le miel polyfloral de Beni Saf (M6), l'activité antibactérienne est faible avec respectivement des diamètres de 9,6mm ; 10,3mm ; 9,3mm et 11mm. Enfin, à l'exception du miel d'*Eruca sativa* (M2) et de montagne (M3) qui donne une faible activité avec des diamètres de 8,3mm et de 11,3mm, aucun miel ne présente d'activité antibactérienne à une

concentration de 25%. De même, à une concentration de 12,5% aucune activité n'été observée pour l'ensemble des échantillons de miel testés.

D'après ces résultats, l'effet antibactérien des miels étudiés est considéré comme étant plus important vis-à-vis de *K.pneumoniae* que de *P.aeruginosa*. Effectivement, *K.pneumoniae* s'est avérée très sensible à l'action des miels purs et diluée, contrairement à *P.aeruginosa* où seule la dilution 75% présente une action antibactérienne. De plus, selon les (Figures 9 et 10) on observe uniquement une diminution du tapis bactérien autour des puits des miels testés à l'encontre de *P.aeruginosa*, tandis que pour *K.pneumoniae* une absence totale de la croissance est notée.

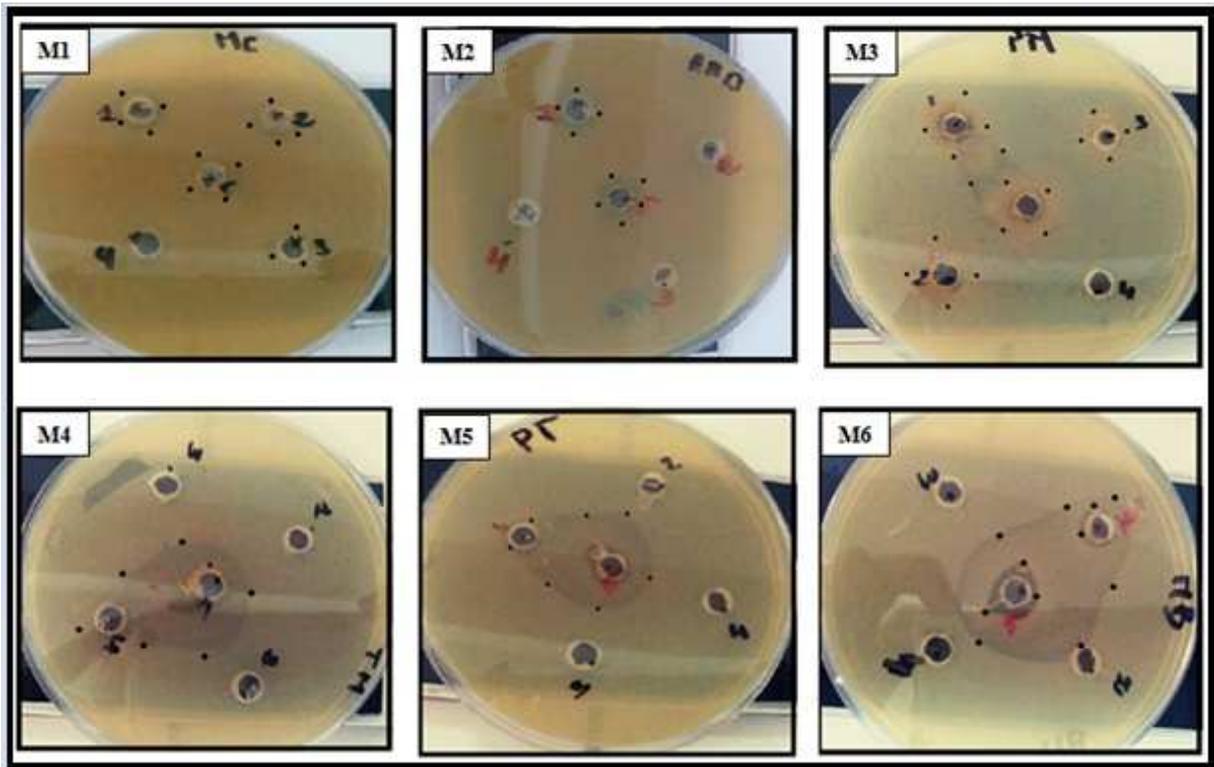


Figure 9 : le pouvoir antibactérien des miels testés vis-à-vis *P.aeruginosa*

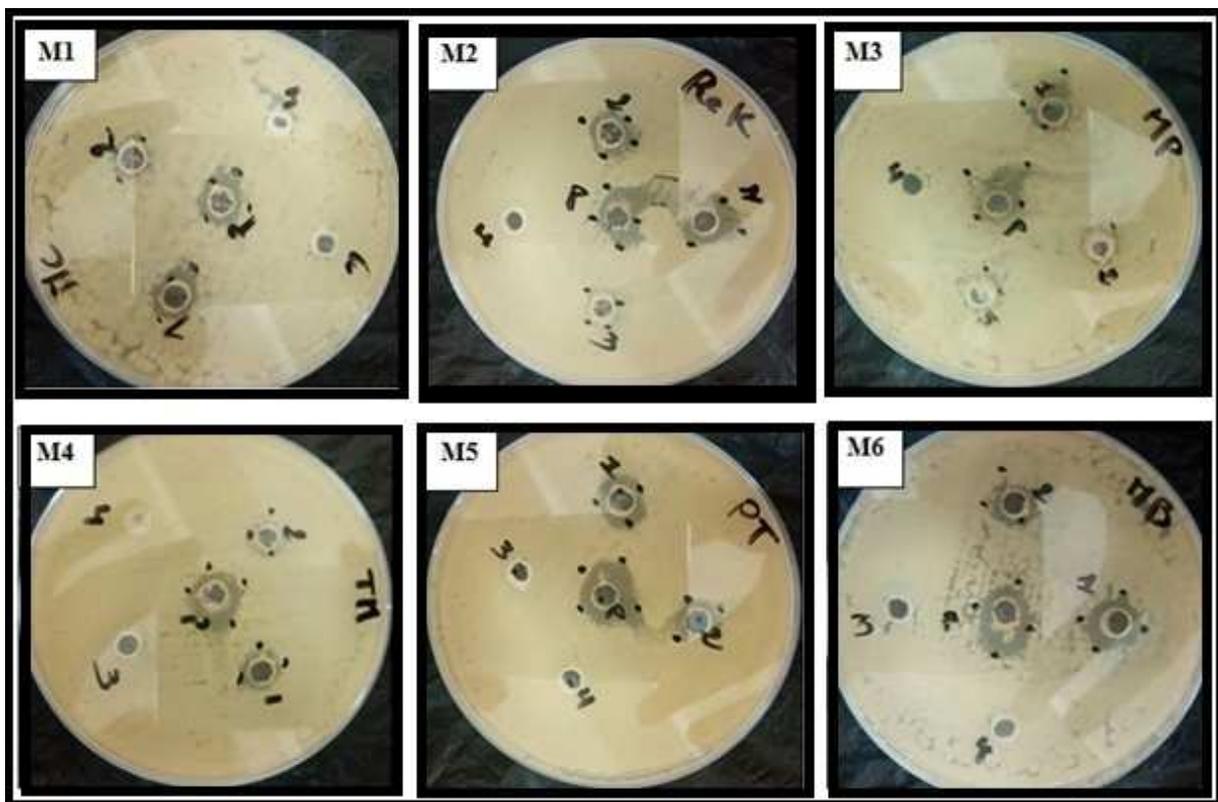


Figure 10 : le pouvoir antibactérien des miels testés vis-à-vis *K.pneumoniae*.

#### 4. Discussion

De nombreuses recherches ont été consacrées à la connaissance et à l'utilisation du miel depuis des millénaires par de nombreuses civilisations afin d'élucider ses propriétés nourrissantes, thérapeutiques, cicatrisantes, désinfectantes et antimicrobiennes.

Dans cette étude, les résultats de l'évaluation de l'activité antibactérienne vis-à-vis de *P.aeruginosa* et de *K.pneumoniae* montrent que tous les miels testés inhibent la croissance de ces deux souches bactériennes, avec une variation d'une part de l'échantillon du miel et d'autre part de la souche bactérienne. Ces résultats sont en accord avec l'étude menée par Merah *et al.*, (2010) sur trois échantillons de miel algériens testés sur des souches Gram-positif et Gram-négatif, montrant que *P.aeruginosa* était sensible à l'ensemble des miels, contrairement aux bactéries Gram-positif. Les auteurs ont pensé que les bactéries Gram+ dotées d'une paroi épaisse et dense, résistaient mieux à de fortes pressions exercées par des concentrations élevées en sucres, que les bactéries à Gram-négatif qui possèdent une paroi fine et lâche. A l'opposé, l'étude rapportée par Ouatah et Ouchabaa, (2015) sur 10 échantillons de miel testés vis-à-vis de 5 souches bactériennes a montré que l'activité antibactérienne était plus efficace sur des bactéries gram positif que les bactéries gram négatif puisque les souches d'*E.coli*, *B. subtilis*, *B. stéarine* ainsi que *P.aeruginosa* était moyennement sensibles par rapport à *S. aureus* qui était la plus sensible des germes étudiés. Aussi, l'étude de Assie, (2004) a montré que l'espèce *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis*, *Proteus species*, *Clostridium welchii*, étaient sensible à l'action antibactérienne du miel mais à un degré moindre par rapport à *Streptococcus pyogènes*, et *Escherichia coli*.

Le choix de *P.aeruginosa* isolée de plaie infectée pour cette étude est basé sur le fait que celle-ci est considérée comme l'une des principales espèces bactériennes impliquées dans les infections des grands brûlés et des plaies ; le miel peut donc constitué une bonne alternative dans le traitement de ces derniers. En effet. Suite l'augmentation des souches bactériennes multirésistantes, plusieurs travaux ont déjà montré la puissance et l'efficacité du miel en tant que soin pour les brûlures (Delphine, 2010). En effet, une ancienne étude de Ndayisaba *et al.*, (1992), sur quarante patients avec des plaies diverses et infectieuses traitées avec du miel, a montré une diminution du nombre de prélèvements bactériologiquement positifs à *P.aeruginosa*, *staphylococcus aureus* et *E.coli*. De même, l'étude de Nadine Guillon, (1996) sur la cicatrisation antibactérienne de miel, a montré une activité de 90% d'échantillons de miel contre *P.aeruginosa* , ainsi qu'une efficacité dans le traitement des plaies infectées par ce pathogène opportuniste. Pareillement, une étude plus récente menée par

Echchaoui *et al.*, (2007) sur huit patients porteurs de lésions cutanées diverses ayant bénéficié d'un traitement à base de miel, a montré des résultats très satisfaisants avec une cicatrisation très favorable au bout de 10 à 12 jours et une cicatrisation complète au bout de 27 jours. Désormais, il existe même sur le marché depuis quelques années, des pansements à base de miel monofloral ou polyfloral ayant subi une irradiation aux rayons gamma afin de conserver leurs propriétés biologiques naturelles [(Chan *et al.*, 2013) ; (Bera, 2009)].

Notre étude a montré que l'effet antibactérien des miels testés est plus important pour les échantillons purs non dilués, que pour les échantillons dilués, ce qui concorde avec les propos de Melliou et Chinou, (2005) qui considèrent que l'activité antibactérienne du miel est particulièrement efficace à fortes doses.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques chez *P.aeruginosa* et *K.pneumoniae* a montré un niveau de résistance similaire puisqu'elles sont résistantes à 4 ATB sur 7 ATB testés. Cependant, l'étude de l'activité antibactérienne du miel a montré que *K.pneumoniae* est sensible à tous les miels purs et leurs dilutions, puisqu'ils ont montré une puissante action inhibitrice sur sa croissance. En effet, cette souche s'est avérée très sensible pour toutes les concentrations 100%, 75% et 50% des 6 échantillon de miel testés, et pour 2/6 échantillons de miel à une concentration de 25%. En revanche, *P.aeruginosa* s'est montrée moyennement sensible, puisqu'on note une sensibilité à 4/6 échantillons de miel à une concentration de 75%, à 1/6 échantillons de miel à 50% et à aucuns échantillons à une concentration de 25% et 12,5%. Ces résultats sont comparables à ceux de Hammoudi et Boudershem, (2009) qui ont trouvé que *P.aeruginosa* était moyennement sensible à l'action de certains miels algériens. Aussi, l'étude de Djaafri *et al.*, (2014) sur cinq échantillons de miel vis-à-vis 10 souches bactériennes, a montré que l'activité inhibitrice de miels sur *K.pneumoniae* était importante pour les 6 concentrations testés. Au contraire, les travaux de Redouane et Tighlit, (2017) sur 9 échantillons de miel testés vis-à-vis 3 souches bactériennes, a montré que *K.pneumoniae* et *E.coli* était légèrement sensible en comparaison avec *S. aureus*.

Enfin, Abd - El Aal A.M considère que le miel peut être utilisée comme complément au traitement antibiotiques puisqu'il a prouvé dans une étude réalisée en 2007 qu'il existent un effet synergique entre l'activité antibactérienne du miel et l'activité antibactérienne des ATB en montrant que l'effet inhibiteur des ATB sur des bactéries gram+ isolées de brûlure infectés de 30 patients était plus significatif lorsque celui-ci est imprégné de miel.

L'Algérie constitue l'un des pays qui possède une grande diversité végétale et de bonnes conditions climatiques, favorables à la production de miel. La valeur médicinale de ce dernier est de plus en plus démontrée scientifiquement ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine.

Dans ce sens, la présente étude a permis de montrer l'importance des propriétés antibactérienne des miels algériens à l'égard de *P.aeruginosa* et de *K.pneumonia*, deux bactéries qui exposent un grand centre d'intérêt pour les risques d'infections nosocomiales, notamment les infections du site opératoire et les infections urinaires, suite à leurs résistances étendues aux antibiotiques.

Cette étude a aussi clairement dévoilé que l'activité antibactérienne du miel est variable d'un miel à l'autre et d'une bactérie à l'autre, puisque *K.pneumoniae* était plus sensible à l'action de l'ensemble des échantillons de miel testés, avec une meilleure efficacité du miel d'*Eruca sativa*; alors que *P.aeruginosa* était moyennement sensible avec une meilleure activité du miel poly-floral de montagne et de Beni Saf. De ce fait, cette étude a permis de déduire que nos miels sont de bonne qualité thérapeutique, pouvant trouver une application possible dans le traitement des différentes maladies causés par les germes pathogènes étudiés.

Enfin, dans le but de mieux vulgariser cet aspect thérapeutique et de compléter la présente étude, il serait souhaitable d'approfondir les recherches sur les différents types du miel en testant leurs efficacités sur d'autres germes pathogènes ainsi que de connaître le mécanisme d'action exacte des principes actifs impliqués dans ce pouvoir antibactérien. En dernier, l'activité antibactérienne du miel sur les biofilms bactériens fera potentiellement l'objet de nos futures études.

- Abousseddik, B. (2008).** «Les miracles du miel. Merveilles Coraniques». Texte parus dans El Moudjahid
- Ali-Raessi, F, M. Aslani, J. Raessi, N. Ali-Akbar, H.K.Z. Raessi, F. (2013).** Honey plus coffee versus systemic steroid in the treatment of persistent post
- Allen, K.L., Molan, P.C., Reid,G.M. (1991).** «A survey of antibacterial activity of some New Zealand honeys». J Pharm.Pharmacol, vol.43, p.817-822.
- Al-Mamary M., Al –Meeri A., and Al-Habori M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. Nutrition Research; 22 (9):1041-1047
- Alphandery R. (1992).** La route du miel. (deuxième édition 2002) Paris. Nathan.: 260p.
- Alvarez-Suarez JM., Giamperi F., Battino M. (2013)** Honey as a source of dietary antioxydants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. Current Med Chem; 20(5):621-38
- Al-Waili N., Salom K, Al-Ghamdi A., Ansari MJ. (2012)** Antibiotic, pesticide, and microbial contaminants of honey: human health hazards. Scientific World Journal. 2012:9308494, 9p.
- Amoros M., Simoes M., Cirre L., Sauvager F.(1992)** Synergistic effect of flavonone and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. J. Nat Prod, 55, 1732-40
- Anchling F. (2005).** Juin, sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. Revue j'abeille de France N° 915. 07p.
- Apimondia, (2000).** La é ecine ar les a eilles: traité it éra ie. Standing Commission of Apitherapy-Apimondia).
- Asadi-pooya A, Pnjehshahin M.R., Beheshti S.(2003)** The antimycobacterial effect of honey: an in vitro study. Riv. Biol, 2003 Sep-dec; 96(3), 491-5
- Assie B., Descottes B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse,p 115.
- Azeredo, L. Da .C. Azeredo, M .A.A. Souza, S.R. Dutra, V.M.L. (2003).** Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins». *Food Chemistry*, vol. 80, p. 249-254.
- Ballot-Flurin C. (2013)** L'apithérapie. Bienfaits des produits de la ruche. Ed. Eyrolles. 152p.
- Ben Haj Khalifa.A et Khedher. M. (2010).** Epidémiologie des souches de Klebsiella spp.uropathogènes productrices de B-lactamases à spectre élargi dans un hopital universitaire Tunisien.pathologie Biologie 60(2012) e1-e5.
- Bera A., Almeida- Muradian LB., Sabato SF.** Effect of gamma radiation on honey quality control. Radiation Physics and Chemistry, July-August 2009, Vol.78(7):583-584.

- Blanc M. (2010).** «Propriétés et usage médical des produits de la ruche». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges. En français.
- Bogdanov S. (1984).** « Characterisation of antibacterial substances in honey». *Lebensm.-Wiss.U.Technol*, vol.17, p. 74-76.
- Bogdanov S. (1997).**« Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey». *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, vol. 30, p. 748–753.
- Bogdanov S. (2006).** Contaminants of bee products. *Apidologie*, Springer Verlag (Germany), 37(1):1-18
- Bogdanov S., Bieri K., Gremaud G. (2004).** Produits apicoles, Pollen, Agroscope Liebefeld-Posieux, Station fédérale de recherches en production animale et laitière (ALP), Centre de recherches apicoles, Liebefeld-Berne, 6p.
- Bogdanov S., Iullmann C., Martin P. (2001).** Qualité du miel et norme international relative au miel. Rapport de la commission international du miel. Abeille Cie N° 71-4.1 2p.
- Bogdanov S., Pascale B. (2001).**« Propriétés antibiotiques naturelles du miel». Centre Suisse de recherche Apicole, p. 1-8.
- Bogdanov S., Tomislav J., Sieber R., Gallmann P. (2008).** «Honey for Nutrition and Health». *American Journal of the College of Nutrition*, vol. 27, p. 677-689
- Bose B.(1982)** Honey or Sugar in treatment of infected wounds ? *The lancet*, 8278, 963
- Boukraâ L., Sulaiman SA. (2010).** Honey use in burn management: potentials and limitations. *Forsch Komplement med.* 17(2):74-80.
- Brudzynski K. (December 2006).** Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. *Canadian Journal of Microbiology*, Volume 52. Number 12. 1 pp. 1228-1237(10).
- Cernakm., Majtanova N., Cernak A. et al., (2012)** Honey prophylaxis reduces the risk of endophthalmitis during perioperative period of eye surgery. *Phytother Res.* Apr;26 (4):613-6.
- Chan CW., Deadman BJ., Manley- Anley- -Harris M. et al.** Analysis of the flavonoid component of biocative New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey and the isolation, characterisation and synthesis of un unusual pyrrole. *Food Chem.* 2013 Dec 1;141(3):1772- 81.
- Cheorun J., Jae Kyung K., Jin Kang H. et al., (2005)** Irradiation Effects on the Decontamination of Microorganisms in Honey. International Symposium « New Frontier of Irradiated food and Non-Food Products », 22-23 September.
- Clémence, H. (2005).** « Le miel: de la source a la thérapeutique ». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université HenriPoincaré-Nancy. En français.

- Clément, H., Conte, Y. L., Barbancon, J.-M., Vaissière, B. & Collectif.** Le traité rustica e l a iculture. (Rustica éditions, 2011).
- Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie.** Communiqué 2018. <http://www.sfm-microbiologie.org>
- Cooper R. (2008)** Using honey to inhibit wound pathogens. Nurs Times; 104(3):46, 48-9.
- Courvalin P., Soussy C.J. (1996).** Technical recommendations of in vitro susceptibility testing. *Clint. Microbiol. Infect.* 2: 511-522.
- Cushnie T., Lamb A. (2005).**«Antimicrobial activity of flavonoids». *Int J Antimicrob Agents*, vol.26, p. 343-346.
- Delphine, I. (2010).** « Le miel et ses propriétés thérapeutiques ». Thèse du doctorat
- Desmouliere A., Bonet F., Couquet Y., Rigal M.L. (2013)** Le miel, quel intérêt en cicatrisation ? *Actualités Pharmaceutiques*, 52 (531), pp.17-35
- Djaafri, F. Rezzoug, S. Ounis, K. (2014).** Caractérisation physico-chimiques et effet antibactérien de quelques types de miels, thèse Ingénieur d'Etat, Université merbah d'ouargla, Algérie
- Djemoui, D. (2012).** Contribution à l'étude de l'activité antioxydante et antibactérienne de quelques coumarines synthétisées, Mémoire Master Académique, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- Domergo R. (2011).** *Mélipona : L'Abeille sacrée des Mayas* ( Baroch éd).
- Donadieu Y, (1978)** Le miel thérapeutique. 2ème Ed Maloine S.A .Paris.28 p.
- Donadieu Y, (1982)** Pollen thérapeutique naturelles. 5 ème Ed Maloine S.A Paris. 31p.
- Drouet N. octobre (1983)** L'utilisation du sucre et du miel dans le traitement des plaies infectées. *La Presse Médicale*, (12), n038, 2355-6
- El-Sohaimy, S.A. Masry, Sh.D. Shehata, M.G. (2015).** Physicochemical characteristics of honey from different origins . *Annal of Agricultural Sciences*, vol.60, n°2, p. 279-287. (Science directe).
- F.A.O. (2011).** (Food and Agriculture Organisation). Database resulte; FAO-STAT.
- Farzana A.Y., Malik H.M., Abdul M., Ruqaiyyah S., Naveed A.K. (2016).** Antiacanthamoebic properties of natural and marketed honey in Pakistan
- Guerriat H. (2000).** Etre performant en Apiculture. Édition Rucher du Tilleul. 415p.
- Guinot L., Coustel J., et Huchet E. (1996).** les constituants chimiques du miel. Méthodes d'analyses. Département science des aliments.
- Hamoudi, E. Boudershem, A. ( 2009)** l'effet antibactérienne du miel. Diplôme d'Etudes supérieures, Kasdi Merbah Ouargla.

- Ibrahim-khalil, M. (2012).** Moniruzzaman, M . Boukraa, L. Benhanifia, M. AsifulIslam, Md. Nazmul-Islam, Md. Siti-Amrah, S. Hna-Gan, S. Physicochemical and Antioxidant properties of Algerian honey. *Molécules*, vol.17, n°9, p. 11199-11215
- Ioiriche N. (1979)** Les abeilles, pharmaciennes ailées, 3ème édition, Moscou, Éditions Mir, 1979, 239p
- Ioiriche N. (1979)** Les abeilles, pharmaciennes ailées, 3ème édition, Moscou, Éditions Mir, , 239p.
- Irlande D.** Le miel et ses propriétés thérapeutiques, Utilisation dans les plaies cutanées [en ligne]. Disponible sur : < [www.hippocratus.com](http://www.hippocratus.com) > (consulté le 18.02.15).
- Knight A (2013).** «The therapeutic effects of honey». *The Plymouth student scientist*, vol.6,n° 1, p.376-385.
- Kwakman P.H.S., Tevelde A.A., De Boer L., Speijer D., Vande brouckegrauls C.M.J.E., Sebastian A. J., Zaat SA (2010).** «How honey kills bacteria». *FASEB. J.*, vol. 24, p.2576-2582.
- Laboratoire du cari.** L'APIculture wallone et bruxelloise [en ligne]. Disponible sur < [www.cari.be](http://www.cari.be) > (Consulté le 14.01.15)
- Majtan J.( 2011) .** «Methylglyoxal – A Potential Risk factor of Manuka Honey in Healing of Diabetic Ulcers». *Evidence- Based Complementary and Alternative Medicine*.p.1-5.
- Makhloufi, Ch. (2010).** *Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels Algérienne*. Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en science agronomiques. Université Alger. En français
- Meda A. (2005).** *Utilisation thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activité biologiques des miels du Burkina faso*. Thèse de doctorat en science biologiques appliquées : 10-12
- Mendes E., Brojoproenc E., Ferreira I.M.P.L.V.O. et Ferreira M.A. (1998).** *Qualitéévaluation of portuguese honey*. *Carbohydrate polymers*.37: 219-223.
- Meo S. A., Al-Asiri S A., Mahesar A., L,Ansari M. J. (2016).** Role of honey in modern medicine. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Merah, M. Bensaci-Bachagha, M. Boudershem, A. (2010).** «Etude de l'effet antimicrobienne de trios échantillons du miel naturel récoltes du territoire Algerien». *Annales des Science et Technologie*, vol. 2, n°2, p. 115-125, Algérie.
- Molan PC. (1992)** The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity. *Bee world*. 73: 5-28

- Nadine, G. (1996).** L'étude de l'activité antibactérienne du miel. Thèse de doctorat, université de limoges.
- Nadir, S. (2014).** Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, Algérie. En français.
- Ndayisaba, G. Bazira, L. Habonimana E. (1992):** Evolution clinique et bactériologique des plaies traitées par le miel, Analyse d'une série de 40 cas. Médecine d'Afrique Noire: 1992, 39 (8/9)
- Ndife J., Abioye L., Dandago M. (2014).** Quality Assessment of Nigerian Honey Sourced from Different Floral Locations, Official Journal of Nigerian Institute of Food Science and Technology. Vol. 32 No. 2, pages 48 – 55.
- Nicolay, J. (2014).** Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Angers. En français.
- Obaseiki-ebor E.E., AFONYA T.C.A.(1984)** in vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate (IHY-1) compared to that of some antimycotic agents. J. Pharm. Pharmacol., , 36,283-4
- Olaitan, P.B. Adeleke, O.E. Ola, IO. (2007).** Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. African Health Sciences, vol. 7, n°3, p. 159-65..
- Oudjet, K. (2012).** Le miel une denrée à promouvoir. Infos-CACQE, p.1-3.
- Paulus H.S., Kwakman . Sebastian A. J., Zaat SA. (2011).** « Antibacterial components of honey». IUBMB Life, vol.64, n°1, p.48-55.
- Pham-Delegue M. H. (1999).** Les abeilles.Genève, Minerva.pp.206
- Phillipe JM. (2007)** Le guide de l'apiculteur, Editions Edisud, , 315 p
- Pier, G. Ramphal, R. (2005).** Pseudomonas aeruginosa. Principles and Practice of Infectious Diseases (Mandell G, Bennett J and Dolin R eds) pp 2587-2615, Elsevier Churchill Livingstone, Philadelphia, PA.
- Rossant, (2011).** ROSSANT A., 2011- Le miel, un compose complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 132 p
- Sagripanli L., Routson B., Bonilacion C. (1997)** Mechanism of copper mediated inactivation of herpes simplex virus. Antimicrobial Agent Chemother, 41, 812-7
- Sanz ML., Polemis N., Morales V et al. (2005)** In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. J Agric Food Chem 20 ; 53(8) :2914-21.
- Schweitzer, P. (2000).** La couleur des miels. Syndicat National D'apiculture. En ligne < [www.apiservices.biz](http://www.apiservices.biz)>. Consulté le 21 mars 2017

**Schweitzer, P. (2004) :** le monde des miellats. Revue l'abeille de France N°908 laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.04p.

**Schweitzer, P.** Un miel étrange... [En ligne]. Disponible sur < [www.apiservices.com](http://www.apiservices.com) > (Consulté le 20.02.15)

**Shambaugh P., Worthington V., Herbert JH. juillet-août 1990** – Differential effects of honey, sucrose and fructose on blood sugar levels - Journal of manipulative and physiological therapeutics, , 13 (6), p. 322-325

**Sib, A. (2007).** Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe. Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.

**Taormina P.J., Niemira B.A., Beuchat L.R. (2001)** Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. International Journal of Food Microbiology, 69(3), 217-25

**Torre D., Pugliese A., Speranza F. (2002)** Role of nitric oxide in HSV1 infection: friend or foe? Lancet Infected Diseases, 2, 273-80

**Viel, C. Doré, JC. (2003).** Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche. Revue d'histoire de la pharmacie ; 337:7-20.

**Wacker, R. (2013).** Honey and its contaminants. [En ligne]. Disponible sur < [www.sgs.com](http://www.sgs.com) > (Consulté le 01.06.15).

**Yaiche Achour, H. Khalil, M. (2014).** « Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques ». Afrique Science, vol.10,n°2,p.127-136.

**Annexe 1 :** Composition des milieux de culture et solution utilisée

(M.H) Muller Hinton

- Extrait de viande 2g
- Caséine 17,5g ou 38g de poudre déshydratée
- Amidon 1,5g de Muller Hinton
- Agar 15g
- Glucose 20g
- E.D 1000ml pH 7,4 ± 0,2

**Annexe 2:** (E.D) Eau physiologique

- Na Cl 9g
- E.D 1000ml

**Annexe 3 :** Gélose cétrimide

- peptone de gélatine : 16,0 g
- peptone de caséine : 10,0 g
- bromure de tétradonium (cétrimide) : 0,2 g
- Acide nalidixique 15,0 mg
- sulfate de potassium 10,0 g
- chlorure de magnésium 1,4 g
- agar 10,0 g
- pH = 7,1

**Annexe 4 :** Gélose Mackonky

- Peptone pancréatique de gélatine 17,0 g
- Tryptone 1,5 g
- Peptone pepsique de viande 1,5 g
- Lactose 10,0 g
- Sels biliaires 1,5 g
- Chlorure de sodium 5,0 g
- Rouge neutre 30,0 mg
- Cristal violet 1,0 mg
- Agar agar bactériologique 13,5 g

- pH du milieu prêt-à-l'emploi à 25°C : 7,1 ± 0,2.

**Annexe 5 : Bouillon nutritif**

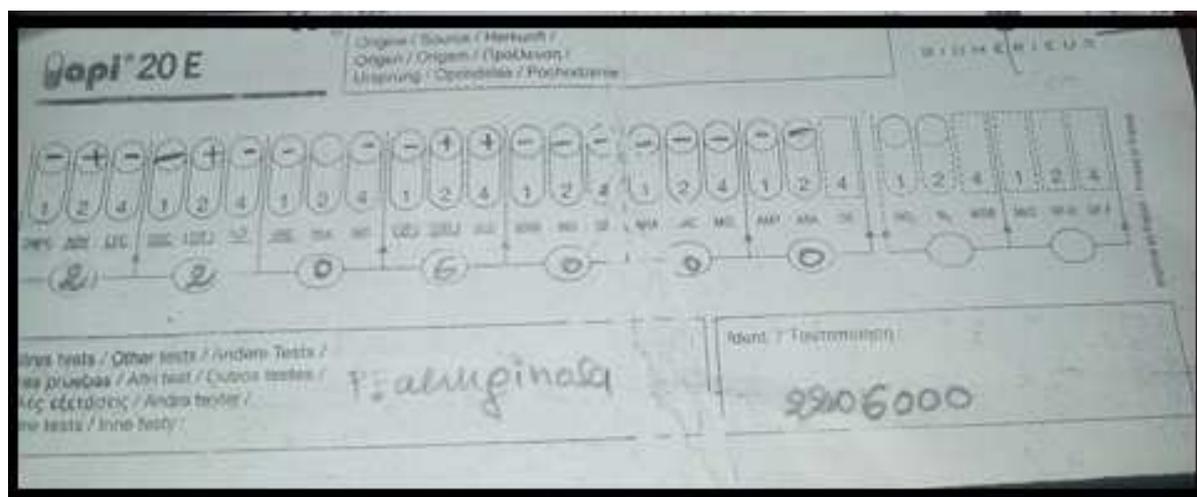
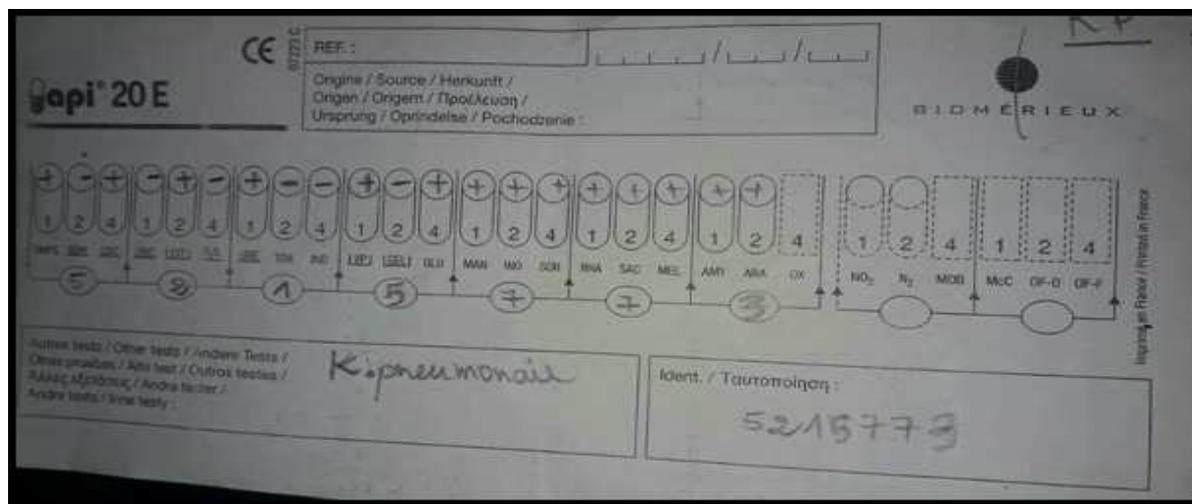
- Peptone 20g
- Nacl 5g
- Glucose 10g

**Annexe 6 : L'effet des six échantillons de miel sur les deux souches testés.**

|    | <i>Pseudomonas aeruginosa</i> |      |   |   |      | <i>Kebseilla pneumoniae</i> |      |      |   |      |
|----|-------------------------------|------|---|---|------|-----------------------------|------|------|---|------|
|    | A                             | B    | C | D | P    | A                           | B    | C    | D | P    |
| M1 | 12                            | 3    | 0 | 0 | 18,6 | 13                          | 9,6  | 0    | 0 | 14,3 |
| M2 | 10                            | 0    | 0 | 0 | 31,3 | 16,6                        | 13,3 | 11,3 | 0 | 18   |
| M3 | 16,6                          | 10,6 | 0 | 0 | 17,3 | 12                          | 10,3 | 8,3  | 0 | 16,3 |
| M4 | 0                             | 0    | 0 | 0 | 30,3 | 10,3                        | 9,3  | 0    | 0 | 16   |
| M5 | 0                             | 0    | 0 | 0 | 32,3 | 13                          | 13   | 0    | 0 | 17   |
| M6 | 12                            | 0    | 0 | 0 | 39,3 | 14,6                        | 11   | 0    | 0 | 18   |

A : 75%, B : 50%, C : 25%, D : 12.5%, P : pur

**Annexe 7 : Résultat de l'identification de deux souches par la galerie API 20E.**



**Annexe 8** : Résultat de l'identification de deux souches par la galerie API 20E.

|                       | <i>P.aeruginosa</i> | <i>K.Pneumoniae</i> |
|-----------------------|---------------------|---------------------|
| <b>ONPG</b>           | -                   | +                   |
| <b>ADH</b>            | +                   | -                   |
| <b>LDC</b>            | -                   | +                   |
| <b>ODC</b>            | -                   | -                   |
| <b>CIT</b>            | +                   | +                   |
| <b>H<sub>2</sub>S</b> | -                   | -                   |
| <b>URE</b>            | -                   | +                   |
| <b>TDA</b>            | -                   | -                   |
| <b>IND</b>            | -                   | -                   |
| <b>VP</b>             | -                   | +                   |
| <b>GEL</b>            | +                   | -                   |
| <b>GLU</b>            | +                   | +                   |
| <b>MAN</b>            | -                   | +                   |
| <b>INO</b>            | -                   | +                   |
| <b>SOR</b>            | -                   | +                   |
| <b>RHA</b>            | -                   | +                   |
| <b>SAC</b>            | -                   | +                   |
| <b>MEL</b>            | -                   | +                   |
| <b>AMY</b>            | -                   | +                   |
| <b>ARA</b>            | -                   | +                   |

## Résumé

Le miel est un produit utilisé depuis l'antiquité comme remède dans de nombreuses cultures et communautés, et est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle. L'objectif de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne de six échantillons de miels récoltés de différentes régions du territoire national aux différentes concentrations de 100%, 75%, 50% et 25% 12.5% vis-à-vis de bactéries responsables d'infections nosocomiales. La technique en diffusion en gélose a montré que l'effet d'inhibiteur a été remarquable chez la majorité des échantillons de miel testés avec une certaine variabilité selon la souche et le type de miel. La souche *K.pneumoniae* révèle une sensibilité intéressante surtout avec le miel d'*Eruca sativa*. Le miel poly-floral de montagne et de Béni Saf révèlent une activité importante sur *P.aeruginosa*, cependant celle-ci est considérée comme étant moins sensible par rapport à *K.pneumoniae*. Cette étude dévoile des variétés des miels antibactériens qui peuvent être exploités en application clinique.

Les mots clés : Activité antibactérienne, *K.pneumoniae*, miel, *P.aeruginosa*.

## Abstract

The honey is a product used since antique as cure in many cultures and communities, and considered an important part of traditional medicine. The objective of this job is to study the antibacterial activity of six samples of harvested honey by different regions of the national territory in different 100 % concentration, 75 %, 50 %, 25 % and 12.5% in relation to bacteria representative for nosocomiales infections. The technology in broadcasting in agar-agar showed that the effect of inhibitor was remarkable at the majority of the samples of honey tested with some changeability according to the stump and type of honey. The stump *K.pneumoniae* reveals an interesting sensitivity especially with the honey of poly-flower *Eruca sativa*. The honey of mountain and of bénisaf reveal an important activity on *P.aeruginosa*, however, this one is considered as being less sensitive in comparison with *K.pneumoniae*. This study reveals varieties of antibacterial honey, which can be exploited in clinical application.

Key words: antibacterial activity, Honey, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*.

## ملخص

العسل هو منتج يستخدم منذ العصور القديمة كعلاج في العديد من الثقافات والمجتمعات، ويعتبر جزءاً هاماً من الطب التقليدي. كان الهدف من هذه الدراسة التعرف على النشاط المضاد للبكتيريا لست عينات من العسل من مناطق مختلفة من البلاد مع تركيزات مختلفة من 100%، 75%، 50%، 25% و 12.5% ضد البكتيريا المسؤولة عن عدوى في المستشفيات. وأظهرت تقنية نشر الأجار أن التأثير المثبط كان ملحوظاً في غالبية عينات العسل التي تم اختبارها مع بعض التباين وذلك وفقاً لسلالة البكتيريا ونوع العسل. البكتيريا *K.pneumoniae* اظهرت حساسية مثيرة للاهتمام خصوصاً مع العسل *Eruca sativa* و العسل متعدد الازهار بالجبال ببني صاف اظهر نشاط كبير على *P.aeruginosa*، على الرغم من أن هذا الأخير يعتبر أقل حساسية مقارنة *K.pneumoniae*. هذه الدراسة تكشف عن أنواع من العسل المضاد للبكتيريا التي يمكن استغلالها في التطبيق السريري.

الكلمات المفتاحية: *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*، العسل، النشاط المضاد للبكتيريا،