

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE**  
**Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique**  
**Université de Ghardaïa**



**Faculté des Sciences de la Nature et de Vie et Sciences de la Terre**  
**Département de Biologie**

**Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de**  
**MASTER**

**Filière : Science biologiques**

**Spécialité : Microbiologie appliquée**

**Par : TERBAGOU Bochra Naouia**

**HACINI Woroud**

**Thème**

**Evaluation du pouvoir antimicrobien et de la qualité  
microbiologique (bactéries lactiques) de quelques types  
de miels naturels récoltés dans plusieurs régions  
d'Algérie**

**Soutenu publiquement, le 11 /06 /2024,**

**Devant le jury composé de :**

- M. DJELLID Youcef** Maitre-Assistant A Univ. Ghardaïa **Président**
- M. IDER Soufian** Maitre de conférences B Univ. Ghardaïa **promoteur**
- M. BAKLI Mahfoud** Maitre de conférences A Univ. Ghardaïa **Examineur**

**Année universitaire : 2023/2024**



## Remerciements

Alhamdulillah, grâce à qui ce projet a été rendu possible par des personnes qui méritent nos remerciements les plus sincères.

Nous tenons tout d'abord à exprimer notre profonde gratitude et notre sincère reconnaissance à M. IDER Soufian, Maitre de conférences "B" à la Faculté des Sciences de la Nature, de la Vie et de la Terre, qui a bien voulu nous encadrer et qui a bien voulu suggérer et guider ce travail, à qui nous devons une grande reconnaissance et un grand respect.

Nous tenons également à remercier les membres du jury, M. DJELID Youcef Maitre-Assistant "A" et M. BAKLI Mahfoud, Maitre de conférences "A" à Université de Ghardaïa pour avoir accepté de juger ce modeste travail.

Nous tenons également à remercier Monsieur Hicham BEN HAMOUDA, responsable du magasin, pour ses efforts et sa diligence à nous fournir tout ce dont nous avons besoin au niveau de l'application.

Sans oublier les soldats invisibles que sont les techniciens de laboratoire, Bachir BEN SALEH, HADJ OMAR Najat, MOULAY OMAR Bachir, pour nous avoir ouvert les laboratoires et fourni le matériel dont nous avons besoin.

Un grand merci également à M. MEBARKI Mohamed pour nous avoir accompagnés pendant le voyage et avoir essayé de nous aider à faire de notre mieux.

Enfin, nous tenons à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce modeste travail à la réalisation de ce modeste travail.



## *Dédicace*

*Je dédie ce travail, réalisé par la grâce de Dieu*

*À mes parents, à mon soutien et à ma fierté, à la source de sécurité et de force dans ma vie, à mon cher père TERBAGOU Ahmed Said, à la source de tendresse et de générosité, à la personne qui illumine ma vie, ma chère maman NOUACER Yakout.*

*Au sucre de la vie et à la joie qui remplit ma vie, à celles qui m'apportent un soutien sans faille, à mes sœurs Douaa, Malek, Ritadj.*

*À mes tantes Rouba, Khadidja, Fouzia et à mon oncle Mounir qui m'ont permis d'arriver jusqu'ici et qui m'encouragent toujours.*

*À tous ceux qui ont contribué à ce moment spécial de ma vie.*

*Et enfin, à mon partenaire, non seulement dans ce travail, mais tout au long de ce voyage de cinq ans, à mon ami que j'ai eu l'honneur de connaître HACINI Woroud.*

*Bohra*



## *Dédicace*

*Je dédie mon succès*

*À ma chère mère OULAD HADDER Radia qui a quitté ce monde et a laissé derrière elle des souvenirs inoubliables.*

*À mon père HACINI Bachir qui m'a encouragé à aller jusqu'au bout et à réaliser mon rêve.*

*À ma sœur Somia, à mes frères Moataz, Achraf, Taha et à toute ma famille.*

*À mes tantes bien-aimées qui m'ont soutenu dans mon travail.*

*À mon amie et collègue dans cette recherche, Bochra TERBAGOU, qui était une bonne amie, et à toute la famille HACINI.*

*Woroud*

## Résumé

L'activité antimicrobienne du miel naturel est observée et enregistrée depuis de nombreuses années. Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne du miel algérien et de déterminer s'il existe des facteurs qui affectent l'activité antimicrobienne du miel, tels que la zone géographique, le type de plante, le climat, etc., il a été décidé de mener une étude sur l'activité antimicrobienne du miel naturel et de répondre à la question Quels sont les composants présents dans le miel naturel qui ont des propriétés antimicrobiennes ? Existe-t-il des facteurs qui affectent la qualité et l'efficacité du miel ?

Différentes analyses ont été effectuées sur cinq échantillons de miel algérien, à savoir le miel d'eucalyptus, le miel de cresson, le miel de Sedra, le miel d'agrumes et le miel multi flore, qui ont été collectés dans différentes régions et à différents intervalles de temps, comme suit : cresson (Ain ouassera/Mars) ; Sedra (Djelfa/Mai-Juin) ; eucalyptus (Boumerdasse/Juin) ; agrumes (Ghardaia/Avril) ; multi flore (Mars-Juillet / la zone géographique est inconnu). Les analyses comprenaient la méthode de bonne diffusion sur milieu solide où 3 dilutions différentes (80%, 40%, 20%) ont été utilisées et diluées avec de l'eau distillée stérile ou de la catalase, qui est connue pour affecter négativement l'activité de l' $H_2O_2$ , ainsi que la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) en utilisant une technique de microdilution où 4 dilutions différentes (50% 40% 30% 20%) ont été utilisées et diluées avec de l'eau distillée stérile, les bactéries lactiques ont été isolées et le pH a été mesuré.

Les résultats ont montré la présence d'une activité antimicrobienne du miel contre les huit bactéries utilisées avec ou sans catalase (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932). Les meilleurs résultats ont été enregistrés par le miel de Sedra et le miel de cresson, où se trouvait *Listeria monocytogenes* la plus sensible enregistre d'une zone d'inhibition de 46 mm de diamètre à une concentration de 80% de miel (Cresson) et *Pseudomonas aeruginosa* était le plus résistant. Alors qu'aucun miel n'a enregistré d'activité antimicrobienne pour *Candida albicans* (Levure) ATCC 10231. Pour la méthode de microdilution aussi les meilleurs résultats ont été enregistrés par le miel de Sidra et le miel de cresson avec concentration <20%.

Le miel naturel (algérien) a une activité antimicrobienne et il existe des facteurs qui affectent cette activité du miel, ce qui justifie les raisons des différentes activités antimicrobiennes, car le miel contient plusieurs éléments qui lui confèrent une activité antimicrobienne, ce qui est évident lorsque l'un des éléments du miel est supprimé et qu'il conserve néanmoins son activité antimicrobienne.

Mots clés : miel naturel algérien, activité antimicrobienne, bactéries lactiques, diffusion en puits sur milieu solide.

## Abstract

The antimicrobial activity of natural honey has been observed and recorded for many years. In order to assess the antimicrobial activity of Algerian honey and to determine whether there are factors that affect the antimicrobial activity of honey, such as geographical area, type of plant, climate, etc., it was decided to carry out a study on the antimicrobial activity of natural honey and to answer the question What components present in natural honey have antimicrobial properties ? Are there factors that affect the quality and effectiveness of honey ?

Different analyses were carried out on five samples of Algerian honey, namely eucalyptus honey, watercress honey, Sedra honey, citrus honey and multi-flora honey, which were collected in different regions and at different times, as follows: watercress (Ain ouassera/March); Sedra (Djelfa/May-June); eucalyptus (Boumerdasse/June); citrus (Ghardaia/April); multi flora (March-July / geographical area is unknown The analyses included the good diffusion method on solid medium where 3 different dilutions (80%, 40%, 20%) were used and diluted with sterile distilled water or catalase, which is known to negatively affect H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> activity, as well as the determination of the minimum inhibitory concentration (MIC) using a microdilution technique where 4 different dilutions (50%40%30%20%) were used and diluted with sterile distilled water, lactic acid bacteria were isolated and pH was measured.

The results showed the presence of antimicrobial activity of the honey against the eight bacteria used with or without catalase (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932) The best results were recorded by Sedra honey and watercress honey, where *Listeria monocytogenes* was the most sensitive recording an inhibition zone of 46 mm diameter at a concentration of 80% honey (Watercress) and *Pseudomonas aeruginosa* was the most resistant. While no honey recorded antimicrobial activity for *Candida albicans* (Yeast) ATCC 10231. For the microdilution method, the best results were also recorded by Sidra honey and watercress honey with <20% concentration.

Natural (Algerian) honey has antimicrobial activity and there are factors that affect this activity of honey, which justifies the reasons for the different antimicrobial activities, because honey contains several elements that give it antimicrobial activity, which is evident when one of the elements of honey is removed and it nevertheless retains its antimicrobial activity.

Key Words : natural Algerian honey, antimicrobial activity, lactic acid bacteria, well diffusion on solid medium.

## ملخص

تمت ملاحظة وتسجيل النشاط المضاد للميكروبات للعسل الطبيعي لسنوات عديدة. من أجل تقييم النشاط المضاد للميكروبات للعسل الجزائري وتحديد ما إذا كانت هناك عوامل تؤثر على النشاط المضاد للميكروبات للعسل، مثل المنطقة الجغرافية ونوع النبات والمناخ وما إلى ذلك، تقرر إجراء دراسة حول النشاط المضاد للميكروبات للعسل الطبيعي والإجابة على السؤال ما هي المكونات الموجودة في العسل الطبيعي التي لها خصائص مضادة للميكروبات؟ هل هناك عوامل تؤثر على جودة العسل وفعاليتها؟

أجريت تحاليل مختلفة على خمس عينات من العسل الجزائري، وهي عسل الأوكالبتوس وعسل الجرجير وعسل السدر وعسل الحمضيات وعسل متعدد الأزهار، والتي تم جمعها في مناطق مختلفة وفي أوقات مختلفة، على النحو التالي عسل الجرجير (عين وسارة/مارس)؛ وعسل السدر (الجلفة/مايو-يونيو)؛ وعسل الكاليتوس (بومرداس/يونيو)؛ وعسل الحمضيات (غرداية/ابريل)؛ نباتات متعددة (مارس-يوليو /منطقة جغرافية غير معروفة) شملت التحاليل طريقة الانتشار على وسط صلب حيث تم استخدام 3 تخفيفات مختلفة (20%، 40%، 80%) ومخففة بالماء المقطر المعقم أو الكاتلاز المعروف بتأثيره السلبي على نشاط  $H_2O_2$  بالإضافة إلى تحديد الحد الأدنى للتركيز المثبط (MIC) باستخدام تقنية التخفيف الدقيق حيث تم استخدام 4 تخفيفات مختلفة (20%، 30%، 40%، 50%) ومخففة بالماء المقطر المعقم، وتم عزل بكتيريا حمض اللاكتيك وقياس الأس الهيدروجيني.

أظهرت النتائج وجود نشاط مضاد للميكروبات للعسل ضد البكتيريا الثمانية المستخدمة مع أو بدون الكاتلاز (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603, *Salmonella typhimurium* ATCC 14028, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Bacillus cereus* ATCC 14579, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212, *Listeria monocytogenes* ATCC 13932)

وقد سجلت أفضل النتائج بواسطة عسل السدر وعسل الجرجير حيث كانت بكتيريا *Listeria monocytogenes* الأكثر حساسية مسجلةً منطقة تثبيط بقطر 46 ملم عند تركيز 80% من العسل (الجرجير) وكانت بكتيريا *Pseudomonas aeruginosa* الأكثر مقاومة. في حين لم يسجل العسل أي نشاط مضاد للميكروبات ضد *Candida albicans* (الخميرة) ATCC 10231 أما بالنسبة لطريقة التخفيف المصغر، فقد سجلت أفضل النتائج أيضًا في عسل السدر وعسل الجرجير بتركيز أقل من 20%.

يحتوي العسل الطبيعي (الجزائري) على نشاط مضاد للميكروبات، وهناك عوامل تؤثر على هذا النشاط للعسل، وهو ما يبرر أسباب اختلاف نشاطه المضاد للميكروبات، لأن العسل يحتوي على عدة عناصر تمنحه نشاطاً مضاداً للميكروبات، وهو ما يتضح عند إزالة أحد عناصر العسل ومع ذلك يحتفظ بنشاطه المضاد للميكروبات.

الكلمات المفتاحية: العسل الطبيعي الجزائري، النشاط المضاد للميكروبات، البكتيريا اللبنية، طريقة الانتشار البشري .

## Liste des tableaux

Tableau 1 : Les variétés de miel en Algérie .....	11
Tableau 2 : Sources florales de miels ayant des activités antimicrobiennes .....	14
Tableau 3 : Echantillon du miel utilisées .....	20
Tableau 4 : Souches cibles dans les différents tests d'activité antimicrobienne .....	21
Tableau 5 : Simulation de microplaque pour un seul échantillon .....	25
Tableau 6 : Le diamètre de zone d'inhibition des échantillons des miels .....	30
Tableau 7 : Résultats obtenus à partir de CIM .....	31
Tableau 8 : Le dénombrement de bactéries lactique .....	32

## Liste des figures

Figure 1: Abeilles en train de fabriquer du miel .....	3
Figure 2: Le processus de formation du miel .....	4
Figure 3 : Composés présents dans le miel .....	5
Figure 4 : Composition moyenne du miel. ....	6
Figure 5 : Structure chimique de la défensine .....	17
Figure 6 : Abeilles productrices de miel.....	20
Figure 7 : Schéma montrant à quoi ressemble une boîte de Pétri après l'ensemencement .....	23
Figure 8 : Schéma explicatif du repiquage par la méthode des stries.....	26
Figure 9 : Quelques résultats positifs des zones d'inhibition des échantillons du miel analysés .....	31
Figure 10 : La coloration de gram pour les bactéries isolées à grossissement 100X .....	32
Figure 11 : Les résultats des tests de catalase pour les bactéries isolées .....	33
Figure 12 : Les résultats de test de fermentation .....	33
Figure 13 : Les valeurs de pH du miel analysés .....	34



## Liste des abréviations

- G : gramme
- mg : Milligramme
- Kg : kilogramme
- pH : potentiel hydrogène
- mm : Millimètre
- ml : Millilitre
- µl : Microlitre
- % : Pourcentage
- J : Cresson
- SD : Sedra
- K : Eucalyptus
- M : Multi fleur
- L : Agrumes
- MD : Micro-dilution
- DPG : Diffusion sur puits de gélose
- CMI /CIM : Concentration minimale inhibitrice
- H : Heure
- °C : Degré Celsius
- UFC : Unité formant colonie
- mg : Milligramme
- Kg : kilogramme
- PA : *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853
- EC : *Escherichia coli* ATCC 25922
- KP : *Klebsiella pneumoniae* ATCC 700603
- ST : *Salmonella typhimurium* ATCC 14028
- SA : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923
- BC : *Bacillus cereus* ATCC 14579
- EF : *Enterococcus faecalis* ATCC 29212
- LM : *Listeria monocytogenes* ATCC 13932
- CA : *Candida albicans* (Levure) ATCC 10231
- LVR : Laboratoire vétérinaire régional de Tlemcen
- LAMAABE : Laboratoire de Microbiologie Appliquée à l'Agroalimentaire au Biomédical et à l'Environnement
- LAPSAB : Laboratoire Antibiotiques Antifongiques : Physico-chimie Synthèse et Activité Biologique
- LBSM : Laboratoire de Biologie des Systèmes Microbiens
- ATCC : American Type Culture Collection
- MDR : Multidrug resistance
- CCUG : Culture Collection University of Gothenburg
- CECT : Spanish Type Culture Collection
- VIH / HIV : virus de l'immunodéficience humaine
- ESA : European Space Agency
- CCM : Czech Collection of Microorganisms
- MGO : méthylglyoxal
- HMF : Hydroxyméthylfurfuraldehyde
- GOD : Glucose oxydase
- MHB : Bouillon de Muller Hinton

## Table des matières

Remerciements

Dédicace

Résumé

Abstract

ملخص

Liste des tableaux

Liste des figures

Liste des abréviations

Introduction ..... 1

### CHAPITRE 01 : Généralités sur le miel

.1	Définition du miel .....	2
2.	Formation du miel .....	2
3.	Composition chimique .....	5
3.1	Eau.....	5
3.2	Sucres .....	6
3.3	Protéines .....	6
3.4	Acides organiques .....	7
3.5	Vitamines.....	8
3.6	Minéraux .....	8
3.7	Composés phénoliques .....	9
3.8	Composés volatils.....	9
3.9	Hydroxymethylfurfuraldehyde HMF .....	10
4.	Composition microbiologique du miel.....	10
5.	Les types de miel en Algérie .....	10
6.	Les propriétés antimicrobiennes du miel.....	12
6.1	Activité antibactérien du miel .....	12

6.2	Activité antifongique du miel.....	12
6.3	Activité antivirale du miel.....	13
6.4	Activité antiparasitaire du miel .....	13
7.	Facteurs agissent l'activité antimicrobien du miel et leur mode d'action .....	16
7.1	pH.....	16
7.2	Pression osmotique et activité de l'eau .....	16
7.3	H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> .....	16
7.4	Les composés volatils.....	17
7.5	La défensine-1 .....	17
7.6	Polyphénol.....	17
7.7	Lysozyme .....	18
7.8	méthylglyoxal (MGO).....	18
7.9	Bactéries lactiques .....	18
8.	Intérêts nutritionnels et thérapeutiques.....	19

## **CHAPITRE 02 : Matériel et Méthodes**

1.	Echantillons .....	20
2.	Souches .....	21
3.	Test d'activité antimicrobien.....	21
3.1	Méthode de diffusion par puits sur gélose.....	21
3.2	Méthode de micro-dilution par puits de microplaque .....	23
4.	Recherche des bactéries lactiques .....	25
4.1	Dénombrement et Préparation de la solution mère et des dilutions de bactéries lactique .....	25
4.2	Purification des souches isolées .....	26
4.3	Test d'orientation pour l'identification des souches.....	27
4.3.1	Aspect macroscopique.....	27
4.3.2	Coloration de Gram.....	27
4.3.3	Test de catalase.....	27
4.3.4	Type fermentaire .....	27

5. Mesure de Ph.....	28
----------------------	----

## **CHAPITRE 03 : Résultats et discussion**

1. Test d'activité antimicrobien.....	29
1.1 Méthode de diffusion par puits sur gélose.....	29
1.2 Méthode de micro-dilution par puits de microplaque .....	31
2. Recherche des bactéries lactiques .....	32
2.1 Dénombrement de bactéries lactique.....	32
2.2 Test d'orientation pour l'identification des souches.....	32
2.2.1 Aspect macroscopique.....	32
2.2.2 Coloration de Gram .....	32
2.2.3 Test de catalase.....	33
2.2.4 Type fermentaire .....	33
3. Mesure de pH .....	34
Conclusion.....	40
Références .....	42

### **Annexes**

# Introduction





### Introduction

Depuis les temps anciens, le miel naturel a accompagné l'homme, le miel est utilisé dans divers domaines tels que l'alimentation, les cosmétiques, la médecine, etc. Selon Kurek-Górecka *et al.* (2020), le miel est un produit de la ruche qui présente de nombreuses propriétés et utilisations. Selon Brudzynski *et al.* (2017), ce produit est composé d'un mélange complexe et évolutif de molécules qui possèdent des structures et des fonctions variées (Brudzynski *et al.*, 2017). Environ 180 composés biochimiques sont présents dans ce produit naturel (Bucekova *et al.*, 2019). La plupart de ces composés possèdent des propriétés biologiques comme la propriété antimicrobienne (Rafael *et al.*, 2021). La recherche sur l'activité antimicrobienne du miel naturel attire actuellement l'attention des chercheurs. En effet, l'activité antibactérienne du miel est connue depuis le 19<sup>ème</sup> siècle et a été signalée pour la première fois en 1892 (Smaili et Mimoun, 2022). Le miel naturel se caractérise par le fait qu'aucune résistance microbienne n'a été enregistrée (Ouadah *et al.*, 2022).

Selon Haderbache Lates *et al.* (2020), plusieurs recherches ont mis en évidence une corrélation entre l'origine florale de certains miels et leurs activités microbiennes, car, comme le souligne Kabiche et Zerrouki (2022), l'origine botanique joue un rôle essentiel dans les différentes activités du miel, il est possible que l'activité antibactérienne diffère selon la source florale, cela est associé à la nature du sol, au climat, à la modification du miel et à la teneur en propolis. Les propriétés antibactériennes des miels de différentes origines géographiques et florales peuvent varier en fonction de leur composition chimique (Irish *et al.*, 2011 ; Moussa *et al.*, 2012).

Afin d'évaluer la qualité et l'activité antimicrobienne de certains types de miel naturel algérien contre certaines souches cibles et d'essayer de comprendre les composants actifs qui confère au miel cette activité, et répondre à la question : Quels sont les composants présents dans le miel naturel qui ont des propriétés antimicrobiennes ? Existe-t-il des facteurs qui affectent la qualité et l'efficacité du miel ? Ce travail a été menée.

Ce travail est divisé en deux parties : La partie théorique traite des informations générales sur le miel naturel (y compris la définition, les composants et l'activité antimicrobienne).

La partie expérimentale, qui se réfère aux expériences réalisées pour tester l'activité antimicrobienne et recherche des bactéries lactiques des échantillons de miel naturel collectés .

## CHAPITRE 01

# Généralités sur le miel





# CHAPITRE 01 : Généralités sur le miel

## 1. Définition du miel

Selon Le dictionnaire Larousse, le miel est décrit comme « Substance sucrée produite par les abeilles mellifères à partir du nectar des fleurs, qu'elles emmagasinent dans les rayons de la ruche pour ensuite en nourrir leurs larves ».

Par ailleurs dans le codex alimentarius « Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche ».

D'après la définition formelle du miel on peut comprendre qu'il existe en réalité deux sources de base pour l'élaboration du miel : le nectar et le miellat.

- Le miel de nectar est le miel qui provient des nectars de plantes.
- Le miel de miellat est le miel qui provient principalement d'excrétions d'insectes butineurs (*Hemiptera*) laissées sur les parties vivantes de plantes ou de sécrétions de parties vivantes de plantes.

## 2. Formation du miel

Les abeilles produisent du miel principalement pour se nourrir, ce qui leur fournit de l'énergie ou leur permet de faire des réserves pour l'hiver. Selon Alvarez *et al.* (2010), une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages quotidiens, ce qui prend environ 15 minutes pour chacun. Le rayon d'action moyen est de 500 m à 2 km, ce qui explique l'importance, outre les conditions climatiques et la nature du sol, de la végétation des environs du rucher (Balas, 2015).

En effet, le nectar se transforme en miel dès le butinage, pendant lequel il est accumulé dans le jabot de l'abeille. La longue transformation des ferments spécifiques ou des enzymes sur le nectar commence dans son tube digestif. On sait peu de choses sur les enzymes du miel ; certaines sont issues du nectar, tandis que d'autres sont issues des sécrétions salivaires. Ils sont reconnus, mais leur rôle et leur comportement demeurent inconnus (Alvarez, 2011).

L'invertase (EC 3.2.1.26), l'amylase (EC 3.2.1.1) et une gluco-oxydase (EC 1.1.3.4) sont des enzymes. Le nectar contient de l'invertase (EC 3.2.1.26), une substance sécrétée par





## Généralités sur le miel

l'abeille, qui hydrolyse le sucrose ou le saccharose et le convertit en glucose et lévulose. L'amylase (EC 3.2.1.1), également produite par l'abeille, a la capacité de convertir l'amidon en glucose. Enfin, la gluco-oxydase (EC 1.1.3.4) permet de synthétiser l'acide gluconique, acide organique principal du miel, à partir du glucose (Alvarez, 2011).

Les changements physico-chimiques se poursuivent à partir du moment où l'abeille entre dans la ruche. Lorsque l'abeille revient, elle expulse le nectar et le donne à une ou plusieurs ouvrières, qui le distribuent à leur tour à d'autres, et ainsi de suite. D'abeille en abeille, la teneur en eau du nectar diminue et se remplit de sucs gastriques et de substances salivaires. Peu à peu, d'autres sucres qui n'étaient pas initialement présents dans le produit récolté sont produits. La goutte épaisse est ensuite versée dans une vésicule. Le nectar, régurgité plusieurs fois, est appliqué sur les pièces buccales pour augmenter la surface d'échange avec l'air. Sa teneur en eau peut être réduite d'environ 50 % en moins d'une heure, ce qui est très important. Si nécessaire, des chaînes de ventilation sont installées pour organiser l'air soufflé à travers les ailes des aérateurs, ce qui accélère le processus. En fin de processus, le miel est versé dans la cire pour le conserver (Figure 1) (Hamitosh et Landry, 2020). Le diagramme résume également le processus de fabrication du miel par les abeilles (Figure 2).



**Figure 1: Abeilles en train de fabriquer du miel (Mebarki 2024)**

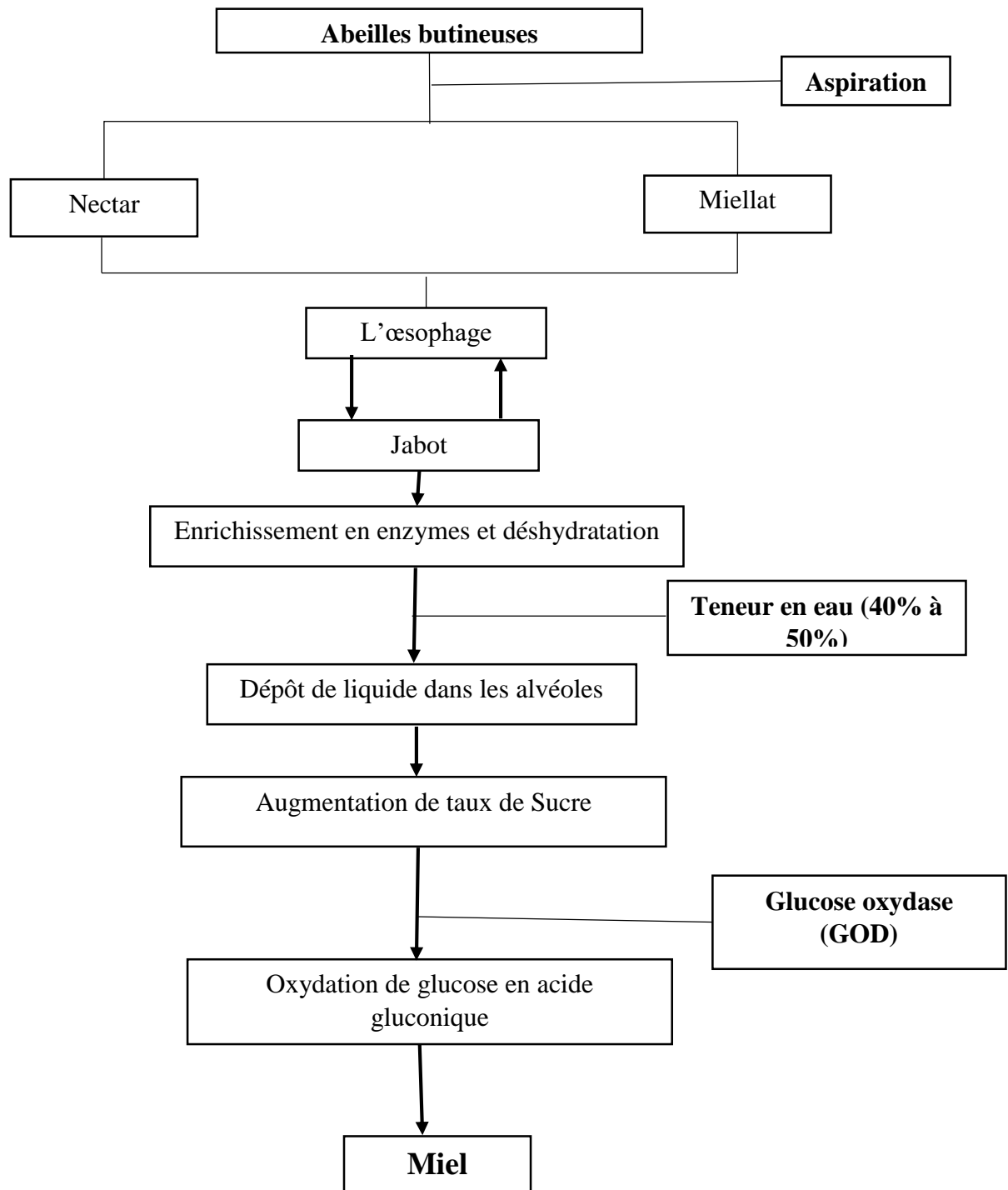


Figure 2: Le processus de formation du miel (Proste, 2005).



### 3. Composition chimique

Le miel est un aliment naturel composé principalement de sucres et d'autres composants tels que des enzymes, des acides aminés, des acides organiques, des caroténoïdes, des vitamines, des minéraux et des substances aromatiques. De nombreux flavonoïdes et acides phénoliques sont contenus dans le miel (Figure 3), qui ont de nombreux effets biologiques et agissent comme des antioxydants naturels (Alqarni *et al.*, 2012).

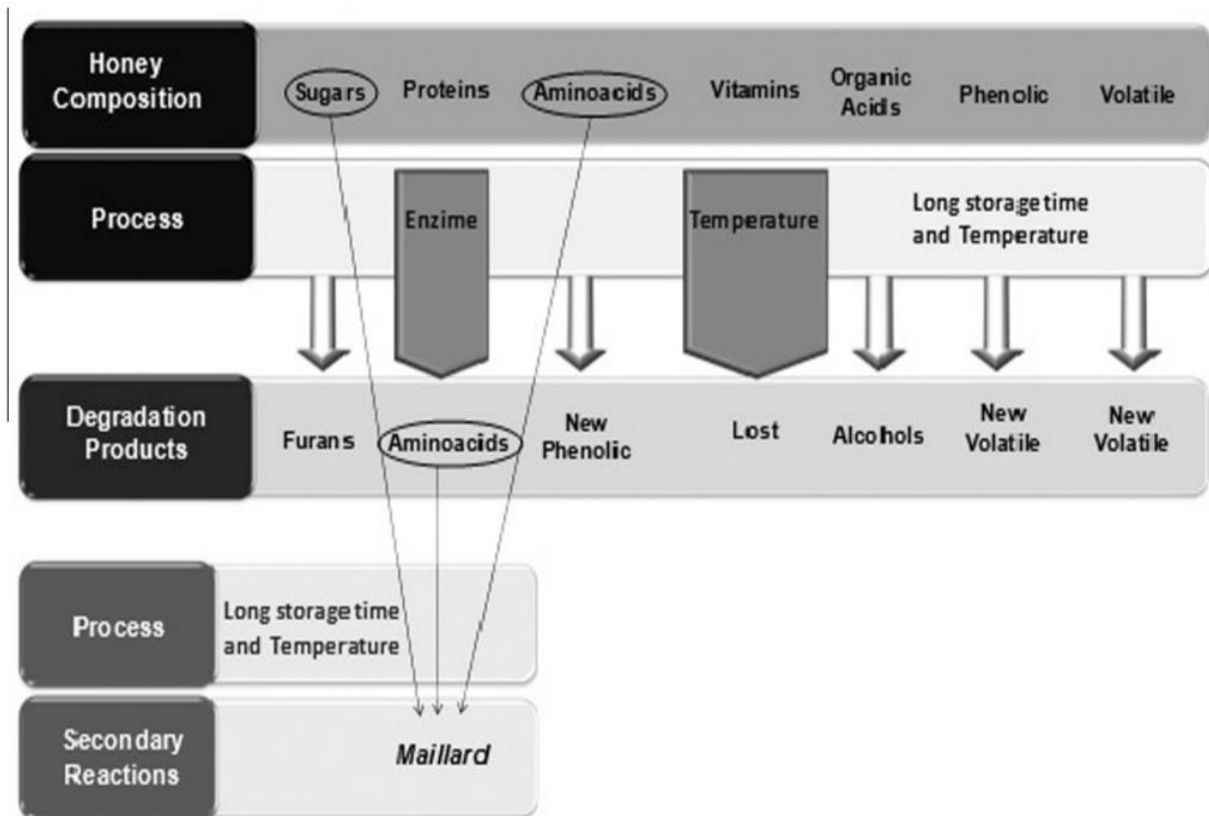


Figure 3 : Composés présents dans le miel (Da Silva *et al.*, 2016)

#### 3.1 Eau

L'eau est le second élément essentiel du miel. Son poids peut fluctuer entre 15 et 21 g pour 100 g en fonction de la provenance botanique du miel, du stade de maturité atteint dans la ruche, des méthodes de transformation et des conditions de stockage (Yücel *et al.*, 2013). Selon Escuredo *et al.*, 2013, 187 miels récoltés dans le nord-ouest de l'Espagne ont été évalués pour leur teneur en eau. Les échantillons ont affiché des taux allant de 16,9 % à 18,0 %, avec une moyenne de 17,6 %. Les directives du Comité du Codex Alimentarius sur les sucres (2001) qui précisent que la quantité d'humidité du miel ne doit pas dépasser 20 g pour 100 g sont respectées par ces miels (Norme Codex Alimentarius pour le miel, 2001).



### 3.2 Sucres

Dans le miel, un rôle essentiel est joué par les sucres dans des caractéristiques telles que la valeur énergétique, la viscosité, l'hygroscopicité et la granulation (Kamal *et al.*, 2011). Les sucres du miel sont principalement influencés par l'origine botanique (les fleurs utilisées par les abeilles), par son origine géographique et par le climat, la transformation et le stockage (Tornuk *et al.*, 2013 ; Escuredo *et al.*, 2014). Le profil des sucres du miel a été examiné par des scientifiques à travers le monde. Selon Fuente *et al.*, (2011), de nombreux sucres ont été présents dans ces profils(Figure 4), tels que le fructose 38%, le glucose 31%, le saccharose 1,5%, le rhamnose, le tréhalose, la nigerobiose, l'isomaltose, le maltose 7,5%, le maltotétraose, le maltotriose, le maltulose, la mélézitose, la melibiose, la nigerose, la palatinose, la raffinose, l'erlose, etc. Le fructose est l'hydrate de carbone le plus important dans pratiquement tous les types de miel. Parmi les miels, une proportion plus élevée de glucides est présente, à l'exception de ceux de colza (*Brassica napus*) et de pissenlit (*Taraxacum officinale*), où la fraction de glucose peut être supérieure à celle de fructose selon Louveaux, 1980 et Escudero *et al.*, 2014

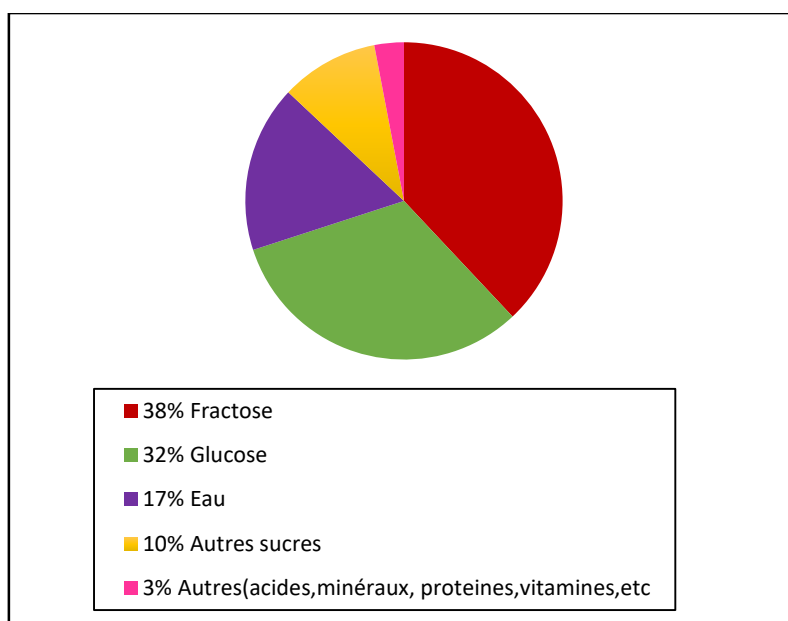


Figure 4 : Composition moyenne du miel (Couplan *et al.*, 2014).

### 3.3 Protéines

Le taux de protéines dans le miel diffère selon l'espèce des abeilles. Les protéines dans le miel d'*Apis cerana* varient de 0,1 % à 3,3 %, tandis que celles dans le miel d'*Apis mellifera* varient de 0,2 % à 1,6 % (Won *et al.*, 2009). Les protéines et les acides aminés des miels sont attribués à des sources animales et végétales, telles que les fluides et les sécrétions de nectar



## Généralités sur le miel

provenant des glandes salivaires et du pharynx des abeilles (Sak-Bosnar *et al.*, 2012 ; Escuredo *et al.*, 2013). La proline est l'acide aminé le plus répandu dans le miel et le pollen (Iglesias *et al.*, 2006). Les autres acides aminés présents dans le miel comprennent l'acide glutamique, l'acide aspartique, la glutamine, l'histidine, la glycine, la thréonine, la  $\beta$ -alanine, l'arginine, l' $\alpha$ -alanine, l'acide  $\gamma$ -aminobutyrique, la tyrosine, la valine, la méthionine, la cystéine, l'isoleucine, la leucine, le tryptophane, la phénylalanine, l'ornithine, la lysine, la sérine, l'asparagine et l'alanine (Hermosín *et al.*, 2003 ; Rebane *et al.*, 2010 ; Keckes *et al.*, 2013). L'utilisation de la proline a été employée pour évaluer la maturation du miel et, dans certains cas, l'adultération avec du sucre.

Il est recommandé d'avoir une valeur minimale de 180 mg de proline par kg de miel pur (Hermosín *et al.*, 2003 ; Manzanares *et al.*, 2014).

### 3.4 Acides organiques

Selon des études, une légère acidité est présente dans tous les miels, causée par environ 0,57% d'acides organiques (Karabagias *et al.*, 2014). Selon Cherchi *et al.*, 1994, les acides organiques sont extraits des sucres par des enzymes sécrétées par les abeilles lors de la transformation du nectar en miel ou lorsqu'ils sont extraits directement du nectar (Cherchi *et al.*, 1994). Il est également possible d'utiliser des acides organiques pour distinguer les miels en fonction de leur origine botanique et/ou géographique (Cherchi *et al.*, 1994).

Ces acides ont un lien avec la couleur et la saveur du miel, ainsi qu'avec ses caractéristiques chimiques, comme l'acidité, le pH et la conductivité électrique (Mato *et al.*, 2006). Certains acides organiques provenant de différentes régions du monde sont présents dans le miel sous forme d'acides : acide aspartique, butyrique, citrique, acétique, formique, fumarique, galacturonique, formique, gluconique, glutamique, glutarique, glyoxylique, 2-hydroxybutyrique,  $\alpha$ -hydroxyglutarique, isocitrique, cétoglutarique, lactique, malique, malonique, méthylmalonique, 2-oxopentanoïque, propionique, pyruvique, quinique, shikimique, succinique, tartrique, oxalique, et autres (Cherchi *et al.*, 1994; Nozal *et al.*, 2003 ; Mato *et al.*, 2006). L'acide gluconique est le principal acide présent dans le miel. La présence de glucose oxydase dans le miel est due au glucose fourni par les abeilles pendant la maturation (Karabagias *et al.*, 2014). En plus de l'acide gluconique, l'acide citrique est également présent dans le miel, et la concentration de ces deux substances est utilisée comme un indicateur fiable pour distinguer le miel floral du miellat (Mato *et al.*, 2006). On retrouve également dans le miel des acides lévulinique et formique. Il est possible de les extraire du 5-HMF en effectuant des



réactions successives, puis de les lier à deux molécules d'eau, ce qui génère une molécule d'acide lévulinique et une molécule d'acide formique, entraînant ainsi une augmentation de la concentration d'acidité libre dans le miel (Cavia *et al.*, 2007).

### 3.5 Vitamines

Les vitamines présentes dans le miel, notamment le complexe vitaminique B, proviennent des grains de pollen en suspension. La thiamine (B1), la riboflavine (B2), l'acide nicotinique (B3), l'acide pantothénique (B5), la pyridoxine (B6), la biotine (B8 ou H) et l'acide folique (B9) sont les vitamines du miel. De la vitamine C est également présente. Les vitamines du miel sont conservées grâce au pH bas du miel (Bonté *et al.*, 2013). La présence de vitamine C dans pratiquement tous les types de miel a été principalement évaluée en raison de son action antioxydante. La vitamine C est une mesure instable, car elle est très sensible à l'oxydation chimique et enzymatique et montre un taux de variation accéléré sous l'influence de différents éléments tels que la lumière, l'oxygène ou la chaleur. Différents facteurs tels que la lumière, l'oxygène ou la chaleur peuvent entraîner un changement (León-Ruiz *et al.*, 2013).

### 3.6 Minéraux

Différents groupes de substances chimiques ont été identifiés dans diverses variétés de miel. Le potassium, le magnésium, le calcium, le fer, le phosphore, le sodium, le manganèse, l'iode, le zinc, le lithium, le cobalt, le nickel, le cadmium, le cuivre, le baryum, le chrome, le sélénium, l'arsenic et l'argent sont des macro et micro-éléments minéraux présents dans divers miels. La quantité de minéraux présente dans le miel varie de 0,04 % pour les miels clairs à 0,2 % pour les miels foncés (Alqarni *et al.* 2012). Selon Escuredo *et al.*, (2013) et Madejczyk *et al.*, (2008), les éléments chimiques des plantes sur lesquelles les abeilles collectent leur nourriture sont reflétés dans le miel, ce qui signifie que la quantité d'oligo-éléments présents dans le miel varie en fonction du type de sol dans lequel la plante et le nectar ont été découverts. Le potassium est l'élément le plus présent, représentant habituellement un tiers de la quantité totale de minéraux présents dans le miel (Alqarni *et al.*, 2012 ; Yücel *et al.*, 2013). Le miel renferme également, en plus petites quantités, du sodium, du fer, du cuivre, du silicium, du manganèse, du calcium et du magnésium. Les macro-éléments (comme le potassium, le calcium et le sodium) et les oligo-éléments (comme le fer, le cuivre, le zinc et le manganèse) jouent un rôle essentiel dans les systèmes biologiques : ils maintiennent des réponses physiologiques normales, influencent le métabolisme global, la circulation sanguine et le système immunitaire.



En général, le métabolisme a une influence sur le système circulatoire et la reproduction, et joue un rôle catalyseur dans différentes réactions biologiques (Alqarni *et al.*, 2012).

### 3.7 Composés phénoliques

Un ensemble chimiquement hétérogène de composés phénoliques est formé, composé d'environ 10 000 composés, qui sont classés en classes selon leur structure chimique de base. Différentes catégories en fonction de leur structure chimique fondamentale (Andersen *et al.*, 2006). Ils peuvent être classés en non-flavonoïdes (acide phénolique) et en flavonoïdes (flavones, flavonols, flavanones, flavanols, anthocyanidine, isoflavones et chalcones) (Andersen *et al.*, 2006). Un anneau aromatique contenant un ou plusieurs groupes hydroxyle est possédé par ces composés, qui peuvent être de type simple ou complexe. Une molécule phénolique avec un poids moléculaire élevé est présente (Pyrzynska *et al.*, 2009). Les acides phénoliques sont un groupe essentiel de composés phénoliques bioactifs qui sont couramment retrouvés dans les produits végétaux et les aliments. Ils sont des métabolites secondaires essentiels au bon fonctionnement des plantes naturelles. Il s'agit de substances qui jouent le rôle d'antioxydants en éliminant les radicaux libres et en bloquant l'oxydation des lipides. Selon leur structure, ils peuvent être classés en deux sous-groupes : les acides hydroxybenzoïque et hydroxycinnamique (Challacombe *et al.*, 2012).

### 3.8 Composés volatils

Les mélanges complexes de composés volatils créent l'arôme du miel, qui peut être différencié selon le nectar, les conditions de traitement, l'origine et le stockage. Le nectar, les méthodes de traitement, l'origine et le stockage. Une saveur spécifique de la plante est présentée par les miels unifloraux, en raison de la présence de certains composés organiques volatils issus des nectars (Castro-Vázquez *et al.*, 2007). Plus de 400 composés différents sont contenus dans la fraction volatile du miel, dont certains sont utilisés comme indications pour les miels commerciaux, parmi ces indications figurent le 3,9-époxy-1- $\beta$ -mentadieno, le t-8- $\beta$ - menthan-oxyde-1,2-diol et le cis-rose, qui ont été proposés comme indications pour le miel de citron (Castro-Vázquez *et al.*, 2007).

Pour le miel d'eucalyptus, les dicétones, les composés soufrés et les alcanes sont caractéristiques, tandis que l'hexanal et l'heptanal sont les principaux composés de l'arôme des miels de lavande (Radovic *et al.*, 2001 ; Castro-Vázquez *et al.*, 2007).



### 3.9 Hydroxymethylfurfuraldehyde HMF

Le HMF est un composé qui est formé lors de la dégradation du fructose et du glucose dans un environnement acide (Ajlouni *et al.*, 2010). Selon Ajlouni *et al.*, (2010), le HMF n'est présent que sous forme de traces dans le miel frais, et sa quantité augmente avec la température et la durée de stockage (Ajlouni *et al.*, 2010). Ainsi, il est crucial que la concentration en HMF soit évaluée afin de mesurer la qualité du miel (Ajlouni *et al.*, 2010). La saveur du miel est affectée. Selon les normes du Codex, il est recommandé que la concentration en HMF ne dépasse pas 40 mg/kg dans les régions à climat tempéré, tandis que la concentration en miel tropical ne devrait pas dépasser 80 mg/kg (norme codex alimentarius pour le miel 2001).

### 4. Composition microbiologique du miel

Les micro-organismes présents dans le miel, Les bactéries, les levures et les moisissures font partie de ces organismes. En raison de l'activité antibactérienne du miel, la majorité des bactéries et autres microbes ne peuvent pas se développer ou se reproduire dans le miel, c'est-à-dire qu'ils sont dormants ((Snowdon et Cilver 1996).

Un microbiome varié est présent dans le miel, dont la majorité est issue du pollen, des fleurs, du sol, de l'air, de la poussière et du tube digestif de l'abeille. De plus, il est possible que certains contaminants microbiens secondaires soient introduits dans le miel pendant sa transformation par l'être humain (Snowdon et Cilver 1996).

### 5. Les types de miel en Algérie

Il existe plusieurs types de miel en Algérie et ils sont présentés dans le tableau suivant (Tableau 1) Voici comment classifier les types de miel selon les plantes mentionnées, en multi fleur (provenant de plusieurs types de fleurs) ou mono fleur (provenant principalement d'un seul type de fleur)





**Tableau 1 : Les types de miel en Algérie (Homrani et al., 2020)**

	<b>Le plants (la fleur)</b>	<b>Le miel</b>
<b>Mono fleur</b>	<i>Eucalyptus</i>	Miel d'eucalyptus
	<i>Ziziphus</i>	Miel de jujubier
	<i>Foeniculum</i>	Miel de fenouil
	<i>Olea</i>	Miel d'olivier
	<i>Punica</i>	Miel de grenade
	<i>Erica</i>	Miel de bruyère
	<i>Brassica</i>	Miel de colza
	<i>Eryngium:</i>	Miel de panicaut
	<i>Genista</i>	Miel de genêt
	<i>Hedysarum</i>	Miel de sainfoin
	<i>Pimpinella</i>	Miel de pimprenelle
	<i>Myrtus</i>	Miel de myrte
	<i>Phacelia</i>	Miel de phacélie
	<i>Galega</i>	Miel de galéga
	<i>Melilotus</i>	Miel de mélilot
	<i>Tamarix</i>	Miel de tamaris
	<i>Capparis</i>	Miel de câprier
	<i>Citrus</i>	Miel d'agrumes
	<i>Echium</i>	Miel de vipérine
	<i>Centaurea</i>	Miel de centaurée
	<i>Ammi</i>	Miel d'ammi
	<i>Sinapis</i>	Miel de moutarde
	<i>Onobrychis</i>	Miel d'esparcette
	<i>Malus</i>	Miel de pommier
	<i>Papaver</i>	Miel de pavot
	<i>Trifolium</i>	Miel de trèfle
	<i>Chamaerops</i>	Miel de palmier nain
	<i>Prunus</i>	Miel de prunier
	<i>Apium</i>	Miel de céleri
	<i>Melia</i>	Miel de lilas des Indes
	<i>Smilax</i>	Miel de salsepareille
	<i>Peganum</i>	Miel de harmale
	<i>Asparagus</i>	Miel d'asperge
<i>Cichorium</i>	Miel de chicorée	
<i>Quercus</i>	Miel de chêne	
<i>Carduus</i>	Miel de chardon	
<i>Borago</i>	Miel de bourrache	
<i>Ailanthus</i>	Miel d'ailante	
<i>Ceratonia</i>	Miel de caroubier	
<i>Muscari</i>	Miel de muscari	
<i>Schinus</i>	Miel de faux-poivrier	
<i>Cyperus</i>	Miel de souchet	
<i>Euphorbia</i>	Miel d'euphorbe	
<i>Allium</i>	Miel d'ail	
<i>Pistacia</i>	Miel de pistachier	
<b>Multiflore (mélange de plusieurs fleurs)</b>	<i>Paronychia</i>	<b>Peut contribuer à un miel multiflore</b>
	<i>Chrysantalicum</i>	
	<i>Buxus</i>	
	<i>Convolvulus</i>	
	<i>Citrus</i>	



### 6. Les propriétés antimicrobiennes du miel

De nombreuses recherches ont mis en évidence les multiples propriétés du miel, telles que la cicatrisation (Couquet *et al.*, 2013), les antioxydants, les antimicrobiens, les nématocides, les anticancéreux et les anti-inflammatoires (Rafael *et al.*, 2021). Selon Delphine (2010), l'activité antimicrobienne du miel est influencée par plusieurs facteurs, ce qui permet d'empêcher la prolifération d'une variété de bactéries, champignons, protozoaires et virus sans qu'ils ne puissent développer de résistance (Delphine, 2010).

Selon Maddocks et Jenkins (2013), il n'y a eu aucune résistance au miel chez aucun des microorganismes.

#### 6.1 Activité antibactérien du miel

Plusieurs recherches ont prouvé l'effet antibactérien du miel. Selon Molan (1992), il a été mis en évidence que le miel agit sur plus de 60 espèces de bactéries à Gram positif et négatif (aérobies ou anaérobies). L'activité antibactérienne du miel est plus efficace aux bactéries à Gram positif (Molan, 1992). Selon Mandal (2011), le miel possède une activité antibactérienne qui peut être utilisée contre les bactéries à Gram négatif (Mandal, 2011).

L'activité antibactérienne du miel est due à des éléments physiques tels que l'acidité et l'osmolarité, ainsi qu'à des éléments chimiques tels que le peroxyde d'hydrogène, les volatiles, la cire d'abeille, le nectar, le pollen et la propolis (Weston,2000).

Les chercheurs sont à la recherche de nouvelles armes antimicrobiennes dans les produits naturels dans la foulée de l'apparition préoccupante de bactéries résistantes aux antibiotiques, les bactéries résistantes aux antibiotiques sont apparues de manière alarmante (Belhaj *et al.*, 2016)

La principale distinction avec les antibiotiques réside dans le fait que le miel ne produit pas de bactéries résistantes aux antibiotiques et peut donc être utilisé sans risque de rupture (Belhaj *et al.*, 2016).

#### 6.2 Activité antifongique du miel

Le miel a une activité antifongique. D'autre part, certains miels sont réputés pour leurs propriétés antifongiques contre les espèces des genres *Aspergillus* et *Penicillium* (Sampath Kumar *et al.*, 2010) et contre certaines levures du genre *Candida* telles que *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida dubliniensis*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*. *Candida*



*tropicalis*, *Candida krusei* et *Candida parapsilosis* ont été identifiés (Obaseiki-Ebor et Afonya 1984 ; Bansal *et al.*, 2005 ; Irish *et al.*, 2006 ; Bulgasem *et al.*, 2016 ; Fernandes *et al.*, 2020).

D'après Al-Waili et Haq (2004), le miel permet de prévenir la prolifération des champignons et le miel dilué peut ralentir la production de toxines.

### 6.3 Activité antivirale du miel

Le miel a une activité antivirale, Le miel est également connu à travers le monde pour ses propriétés antivirales depuis le 19e siècle (Küçük *et al.*, 2007). Pour sa capacité à agir comme un antiviral (Küçük *et al.*, 2007). Le miel a une action antigrippale (Watanabe *et al.* 2014), contre le virus de la dengue (Soroy *et al.*, 2014). Selon les recherches de Behbahani (2014), il a été démontré que le méthylglyoxal (MGO) présent à des concentrations élevées dans le miel iranien était un agent anti-VIH efficace (Behbahani, 2014).

### 6.4 Activité antiparasitaire du miel

Les propriétés antiparasitaires de certains miels ont été décrites par d'autres auteurs dans leurs études. Mohammed et ses collègues (2017) ont démontré l'efficacité anti protozoaire de certains miels contre *Entamoeba histolytica* et *Giardia lamblia* (tableau 2). Après plusieurs essais en laboratoire, Aksoy *et al.*, (2020) a réalisé des résultats satisfaisants, Après 48 heures d'incubation, le miel a démontré une activité antileishmanienne contre des formes promastigotes de *Leishmania* et de *Giardia lamblia*, Les formes promastigotes de *Leishmania tropica* ont été identifiées et ont conclu que ce produit naturel pouvait servir de traitement alternatif pour la leishmaniose cutanée.



**Tableau 2 : Sources florales de miels ayant des activités antimicrobiennes (Feknous et Boumendjel, 2022 )**

<i>Origine du miel</i>	<i>plante</i>	<i>Évalué microorganisme</i>
<b>Danois</b>	<i>Mentha aquatica</i> <i>Tilia cordata</i> <i>Crataegus monogyna</i> <i>Erica tetralix</i> <i>Trifolium repens</i> <i>Hudsonia tomentosa</i> <i>Calluna vulgaris</i> <i>Rubus odoratus</i> <i>Brassica napus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (CCUG 1800), <i>Staphylococcus aureus</i> (1094-7), <i>Staphylococcus epidermi</i> (CCUG 39508) <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (SKN 1317), <i>Escherichia coli</i> (K-12)
<b>Pakistan</b>	<i>Ziziphus jujuba</i> <i>Acacia imodesta</i> <i>Eucalyptus spp</i> <i>Carissa opaca</i> <i>Helianthus annuus</i> <i>Trifolium alexandrium</i> <i>Plectranthus rugosus</i> Wall <i>Prosopis spp.</i> <i>Nigella sativa</i>	<i>Salmonella typhi</i> (MDR)
<b>Polonais</b>	<i>Melilotus albus</i> <i>Melilotus officinalis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (ATCC 700600), <i>Salmonella</i> spp.
<b>Royaume d'Arabie Saoudite</b>	<b>Miels monofloraux</b> <i>Ziziphus nummularia</i> <i>Ziziphus spina-christi</i> <i>Blepharis ciliaris</i> <i>Thymus serpyllum</i> <b>Miels polyfloraux</b> <i>Acacia asak</i> <i>Acacia origena</i> <i>Acacia negrii</i> <i>Acacia senegal</i> <i>Anisotes trisulcus</i> <i>Ziziphus spina-christi</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218), <i>Proteus vulgaris</i> (ATCC 13315), <i>Citrobacter divorcus</i> (ATCC 13315), <i>Salmonella enterica</i> (ATCC 700931)
<b>Alegria</b>	<i>Ziziphus lotus</i> <i>Euphorbia bupleuroides</i>	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922), <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 9027)
<b>Sud-africain</b>	<i>Eucalyptus cladocalyx</i> <i>Myrica cordifoliafynbos</i>	<i>Candida albicans</i> (strain 3118)
<b>Portugais</b>	<i>Castanea sativa</i> Mill <i>Eucalytus globulus</i> <i>Citrus sinensis</i> <i>Lavandula stoechas</i> <i>Erica cinerea</i>  <i>Erica</i> sp	<i>Candida</i> biofilms, <i>Candida tropicalis</i> , <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Pseudomonas aeruginosa</i>  <i>Candida albicans</i> , <i>Candida krusei</i> <i>Cryptococcus neoformans</i>



## Généralités sur le miel

**Tableau 2 : Sources florales de miels ayant des activités antimicrobiennes (la suite)  
(Feknous et Boumendjel 2022)**

<i>Origine du miel</i>	<i>plante</i>	<i>Évalué microorganisme</i>
<b>Nord de Portugais</b>	<i>Lavandula stoechas</i>	<i>Candida albicans</i> (CECT 1194), <i>Candida krusei</i> (ESA 11), <i>Cryptococcus neoformans</i> (ESA 3)
<b>Brésilien</b>	<i>Eucalyptus</i> sp.	<i>Staphylococcus aureus</i> (methicilline résistant S21), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (P28)
<b>Iranien</b>	<i>Petroselinum sativum</i> <i>Nigella sativa</i> <i>Citrus sinensis</i> <i>Zataria multiflora</i> <i>Citrus aurantium</i> , <i>Zizyphus mauritiana</i>	anti-HIV-1 activity
<b>Australien Jarrah</b>	<i>Eucalyptus marginata</i>	<i>Trichophyton rubrum</i>
<b>Egyptien</b>	<i>Cassia javanica</i> <i>Citrus reticulata</i>	<i>Epidermophyton</i> , <i>Microsporum</i> <i>Tricophyton</i> sp.
<b>Chilien</b>	<i>Eucryphia cordifolia</i>	<i>Escherichia coli</i> (ATCC 35218), <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 278531), <i>Staphylococcus aureus</i> (methicilline resistant ATCC 43300)
<b>Ukrainien</b>	<i>Helianthus</i> spp.  <i>Robinia</i> spp.	<i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223). <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 7644). <i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhimurium CCM 3807). <i>Escherichia coli</i> (ATCC 259221)  <i>Staphylococcus aureus</i> (CCM 4223), <i>Listeria monocytogenes</i> (ATCC 7644), <i>Salmonella enterica</i> (serovar Typhimurium CCM 3807), <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)
<b>Malaisien tualang</b>	<i>Koompassia excelsa</i> (tualang tree)	<i>Acinetobacter baumannii</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i>
<b>Nouvelle-Zélande</b>	<i>Leptospermum scoparium</i>	<i>Enterococcus</i> sp., <i>Streptococcus mutans</i> , <i>Streptococcus sobrimus</i> , <i>Streptococcus pyogenes</i> . <i>Streptococcus agalactiae</i> . <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus</i> sp., <i>Staphylococcus methicilline resistant</i> . <i>Actinomyces viscosus</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Shigella sonnei</i> , <i>Salmonella typhi</i> , <i>Klebsiella pneumoniae</i> . <i>Burkholderia capacia</i> . <i>Helicobacter pylori</i> . <i>Campylobacter</i> spp.. <i>Porphyromonas gingivalis</i> . <i>Stenotrophomonas matophili</i> . <i>Acinetobacter baumannii</i> . <i>Pseudomonas aeruginosa</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>Shigella flexneri</i> . <i>Escherichia coli</i> , <i>Salmonella enterica</i> serovar typhi



### 7. Facteurs agissent l'activité antimicrobienne du miel et leur mode d'action

Depuis l'Antiquité, le miel est utilisé dans de nombreuses cultures en tant que remède efficace en raison de ses propriétés thérapeutiques, telles que ses propriétés antioxydantes, anti-inflammatoires, antimicrobiennes et immunostimulantes (Manyi-Loh *et al.*, 2011). Selon Allen *et al.*, 1991 l'activité antibactérienne est principalement attribuée à des éléments autres que le peroxyde, tels que l'acidité, l'osmolarité, les flavonoïdes, les composés phénoliques et le lysozyme.

Les facteurs responsables de l'activité antibactérienne sont les suivants :

#### 7.1 pH

Si la limite de pH n'a pas encore été définie par les comités de réglementation, un pH allant de 3,2 à 4,5 et l'acidité naturelle du miel entravent la croissance des micro-organismes, car le pH optimal pour la plupart des organismes est compris entre 7,2 et 7,4 (Suárez-Luque *et al.*, 2002 ; Karabagias *et al.*, 2014).

#### 7.2 Pression osmotique et activité d'eau

Selon Belhadj *et al.*, (2015), le miel présente une activité de l'eau allant de 0,56 à 0,62, ainsi qu'une osmolarité élevée, ce qui est lié à sa forte concentration en sucre. Il s'agit donc d'une solution hypertonique avec une faible quantité d'eau libre nécessaire à la croissance des micro-organismes (Bogdanov et Blumer, 2001 ; Olaitan *et al.*, 2007).

#### 7.3 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Le peroxyde d'hydrogène, produit par l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase lors de la dilution du miel (Olaitan *et al.*, 2007), est considéré comme la principale source d'activité antimicrobienne. Une augmentation de l'activité antimicrobienne est observée suite à des concentrations différentes de ce composé dans différents types de miel (Molan, 1992). La libération lente de ce composé est légère et ne cause pas de dommages aux tissus, mais son action antimicrobienne est attribuée à la formation de radicaux libres tels que l'hydroxyl et le superoxyde. Sa concentration est déterminée en fonction des niveaux relatifs de glucose oxydase synthétisée par la bête et de catalase provenant du pollen de fleurs (Weston *et al.*, 2000).



### 7.4 Les composés volatils

Le profil des composés phénoliques présents dans le miel a été analysé par plusieurs écrivains. La recherche a révélé la présence d'acide vanillique, d'acide caféique, d'acide syringique, d'acide  $\beta$ -coumarique, d'acide férulique, de quercétine, de kaempférol, de myricétine, de pinobanksine, de pinocembrine, de chrysin, d'acide ellagique, de galangine, d'acide 3 hydroxybenzoïque, d'acide chlorogénique, d'acide 4-hydroxybenzoïque, d'acide rosmarinique, d'acide gallique, d'hespérétine, d'acide benzoïque, etc (Trautvetter *et al.*, 2009 ; Alvarez-Suarez *et al.*, 2012).

### 7.5 La défensine-1

Selon Lyasov *et al.*, (2012), la défensine-1 est considérée comme faisant partie des quatre peptides antimicrobiens sécrétés par l'abeille, à savoir l'apidaecine, l'abaecine, la hymenoptaecine et la défensine. Un effet cytotoxique sur les bactéries Gram+ est observé pour la défensine-1 (Bulet et Stocklin 2005). D'après Majtan *et al.*, (2014) et Sojka *et al.*, (2016), la défensine-1 et le miel MGO possèdent également la capacité de détruire les biofilms bactériens.

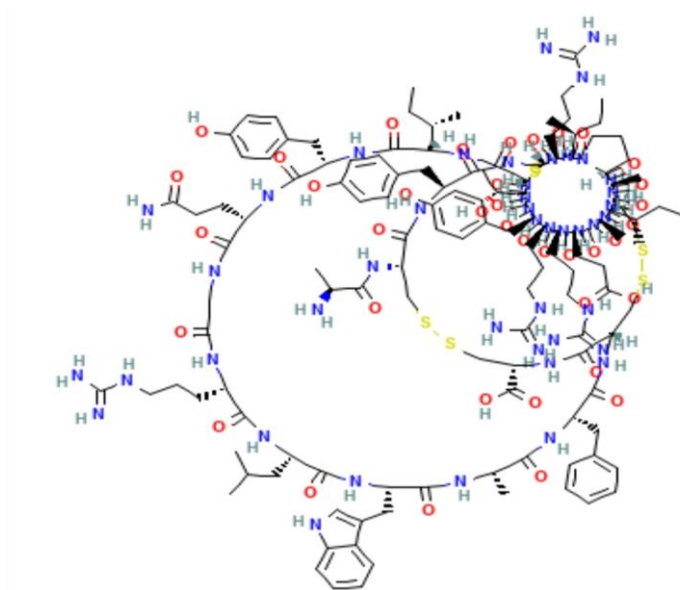


Figure 5 : Structure chimique de la défensine Source : PubChem (C167H257N47O46 | CID 56841867 année 2007)

### 7.6 Polyphénol

La situation géographique et l'origine des plantes à nectar ont un impact sur la quantité d'acides phénoliques présents dans le miel. Ces informations suggèrent que la corrélation entre



l'activité antibactérienne, la source florale et les facteurs environnementaux diffèrent en fonction de la zone géographique. Les variables environnementales diffèrent selon la région géographique (Wahdan, 1998). Le nectar contient des phénols libres (composés volatils), des acides phénoliques, des polyphénols (généralement des flavonoïdes), des anthocyanes et des procyanidines. Le nectar contient des composés volatils tels que des acides phénoliques, des acides phénoliques, des polyphénols (généralement sous forme de flavonoïdes), des anthocyanes et des procyanidines (Carson, 2000).

### 7.7 Lysozyme

Les abeilles produisent une enzyme appelée lysozyme qui possède une activité bactériostatique (Bruneau, 2006). Des recherches ont montré que les miels renferment des composés bioactifs comme le, un agent antibactérien connu (Estrada *et al.*, 2005), mais certains miels ne présentent pas d'activité lysozyme (Bogdanov, 1984). Les résidus acides de l'acide N-acétylmuramique et la N-acétyl-D-glucosamine sont hydrolysés par le lysozyme dans le peptidoglycane de la paroi cellulaire bactérienne (Molan, 1992).

### 7.8 méthylglyoxal (MGO)

Le méthylglyoxal (MGO) est un agent bactéricide qui provoque la modification des flagelles bactériennes, empêchant ainsi leur adhésion aux surfaces et entraînant la suppression de la formation de biofilms bactériens (Goetz, 2009 ; Rabie *et al.*, 2016). Selon certains rapports, il est suggéré que la présence de méthylglyoxal (MGO) pourrait modifier certains composés protéiques et donc affecter l'activité de la glucosidase (Majtan *et al.*, 2012). Le miel de Manuka est un bon exemple d'activité antibactérienne sans peroxyde. Il est fabriqué à partir de l'arbre *Leptospermum scoparium* et d'autres plantes similaires à *Leptospermum scoparium* en Nouvelle-Zélande. Ces miels, délicieux, contiennent du méthylglyoxal, un composant antibactérien (Adams *et al.*, 2008 ; Mavric *et al.*, 2008).

### 7.9 Bactéries lactiques

La présence de bactéries lactiques dans de nombreux types de miels a été signalée par Hosny *et al.*, (2009). Il a été confirmé par Olofsson et Vásquez (2008) et Vásquez *et al.*, (2012) que les bactéries lactiques sont présentes dans le microbiote de toutes les abeilles, même si leur proportion varie selon la source de nectar et la santé des abeilles.





### 8. Intérêts nutritionnels et thérapeutiques

D'après Bogdanov et ses collègues en 2008, le miel renferme une variété de vitamines et minéraux, tels que la vitamine C, le calcium, le fer, le magnésium et le potassium. Ces composants nutritifs jouent un rôle dans la promotion de la santé globale (Bogdanov *et al.*, 2008). En outre, le miel renferme des substances antioxydants comme les flavonoïdes et les acides phénoliques, qui contribuent à diminuer les inflammations et à préserver le corps des maladies chroniques comme les maladies cardiaques, les maladies vasculaires et le cancer (Bogdanov *et al.*, 2008). En outre, la présence de sucres naturels dans le miel renforce l'énergie du corps, ce qui en fait un choix idéal pour améliorer les performances physiques et mentales (Bogdanov *et al.*, 2008).

Selon Molan (2006), le miel est employé de manière traditionnelle pour soigner les blessures, les piqûres d'insectes, les brûlures, les maladies cutanées, les plaies et les furoncles. Il existe une documentation scientifique confirmant l'efficacité du miel en tant que stimulateur de la guérison des plaies et agent antimicrobien (Molan, 2006). L'activation du plasminogène dormant dans la matrice de la plaie est stimulée par le miel, ce qui entraîne l'expression dynamique de l'enzyme protéolytique (Esmon, 2004). L'action de la plasmine est de rétracter les caillots sanguins et de détruire la fibrine. Cette enzyme est responsable de la décomposition des caillots de fibrine avec les tissus morts qui sont attachés dans le lit de la plaie (Esmon, 2004).

D'après Molan (2001), les effets thérapeutiques constatés après l'utilisation du miel incluent une guérison rapide, le nettoyage de la plaie, l'élimination de l'infection, la régénération des tissus, la diminution de l'inflammation et l'amélioration du confort pendant le pansement en raison de la diminution de l'adhérence des tissus (Molan, 2001).

## CHAPITRE 02

# Matériel et Méthodes





## CHAPITRE 02 : Matériel et Méthodes

### 1. Echantillons

Tableau 3 : Echantillon du miel utilisées

la plante	période	la zone	Le code
<b>Cresson</b> <i>Eruca sativa</i>	Mars	Ain ouassera	<b>J</b>
<b>Sedra</b> <i>Ziziphus spina-christi</i>	Mai-juin	Djelfa	<b>SD</b>
<b>Eucalyptus</b> <i>Eucalyptus camaldulensis</i>	juin	Boumerdes	<b>K</b>
<b>Multi fleure</b>	Mars /juillet	inconnu	<b>M</b>
<b>Agrumes</b>	Avril	Ghardaïa	<b>L</b>

Le nom de l'espèce d'abeille : un mélange de deux espèces : Abeille tellienne *Apis mellifera intermissa* et l'Abeille jaune italienne *Apis mellifera ligustica*

❖ Abeille tellienne « *Apis mellifera intermissa* »

Une abeille tellienne, une abeille punique ou encore une abeille noire (Figure 6). Selon Buttell Reepen en 1906, cette abeille a été décrite et classée. Elle se rencontre dans le Nord de l'Afrique (Maroc, Tunisie et Algérie), la Lybie, dans les îles en avant des côtes à Malt et probablement également aux Canaries (Ruttner et *al.*, 1978).

❖ Abeille jaune italienne « *Apis mellifera ligustica* »

L'abeille jeune ou l'abeille italienne (Figure 6), elles sont abondantes dans le nord de la Méditerranée, en particulier en Italie, et se caractérisent par lignes jaunes bien visibles (Ruttner, 1988).



Figure 6 : Abeilles productrices de miel (photo original)



### 2. Souches

Tableau 4 : Souches cibles dans les différents tests d'activité antimicrobienne

Souches	Gram	Laboratoire de conservation	code
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853	Négatif	LVR	PA
<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	Négatif	LVR	EC
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ATCC700603	Négatif	LAMAABE	KP
<i>Salmonella typhimurium</i> ATCC 14028	Négatif	LBSM	ST
<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	Positif	LVR	SA
<i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579	Positif	LBSM	BC
<i>Enterococcus faecalis</i> ATCC 29212	Positif	LVR	EF
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC 13932	Positif	LBSM	LM
<i>Candida albicans</i> (Levure) ATCC 10231	-	LAPSAB	CA

### 3. Test d'activité antimicrobien

#### 3.1 Méthode de diffusion par puits sur gélose

Cette méthode est largement utilisée afin d'analyser l'action antibactérienne des composés naturels. Elle repose sur l'emploi des puits comme réservoirs pour la solution des substances à analyser (Gülçin *et al.*, 2004).

Dans ce test, l'activité antimicrobienne du miel a été testée en utilisant différentes concentrations de miel. En outre, le même test a été effectué en utilisant la catalase, connue pour détruire le H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, au lieu de l'eau distillée stérile dans la dilution afin de réduire l'activité du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> Protocole repris Anand *et al.* (2019) avec des modifications.

#### Matériel :

Boîtes de Pétrie, écouvillon, scalpel, tube à essai fermé et stérile, porte tube à essai, micropipette, seringues, eau distillée stérile

#### Les appareils :

Balance, bec benzène, agitateur, autoclave, frigidaire, incubateur à 37C° et à 30 C°, vortex spectromètre

#### Milieu de culture :

- ❖ Milieu Muller Hinton pour les bactéries
- ❖ Milieu YEPG pour levure
- ❖ Bouillon nutritive
- ❖ Bouillon YEBG



### Réactifs chimique :

- ❖ Chlormaphéncole
- ❖ Enzyme de catalase
- ❖ Cycloheximide
- ❖ Éthanol (alcool pour stérilisation et préparation d'antibiotique)

### Méthode :

#### Préparation de l'échantillon :

Pour chaque échantillon, 3 concentrations sont utilisées : 20 %, 40 % et 80 % du miel ces pourcentages ont été préparé en utilisant soit de l'eau distillée stérile soit une solution de catalase afin d'éliminer l'effet de  $H_2O_2$

- ❖ Pour le concentration 80%

Dans un tube à essai, 8g de miel ont été prélevés et 2ml d'eau distillée stérile ou solution de catalase ont été ajoutés. Puis ont été bien mélangés par un vortex.

- ❖ Pour le concentration 40%

Dans des tubes à essai, 2 ml d'échantillon de miel avec une concentration de 80% et 2 ml d'eau distillée stérile ou solution de catalase ont été prélevés. Puis ont été bien mélangés par un vortex.

- ❖ Pour le concentration 20%

Dans des tubes à essai, 2 ml d'échantillon de miel avec une concentration de 40% et 2 ml d'eau distillée stérile ou solution de catalase ont été prélevés. Puis ont été bien mélangés par un vortex.

#### Ensemencement :

Les souches étaient de pré culture de 24 H dans bouillon nutritive pour les bactéries et dans bouillon YEBG pour la levure et de concentration de 0,2%.

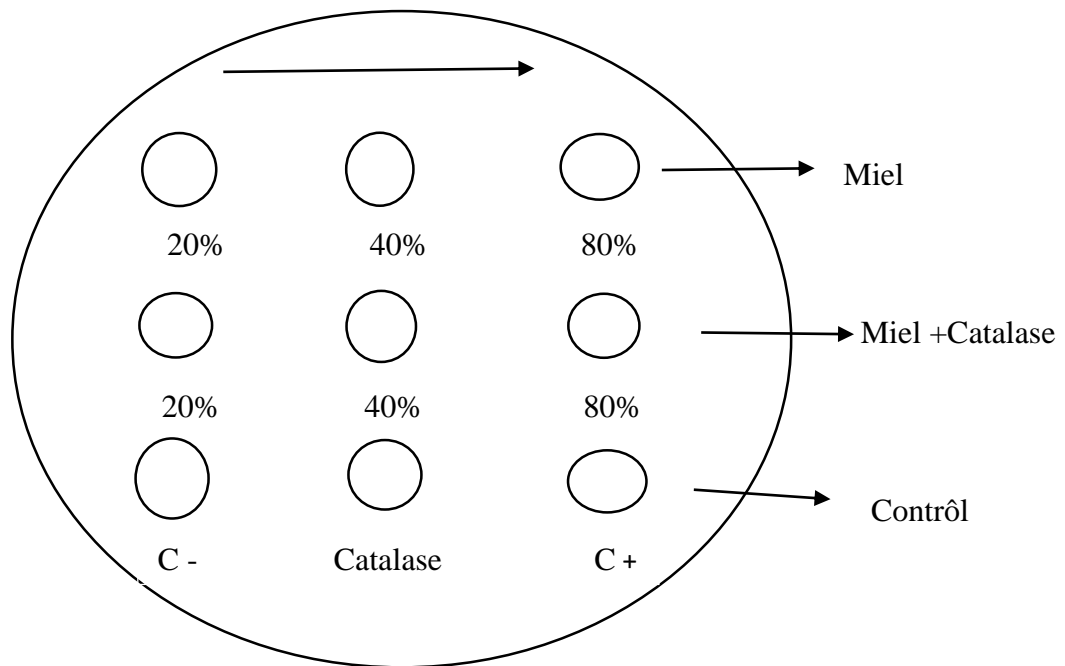
Après le processus d'ensemencement (en masse pour les bactéries et en surface pour la levure), 9 puits ont été réalisés.

Au premier rang, Le miel a été versé dans des puits de différentes concentrations. Chaque puit contient une concentration de miel différente. Au deuxième rang, on répète le



## Matériel et Méthodes

processus, mais cette fois avec du (miel + catalase). La troisième rangée est destinée aux contrôles. Le premier puit est le contrôle négatif est l'eau ionique stérile et le deuxième puit est pour la catalase et troisième puit pour le témoin positif (soit Chlormaphénicole pour bactéries soit Cycloheximide pour levure). Les boîtes ont ensuite été placées pendant deux heures au réfrigérateur. Et à la fin les boîtes ont été incubées pendant 24 H à 37°C pour les bactéries et 30°C pendant 48 H pour la levure



**Figure 7 : Schéma montrant à quoi ressemble une boîte de Pétri après l'ensemencement**

### 3.2 Méthode de micro-dilution par puits de microplaque

La technique de micro-dilution a été utilisée pour déterminer la concentration minimale inhibitrice. Protocole repris Anand et al. (2019) avec des modifications.

#### Matériel

Echantillon, bouillon de MHB, tubes stérile, micropipette vortex, microplaque incubation à 37°C, spectromètre, lecture de microplaque.

#### Méthode

##### Préparation de l'échantillon :

Pour chaque échantillon, 4 dilutions sont utilisées : 20 %, 30 %, 40 % et 50 %.

- ❖ Pour la dilution 50%

Dans des tubes à essai, 1,5 ml de miel a été ajouté à 1,5 ml de bouillon de Mueller Hinton.



Puis ont été bien mélangés par un vortex

❖ Pour le dilution 40%

Dans des tubes à essai, 1,2g de miel a été ajouté à 1,8 ml de bouillon de Mueller Hinton.

Puis ont été bien mélangés par un vortex

❖ Pour le dilution 30%

Dans des tubes à essai, 0,9 g de miel a été ajouté à 2,1 ml de bouillon de Mueller Hinton.

Puis ont été bien mélangés par un vortex

❖ Pour le dilution 20%

Dans des tubes à essai, 0,6g de miel a été ajouté à 2,4ml de bouillon de Mueller Hinton.

Puis ont été bien mélangés par un vortex

### **Ensemencement :**

Pour la procédure de microplaque, des suspensions de bactéries ont été préparées à l'aide d'un bouillon de Mueller Hinton et après la préparation, elles ont été mesurées par spectrophotomètre pour obtenir  $1,5 \times 10^8$  UFC/ml.

Ensuite ,120 microlitres de chacune des dilutions de miel ont été placés dans les puits de microplaques, puis 40  $\mu$ l de chacune des bactéries utilisées pour les quatre concentrations (50%, 40 %, 30 %, 20 %) ont été placés dans les puits et les bactéries ont été utilisées comme contrôle positif (40  $\mu$ l) et le MHB a été utilisé comme contrôle négatif (40  $\mu$ l).

Les quatre concentrations de miel de tous les échantillons Eucalyptus (*Eucalyptus globulus*), de Cresson (*Eruca sativa*), de Sedra (*ziziphus lotus*), de Agrumes et de multiflore ont été appliquées pour mesurer l'absorbance et identifier les petites concentrations inhibitrices, après quoi la microplaque a été placée dans l'incubateur pendant 24 heures à 37°C.



**Tableau 5 : Simulation de microplaque pour un seul échantillon**

									LM	
									PA	
									EF	
									SA	
miel(50 %)	miel(50 %) +EC	miel(50 %) +KP	miel(50 %) +BC	miel(50 %) +ST	miel(50 %) +SA	miel(50 %) +EF	miel(50 %) +PA	miel(50 %) +LM	ST	
miel(40 %)	miel(40 %) +EC	miel(40 %) +KP	miel(40 %) +BC	miel(40 %) +ST	miel(40 %) +SA	miel(40 %) +EF	miel(40 %) +PA	miel(40 %) +LM	BC	
miel(30 %)	miel(30 %) +EC	miel(30 %) +KP	miel(30 %) +BC	miel(30 %) +ST	miel(30 %) +SA	miel(30 %) +EF	miel(30 %) +PA	miel(30 %) +LM	KP	
miel(20 %)	miel(20 %) +EC	miel(20 %) +KP	miel(20 %) +BC	miel(20 %) +ST	miel(20 %) +SA	miel(20 %) +EF	miel(20 %) +PA	miel(20 %) +LM	EC	MM

## 4. Recherche des bactéries lactiques

### 4.1 Dénombrement et Préparation de la solution mère et des dilutions de bactéries lactique

#### Matériel :

- ❖ Echantillon
- ❖ Eau distillé stérile
- ❖ Tubes stérile
- ❖ Vortex

#### Méthodes

1ml du miel ont été dissous et homogénéisé dans 9 ml d'eau distillé stérile, cette suspension dite solution mère (SM) correspond à la dilution  $10^{-1}$ , à partir de cette solution, des dilutions décimales allant jusqu'à  $10^{-3}$  ont été préparées

Une goutte a été prélevée de la solution mère et ensemencé en masse dans la gélose MRS. La même méthode d'isolement a été adoptée pour le reste des dilutions, à raison de deux boites par dilution puis incubé pendant 48h à 30°C

Le nombre de colonies est mesuré 24 heures et/ou 48 heures après l'incubation pour évaluer la quantité de bactéries par ml dans chaque échantillon de miel provenant des milieux de culture (Bakary *et al.*, 2019). La formule suivante est utilisée pour calculer le nombre de microorganismes présents dans un échantillon de produit donné, conformément à la norme AFNOR (1996).





$$N = \frac{\sum C}{(V(n_1 + 0.1n_2 + 0.01n_3)d)} \text{ (germes/mL)}$$

N : nombres de germes

$\sum C$  : sommes des colonies

V : volume de l'inoculum

n1 : nombres de boîtes de Pétri comptées à la 1ère dilution

n2 : nombres de boîtes de Pétri comptées à la 2ème dilution

n3 : nombres de boîtes de Pétri comptées à la 3ème dilution

d : taux de dilution à la première dilution retenue

Les dilutions choisies sont celles qui présentent un nombre de colonies compris entre 15 et 300. Dans ce cas tous les dilutions sont prises.

### 4.2 Purification des souches isolées

#### Matériel :

- ❖ Colonies bactérienne
- ❖ Anse de platine
- ❖ Milieu de culture MRS

#### Méthode

La purification des souches isolées a été réalisée par repiquages successifs sur gélose MRS par la méthode des stries. L'incubation a été réalisée à 30°C pendant 48h

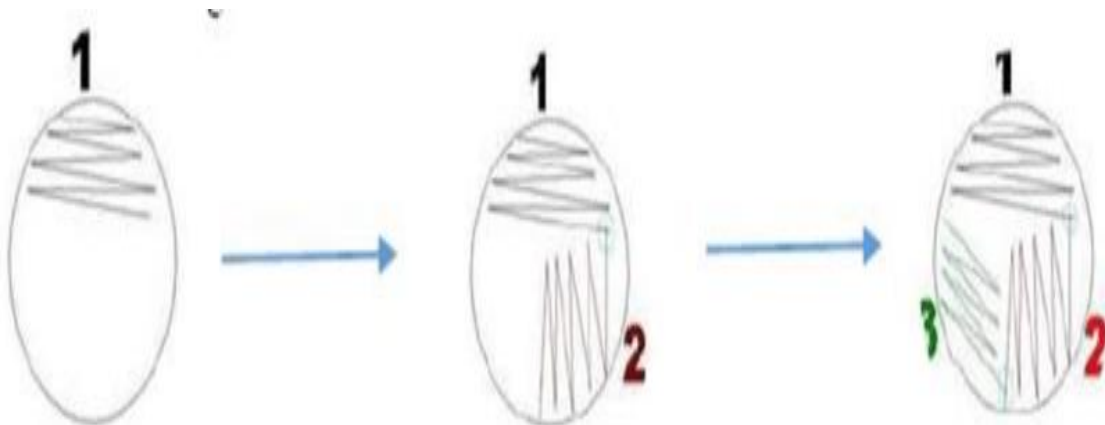


Figure 8 : Schéma explicatif du repiquage par la méthode des stries (Harmouzi et al., 2016)



### 4.3 Test d'orientation pour l'identification des souches

#### 4.3.1 Aspect macroscopique

Cette étude est basée sur l'observation de la culture des isolats sur gélose MRS pour caractériser la taille, la forme et la couleur des colonies

#### 4.3.2 Coloration de Gram

La coloration Gram permet de rendre compte de l'aspect microscopique en distinguant les bactéries Gram positif de celles Gram négatif et en observant la forme et le mode de regroupement.

#### 4.3.3 Test de catalase

La catalase permet la décomposition de l'eau oxygénée selon la réaction :



En utilisant l'activité catalasique, l'eau oxygénée est décomposée en oxygène et en eau. On la démontre en posant une à deux colonies de l'isolat de la souche à tester dans une solution fraîche d'eau oxygénée à 10 volumes sur une lame. Un grand dégagement de gaz. Selon Guiraud (2003), la formation de mousse reflète la décomposition de l'eau oxygénée. L'objectif de ce test est de détecter les bactéries lactiques (catalase-) par rapport aux autres bactéries.

#### 4.3.4 Type fermentaire

Ce test permet de distinguer les bactéries lactiques qui fermentent de manière homogène de celles qui fermentent de manière hétérogène. Il s'agit de souligner la production de gaz (CO<sub>2</sub>).

### Matériel :

- ❖ Colonies bactérienne
- ❖ Anse de platine
- ❖ Tubes stériles contenant cloche de Durham
- ❖ Bouillon MRS

### Méthode

Dans des tubes stériles contenant du bouillon MRS et une cloche de Durham, des souches fraîches préalablement cultivées sur gélose MRS a étéensemencées. L'incubation se



fait à 30°C pendant 24-48 heures. Pour un témoin passif, les mêmes conditions s'appliquent, sauf que la souche n'est pas cultivée

Selon Guiraud (2003), les souches homofermentaires génèrent de l'acide lactique à partir du glucose, tandis que les souches hétérofermentaires génèrent à la fois de l'acide lactique et du CO<sub>2</sub> à proportions égales.

### 5. Mesure de pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre calibré par des solutions standards sur une solution de miel à 10% (Belhaj *et al.*, 2015).

#### Matériel :

- ❖ Ph mètre
- ❖ Vortex
- ❖ Echantillon du miel
- ❖ Eau distillé

#### Méthode

1 ml de l'échantillon de miel a été dissous dans 10 ml d'eau distillée et bien agité à l'aide d'un vortex, puis le pH a été mesuré à l'aide d'un pH-mètre et le même processus a été répété pour le reste des échantillons.

## CHAPITRE 03

# Résultats et discussion





### CHAPITRE 03 : Résultats et discussion

#### Résultat

##### 1. Test d'activité antimicrobien

###### 1.1 Méthode de diffusion par puits sur gélose

L'activité antimicrobienne de différentes variétés de miel tel que Cresson, Sedra, eucalyptus, multi-fleur et agrume a été testée contre huit bactéries : *S. aureus* ATCC 25923, *E. faecalis* ATCC 29212, *P. aeruginosa* ATCC 27853, *E. coli* ATCC 25922, *K. pneumoniae* ATCC 700603, *S. typhi*, *L. monocytogène* et *P. aeruginosa* ATCC 27853 et contre une levure *C. albicans* ATCC 10231 par l'essai de diffusion. Le tableau 6 montre la taille des zones d'inhibition produites par les échantillons de miel testés à différentes concentrations (20% 40% 80%) sans ou avec catalase. Les miels de Sedra, de Cresson et d'agrumes ont montré une forte activité antibactérienne contre 6 isolats avec et sans peroxyde d'hydrogène, sauf vis-à-vis *P. aeruginosa* le miel de Cresson a montré une activité qu'en absence du peroxyde d'hydrogène. De même, le miel multi floral a montré une activité antibactérienne efficace contre 5 isolats et le miel de eucalyptus a montré une bonne activité antibactérienne contre 3 isolats en présence et en l'absence de peroxyde d'hydrogène.

Le miel d'eucalyptus n'a montré aucune activité antibactérienne contre *E. coli*, *B. cereus*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* mais son activité inhibitrice contre *E. faecalis* est probablement dû à l'effet de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> car en absence de ce dernier, ce miel ne montre aucune activité antibactérienne.

Les isolats les plus résistants parmi les résultats obtenus pour les cinq échantillons de miel sont *P. aeruginosa*, *k. pneumoniae*, *E. coli*, *B. cereus* et *C. albicans*.



## Résultats et discussion

Tableau 6 : Le diamètre de zone d'inhibition des échantillons des miels

			<i>E. Coli</i>	<i>B. Cereus</i>	<i>L.monocytogène</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>S.typhi</i>	<i>S. aureus</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>E. faecalis</i>	<i>C. albicans</i>
			Diamètre de la zone d'inhibition (mm)								
Sedra	Miel	80%	34	31	40	-	21	14	-	34	-
		40%	-	-	22	-	-	-	-	-	-
		20%	-	-	20	-	-	-	-	-	-
	Miel+ catalase	80%	29	28	26	-	36	24	-	31	-
		40%	-	-	20	-	28	16	-	-	-
		20%	-	-	16	-	24	12	-	-	-
Cresson	Miel	80%	24	34	46	11	-	34	-	23	-
		40%	20	-	40	10	-	26	-	-	-
		20%	-	-	32	-	-	20	-	-	-
	Miel+ catalase	80%	30	33	40	14	-	32	12	29	-
		40%	10	-	15	12	-	28	-	-	-
		20%	-	-	14	-	-	26	-	-	-
Eucalyptus	Miel	80%	-	-	44	-	33	-	-	18	-
		40%	-	-	40	-	24	-	-	14	-
		20%	-	-	34	-	-	-	-	10	-
	Miel+ catalase	80%	-	-	38	-	22	31	-	-	-
		40%	-	-	26	-	20	25	-	-	-
		20%	-	-	20	-	16	-	-	-	-
Agrumes	Miel	80%	38	-	38	-	40	36	14	28	-
		40%	26	-	26	-	34	30	-	18	-
		20%	20	-	21	-	20	28	-	14	-
	Miel+ catalase	80%	29	-	40	-	36	36	11	40	-
		40%	26	-	28	-	30	30	-	30	-
		20%	20	-	22	-	26	26	-	22	-
Multi fleurs	Miel	80%	31	-	30	-	30	30	-	19	-
		40%	-	-	22	-	24	22	-	10	-
		20%	-	-	18	-	20	-	-	9	-
	Miel+ catalase	80%	33	-	42	-	26	34	-	15	-
		40%	-	-	40	-	20	26	-	12	-
		20%	-	-	30	-	16	22	-	11	-

Toutes les zones d'inhibition incluent le diamètre du puits (8 mm)

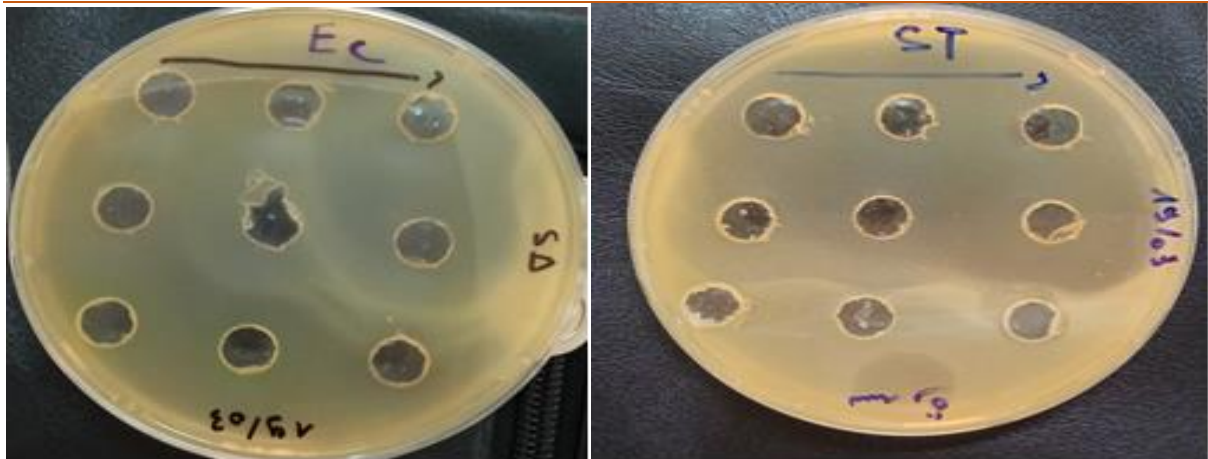


Figure 9 : Quelques résultats positive des zones d’inhibition des échantillons du miel analysée (Le reste des images sont dans l’annexe05)

### 1.2 Méthode de micro-dilution par puits de microplaque

Les cinq variétés de miels ont montré une activité antibactérienne dans l'essai de micro-dilution en bouillon contre les huit souches bactériennes. Qui nous permet ainsi d’obtenir les CMI de chaque type de miel (tableau7). Le miel de Sedra est le plus efficace contre toutes les bactéries testées, avec une CMI inférieur á 20%. Suivi par celui de Cresson avec une CMI inferieur á 20% contre six souches et une CMI qui varie entre (20 % à 30 %) avec *E. coli* et *K. pneumoniae*. Les miels de multifleurs et Eucalyptus et Agrumes sont également efficaces contre la plupart des bactéries, mais cette fois-ci avec une CMI un peu plus élevé (20% à 40%) pour la plupart des souches.

Tableau 7 : Résultats obtenus à partir de CIM

	Sedra	Cresson	Eucalyptus	Agrumes	Multi fleurs
<i>E. coli</i>	<20%	20%-30%	<20%	<20 %	<20 %
<i>K. pneumoniae</i>	<20%	20%-30%	20%-30%	30% - 40 %	30% - 40 %
<i>B. cereus</i>	<20%	<20%	20%-30%	20% - 30%	20% - 30%
<i>S. typhimurium</i>	<20%	<20%	20%-30%	20% - 30%	20% - 30%
<i>S. aureus</i>	<20%	<20%	<20%	<20 %	<20 %
<i>E. faecalis</i>	<20%	<20%	<20%	<20 %	<20 %
<i>P.aeruginosa</i>	20%-30%	<20%	20%-30%	20% - 30%	20% - 30%
<i>L. monocytogenes</i>	<20%	<20%	20%-30%	<20 %	<20 %



### 2. Recherche des bactéries lactiques

#### 2.1 Dénombrement de bactéries lactique

Après la période d'incubation, une croissance bactérienne a été observée à la surface de la gélose ainsi qu'en masse de celle-ci pour tous les échantillons de miel analysés. La valeur la plus faible a été enregistrée pour le Cresson par un dénombrement de  $0.369 \times 10^3$  UFC/ ml, tandis que la valeur la plus élevée a été enregistrée pour Eucalyptus par un dénombrement de  $2.369 \times 10^3$  UFC/ ml. Tous les calculs sont présentés dans le tableau 12.

**Tableau 8 : Le dénombrement de bactéries lactique**

Echantillon	Cresson	Sedra	Kalytus	Multi fleurs	Agrumes
Dénombrement $\times 10^3$ UFC/ ml	0.369	2.113	2.396	1.311	1.333

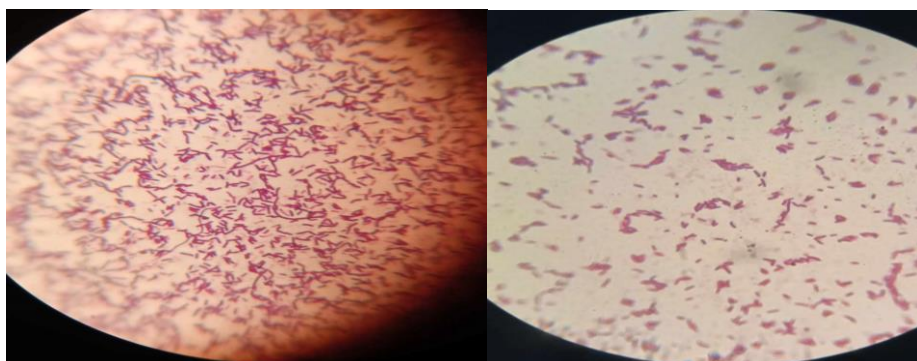
#### 2.2 Test d'orientation pour l'identification des souches

##### 2.2.1 Aspect macroscopique

Toutes les souches purifiées sur la gélose de MRS présentaient des tailles différentes irrégulière, convexe et de bord bouclé avec une couleur blanchâtre ou laiteuse, de 2 à 3 mm de diamètre

##### 2.2.2 Coloration de Gram

Après coloration du Gram, une couleur violet a été observée, ce qui signifie que cette bactérie est gram positive. pour la forme, les bactéries sont présentés des forme bacilles (sous forme de cellules individuelles, groupés en chainettes ou en amas).



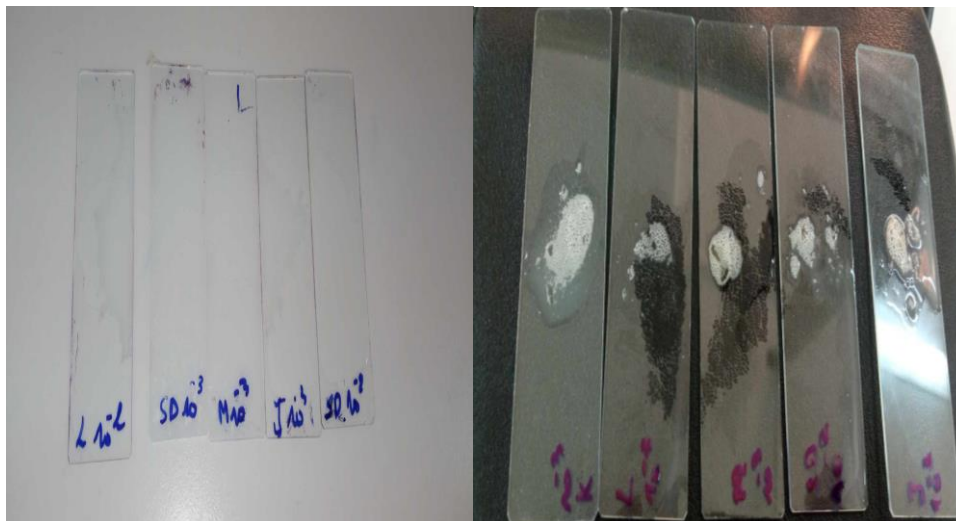
**Figure 10 : La coloration de gram pour les bactéries isolés à grossissement 100X**





### 2.2.3 Test de catalase

Toutes les souches isolées qui ont été poussées sur la gélose représentaient d'effervescence l'ors de l'ajout d'une goutte de  $H_2O_2$ , ce qui s'explique par le fait que ces bactéries possèdent d'activité catalasique. Au contraire, les bactéries qui ont été poussées à l'intérieur du gélose ne représentaient pas d'effervescence c'est-à-dire ces bactéries ne possèdent pas d'activité catalasique.



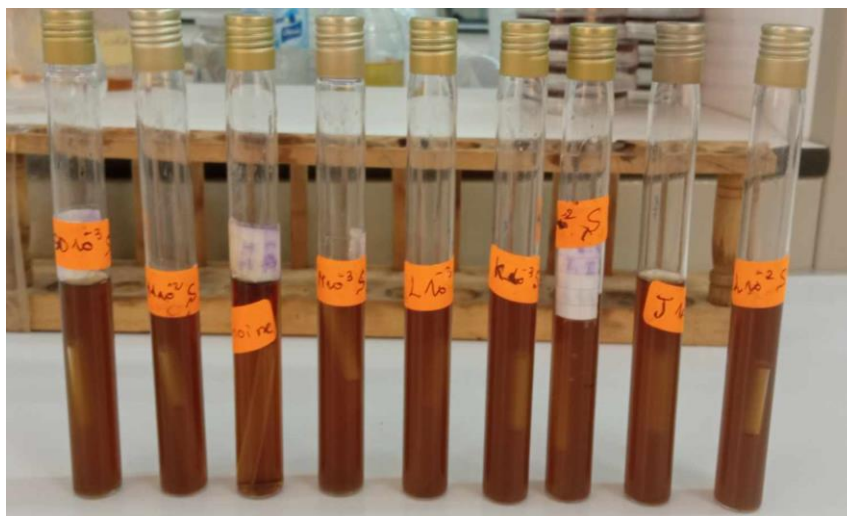
Catalase négative

Catalase positive

**Figure 11 : Les résultats des tests de catalase pour les bactéries isolées**

### 2.2.4 Type fermentaire

Lors de la fermentation du glucose, toutes les bactéries isolées génèrent des gaz, ce qui signifie qu'elles sont hétérofermentaires.



**Figure 12 : Les résultats de test de fermentation**



### 3. Mesure de pH

Les valeurs de pH obtenues ont varié, les valeurs de pH des miels analysés se situant entre 7,91 et 4,33, Cresson enregistré la valeur de pH la plus élevée avec 7,91, tandis que Eucalyptus a enregistré la valeur de pH la plus basse avec 4,31, tandis que les autres types de miel ont enregistré les valeurs suivantes : Sedra 5.91, Argumes 4.33, multifleur 4.44 Tous les résultats obtenus sont présentés dans la figure suivante.

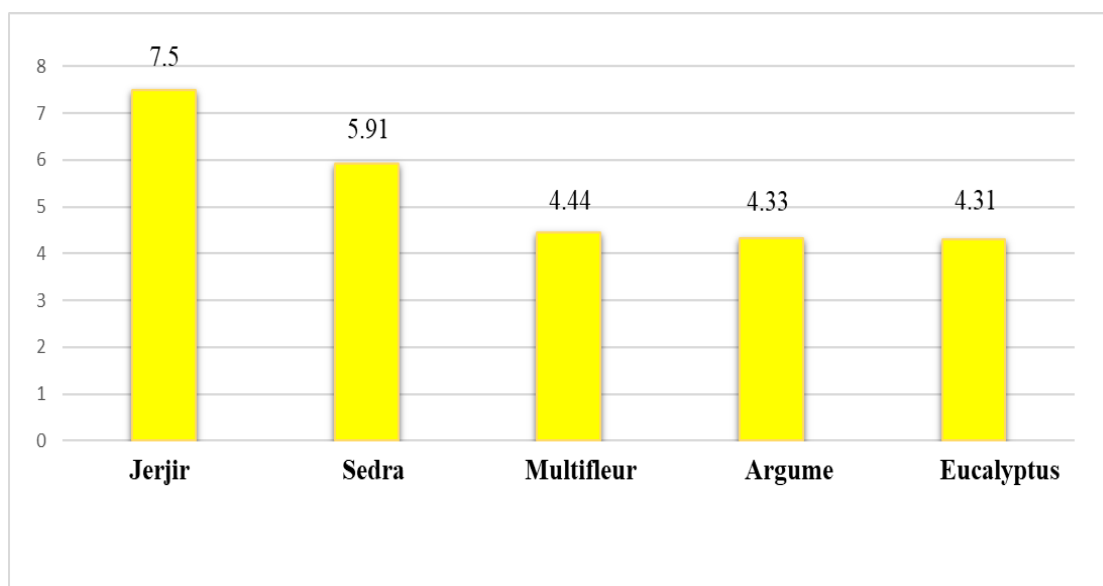


Figure 13 : Les valeurs de pH du miel analysés

#### Discussion générale :

La sélection des bactéries et des levures cibles pour nos tests d'activités antimicrobiens est basé sur leur pouvoir pathogène et l'éventuelle action du miel à inhiber ces agents pathogènes, dont on cite : *S. aureus* qui fait partie de la microflore cutanée de l'homme mais elle peut être opportuniste et cause par la suite des infections de la peau tel que des furoncles (Lorrot *et al.*, 2014). *E. coli* et *S. Typhi* deux agents pathogènes souvent répondu dans les intoxications d'origine alimentaire qui résultent de la consommation d'aliments contaminés, provoquant des diarrhées et de la fièvre typhoïde (Mathur *et al.*, 2012 ; Yang *et al.*, 2017). *B. cereus* provoque des infections gastro-intestinales et non gastro-intestinales (Glasset *et al.*, 2018). *L. monocytogenes* peut provoquer divers syndromes cliniques, notamment la septicémie, la méningite et la rhomboencéphalite, en particulier chez les personnes immunodéprimées (Schlech, 2019). *P. aeruginosa* est considéré comme l'un des principaux pathogènes pulmonaires ayant un impact significatif sur la morbidité et la mortalité (Bhagirath *et al.*, 2016).



## Résultats et discussion

*K. pneumoniae* l'agent causal de la plupart des infections pulmonaire provoquant une pneumonie ou des infections des voies urinaires (Siu *et al.*, 2012). *E. faecalis* qui est présente dans la flore gastro-intestinale humaine et constitue une cause majeure d'infections nosocomiales et un problème de santé publique de plus en plus grave (McBride *et al.*, 2007). La levure choisie pour notre étude est bien *C. albicans* car c'est une levure connue par son pouvoir pathogène opportuniste et la cause majeure des candidoses (Fuentefria *et al.*, 2018).

Le miel a été évalué comme alternative aux agents antibactériens et antifongiques existants. Son activité antimicrobienne a été testée par deux méthodes : diffusion sur puits de gélose (DPG) et micro-dilution (MD). Pour la levure *Candida albicans*, seule la méthode de (DPG) est utilisée. D'après le test de DPG, le miel de Sedra et de Cresson ont révélés une efficacité considérable en vers 66 % des agents pathogènes testé à savoir *E. coli*, *B. cereus*, *L. monocytogène*, *S. typhi*, *S. aureus*, *E. fecalis*, *K. pneumonie* soit avec ou sans l'effet de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. De plus, le meilleur score de zone d'inhibition a été enregistré avec le miel de Cresson (46 mm contre *L. monocytogène* a 80 % du miel et la même espèce a été inhibé en utilisant 20% du miel d'Eucalyptus avec 34 mm comme la meilleure zone d'inhibition à 20% du miel, cependant le miel d'Eucalyptus a pu inhibé que 4/8 bactéries. Nos résultats sont très proche à celles d'une étude menée par Wadi (2022), dont les miels de multi fleurs, d'agrumes et de Sidr avaient une activité antibactérienne efficace contre *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *S. typhi* et *P. aeruginosa*. Sauf pour *P. aeruginosa*, dans notre étude cette espèce a montré une résistance remarquable vis-à-vis la plupart de variétés du miel, que le miel d'agrumes et de Cresson (sans H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ont donné un zone d'inhibition mais avec 80% de miel. De même selon Assaggaf *et al.*, (2022), l'activité antibactérienne du miel de Eucalyptus contre *E. coli*, *S. aureus*, *L. monocytogenes* et *S. typhimurium* s'est avérée efficace et efficient mais les auteurs ont utilisé la technique du disque de diffusion dans leurs tests.

En ce qui concerne le miel de Cresson, le manque d'études antérieures sur son activité antibactérienne principalement en utilisant la méthode diffusion sur puits de gélose (DPG) nous a empêché de bien discuter nos résultats, qu'avec une étude menée par Fizazi et Zeddami (2018) qu'ils ont trouvé que le miel d'*Eruca sativa* a démontré la meilleure activité antimicrobienne, particulièrement vis-à-vis *K. pneumoniae*, par rapporte aux autre variété du miel.

Le miel des agrumes et de multifleur étaient le plus efficace contre *E. coli*, *L. monocytogene*, *S. typhi*, *S. aureus*, *E. fecalis* et (*P. aeruginosa* avec le miel d'agrumes), ces résultats avaient un point commun avec ceux rapporté par Badache (2018) dans l'inhibition de *E. coli* et *S. aureus*



## Résultats et discussion

par le miel des agrumes ( $10,50 \pm 0.29$  mm et  $20,00 \pm 1.04$  mm, respectivement) et celui de multifleur ( $20,00 \pm 0.25$  mm et  $20,50 \pm 0.76$  mm, respectivement) mais avec des diamètres d'inhibition un peu plus élevé dans notre cas qui atteint 38 mm avec le miel d'agrumes contre *E. coli*.

Malgré l'ajout de la catalase qui neutralise l'effet de  $H_2O_2$ , on remarque que la plupart des variétés de miel conservent leur activité, particulièrement le miel de Cresson et celui d'agrumes, mais avec une légère diminution dans le diamètre de la zone. De même Sindi *et al.* (2019) ont rapporté que l'ajout de la catalase augmente dans la CMI de 5 variété du miel, mais le miel du Manuka a révélé une différence non significative. Selon Vaknos *et al.* (2022), il a été prouvé qu'il existe dans le miel d'autres facteurs dotés d'activité antibactérienne que le  $H_2O_2$ , à savoir la pression osmotique, l'activité de l'eau, la teneur en acide du miel et la présence de composés bioactifs tels les acides phénoliques, les flavonoïdes, le méthylglyoxal (MGO), la défensine D, le lysozyme et les composés volatils.

Aucune activité antifongique contre *Candida albicans* ATCC-10231 n'a été observée pour tous les échantillons de miel de notre étude, en revanche, Anand *et al.* (2019), ont rapporté une inhibition remarquable de cette souche de levure par différente variété de miel, mais avec la méthode de micro dilution.

Le test de micro-dilution (MD) reflète plus de résultats positifs de l'activité antimicrobienne des échantillons de miel car ils ont inhibé le développement des 8 souches de bactérie testée, ce qui n'a pas été le cas avec la méthode de diffusion sur puits de gélose (DPG) et la même remarque a été soulevée par Anand *et al.* (2019). On outre selon Brady *et al.* (2004), la plus faible sensibilité du test DPG par rapport au test MD pourrait s'expliquer par la nécessité pour les composants actifs de diffuser à travers la gélose. Pour cela, on peut envisager que, la méthode de micro-dilution peut être considérée comme un modèle approprié pour évaluer de l'activité antimicrobienne du miel.

La CMI la plus faible a été observée avec le miel de Sedra et le miel de Cresson à un pourcentage de miel < 20%. Nos résultats sont en accord avec ceux de Ouadjnia et Mebkhout (2022), dont ils ont trouvé que le miel de Cresson de la région de Tamenrasset avait une activité vis-à-vis des mêmes souches de références de notre étude (*Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) et *Escherichia coli* (ATCC 25922), et vis-à-vis ces dernières, le miel de cresson testé par Bakhti *et al.* (2023) avait des CMI allant de 12% à 16%, sachant que leurs échantillons ont été prélevés de la même région que notre étude (Djelfa).



## Résultats et discussion

Le miel d'Eucalyptus a démontré des résultats de CMI entre 20% et 40% qui sont des valeurs modéré et un peu plus supérieur à celles rapporté par Sindi *et al.* (2019) où ils ont testé le miel d'*Eucalyptus marginata*, contenant du peroxyde d'hydrogène, il a montré des CMI allant de 6,7% à 16,7 % vis-à-vis *S. aureus* ATCC 700699, *P. aeruginosa* ATCC BAA-47, *E. coli* NCTC 10538 et *E. faecalis* NCTC 775. Cependant, ces mêmes souches ont été plus résistante en vers le miel de multi fleure avec des valeurs de CMI entre 30% et 32%, ce résultat est en accord avec notre résultat dans le cas du miel du multi fleure qui varie entre 20 % et 40%.

Le miel d'agrumes a démontré des résultats de CMI entre 20% et 40% qui sont des valeurs modéré et un peu inférieur à celles rapporté par Gulfraz et al. (2011) où ils ont testé le miel d'agrumes, il a montré des CMI allant de 50% contre *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli* et *k.pneumonia*.

Les résultats du test de DPG contre les bactéries Gram négatives *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* sont positifs pour la majorité des variétés de miel testées, tandis que les bactéries Gram positives *L. monocytogenes*, *S. aureus* et *E. faecalis* ont obtenu des résultats efficaces dans tous les échantillons de miel. Au contraire, en ce qui concerne le test de MD, les cinq variétés de miel ont démontré une efficacité contre toutes les souches bactéries .Fizazi et Zeddami (2018) ont réalisé une étude sur 10 échantillons de miel qui ont été testés contre 5 souches bactériennes. Ils ont démontré que l'activité antibactérienne était plus efficace contre les bactéries Gram+ que contre les bactéries Gram-.

Selon l'étude menée par Assie (2004), il a été démontré que les bactéries Gram+ et Gram- étaient favorables à l'effet antibactérien du miel .D'après les recherches de Sindi et ses collègues en 2019, diverses variétés de miel ont été utilisées pour obtenir des résultats efficaces dans le test MD contre les bactéries Gram-négatives *E. coli*, *P. aeruginosa* et les bactéries Gram positives *S. aureus* et *E. faecalis*

Selon Wadi (2022) La concentration d'acides phénoliques dans le miel dépend de la situation géographique et de la source de nectar. Cela suggère que la relation entre les propriétés antibactériennes, l'origine florale et les facteurs environnementaux diffère selon les régions. L'utilisation de la micro-dilution a montré que le peroxyde d'hydrogène est l'ingrédient le plus efficace du miel (Olaitan *et al.*, 2007). En outre, Le peroxyde d'hydrogène, produit par l'oxydation du glucose par la glucose-oxydase lors de la dilution du miel selon (Olaitan *et al.*, 2007).



## Résultats et discussion

L'analyse microbiologique du miel a montré la présence de bactéries lactiques dans tous les échantillons de miel de Sedra, de Cresson, de Eucalyptus, de Multi fleurs et de Agrumes en nombre variable.

La présence de bactéries lactiques dans le miel a été prouvée par des études antérieures. Selon Tobias et Alejandra (2008) Le miel produit par les abeilles *apis* contient des bactéries lactiques. Aussi Lashani (2020) et Feizabadi *et al.*, (2021) ont également prouvé la présence de ces bactéries dans le miel par leurs travaux

De nombreux facteurs et sources contrôlent la présence et le type de bactéries lactiques, selon Neveling *et al.* (2012) Les bactéries lactiques, dont la principale source est le pollen d'abeille, le nectar et l'intestin pour la production, comme l'a prouvé aussi dans une étude iranienne menée sur 88 échantillons de miel collectés dans différentes régions d'Iran. L'étude indique que la composition et la diversité microbienne du miel peuvent être influencées par divers facteurs, tels que les conditions climatiques et la situation géographique (Abadi *et al.*, 2023).

Les bactéries lactiques sont connues pour leur activité antimicrobienne et une étude de Syed *et al.*, (2018) a indiqué que l'activité antagoniste de toutes les souches de bactéries lactique est très bonne à l'encontre de cinq bactéries clinicopathogènes, comme on peut le voir à partir des zones d'inhibition. Le miel de *H. itama* est mis en avant dans cette étude comme un écosystème favorable pour le développement des bactéries lactique à propriétés probiotiques, envisageant ainsi son rôle thérapeutique potentiel dans les aliments.

Selon Olofsson *et al.*, 2016, Différents métabolites bioactifs sont produits par ces bactéries, tels que l' $H_2O_2$  et des composés volatils qui jouent un rôle dans certaines actions antimicrobiennes. Cela laisse supposer que les bactéries lactiques sont l'un des facteurs qui contribuent à l'activité antimicrobienne du miel, d'autant plus qu'elles ont une activité antibactérienne.

Pour la mesure du pH, les résultats obtenus étaient entre 4,31 et 7,5. Selon les résultats de pH du miel de (Wadi, 2022), le pH se situe entre 3,5 et 4,5. Ses résultats sont en accord avec les valeurs obtenu dans nos échantillons de miel d'agrumes, et multi floral, avec une différence mineure par rapport au miel de Sedra cette fourchette de pH a été affirmé auparavant par Bogdanov *et al.*, (1999). Le miel eucalyptus est en accord avec les résultats d'une étude menée selon Assaggaf *et al.*, (2022). Pour les miels de Sedra et de Cresson, le pH était élevé et dépasse cet intervalle. Selon Deschamps (1998) un pH élevé témoigne d'une détérioration biochimique



## **Résultats et discussion**

---

causée par des conditions de récolte ou de conservation défavorables. De plus, cela peut favoriser la survenue d'une détérioration microbienne, car l'acidité naturelle du miel peut contribuer à l'inhibition de la croissance des micro-organismes, dont leur pH optimal a été situé entre 7,2 et 7,4 (Suarez-Locke *et al.*, 2002 ; Karabagias *et al.*, 2014).

Selon Louveaux (1968), le pH varierait en fonction de la flore butinée, de la sécrétion salivaire de l'abeille et des processus enzymatiques et fermentatifs lors de la transformation de la matière première. Selon Amenu (2013), l'acidité du miel est due à la présence de trente et un acides organiques différents.

# Conclusion







### Conclusion

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne du miel naturel algérien et sa capacité à éliminer différents types de microbes, cette étude a été réalisée et a comporté plusieurs analyses.

Cette étude a montré que le miel algérien possède une activité antimicrobienne significative contre diverses bactéries. Le miel de Sedra et de Cresson a révélé une efficacité considérable contre 66% des agents pathogènes testés, avec le miel de Cresson enregistrant la meilleure zone d'inhibition, atteignant un diamètre de 46 mm contre *L. monocytogenes* à une concentration de 80% de miel. Cependant, il est important de noter qu'aucune activité antifongique contre *Candida albicans* ATCC-10231 n'a été observée pour tous les échantillons de miel étudiés. Les analyses microbiologiques ont également révélé la présence de bactéries lactiques dans tous les échantillons de miel de Sedra, de Cresson, d'Eucalyptus, de Multi-fleurs et d'Agrumes, en nombre variable. Les types de miel utilisés dans cette étude proviennent des régions suivantes : Djelfa (miel de Sedra), Ain Oussara (miel de Cresson), Ghardaïa (miel d'Agrumes), Boumerdes (miel d'Eucalyptus), et une origine inconnue (miel de Multi-fleurs).

Sur la base des résultats obtenus, il est clair que le miel algérien possède une activité antimicrobienne notable, bien que variable. Cette variabilité dans les résultats confirme la présence de plusieurs facteurs influençant cette activité. En effet, l'activité antimicrobienne du miel est due à divers éléments tels que le pH, les bactéries lactiques et la production de  $H_2O_2$ , plutôt qu'à un seul facteur isolé.

Il est bien connu que la production de miel naturel se fait de manière certaine, les abeilles étant à l'origine de la production, mais l'activité antimicrobienne du miel varie d'un type de miel à l'autre. Lorsqu'on étudie l'activité antimicrobienne de divers échantillons de miel, le résultat est différent. La variabilité de l'effet peut être attribuée à des fleurs différentes produites à partir de miel ou à des régions géographiques différentes, et la flore intestinale des abeilles peut influencer l'effet du miel sur différents microbes.

A la fin, cette étude a mis en lumière l'importance du miel algérien comme source potentielle d'agents antimicrobiens naturels. La diversité des résultats obtenus souligne la nécessité d'approfondir les recherches pour identifier les mécanismes précis et les facteurs déterminants de l'activité antimicrobienne du miel. Cette approche permettra non seulement de valoriser les propriétés médicinales du miel, mais aussi de promouvoir son utilisation dans les domaines de la santé et de l'agroalimentaire. Les futures études devront donc adopter une



## **Conclusion**

---

démarche multidisciplinaire, intégrant la microbiologie, la chimie, l'écologie et la médecine, pour exploiter pleinement les bienfaits du miel algérien et potentiellement d'autres miels dans le monde.

Afin de compléter cette étude, comme perspectives il est suggéré :

- ✓ D'étudier l'influence géographique sur le pouvoir antimicrobien du miel de Sedra et de Cresson.
- ✓ D'approfondir l'étude à l'échelle biomoléculaire afin de caractériser les composants bioactifs du miel actif.
- ✓ D'étudier l'activité antimicrobienne des bactéries lactiques isolées du miel.

# Références bibliographique





### Références

- Abadi, M. E. G. M., Hosseini-Safa, A., Habibi, S., Dehghan, M., Forouzani-Moghaddam, M. J., Oshaghi, M. (2023). Isolation and characterization of the lactobacillus strain from honey and its probiotic properties. *Iranian Journal of Microbiology*, 15(3), 439.
- Abadi, M. E. G. M., Hosseini-Safa, A., Habibi, S., Dehghan, M., Forouzani-Moghaddam, M. J., & Oshaghi, M. (2023). Isolation and characterization of the lactobacillus strain from honey and its probiotic properties. *Iranian Journal of Microbiology*, 15(3), 439.
- Adams JC, Boulton CH, Deadman BJ, Farr JM, Grainger NC, Manley-Harris M, Snow MJ (2008). Isolation by HPLC and characterisation of the bioactive fraction of New Zealand manuka (*Leptospermum scoparium*) honey. *Carbohydr. Res.*343:651-659.
- AFNOR, 1996. Microbiologie des aliments – Dénombrement des coliformes thermotolérants par comptage de colonies obtenues à 44°C, NF V 08 60, Paris, 20p
- Ajlouni, S., & Sujirapinyokul, P. (2010). Hydroxymethylfurfuraldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food chemistry*, 119(3), 1000-1005.
- Aksoy T., Sivcan E., Doğan F., Çetin S., Yar T.M. (2020): Investigation of anti-leishmanial effects of bee products (honey, propolis) on *Leishmania tropica* promastigotes. *Mikrobiyoloji Bülteni*, 54: 479-489.
- Alqarni, A. S., Owayss, A. A., & Mahmoud, A. A. (2012). Mineral content and physical properties of local and imported honeys in Saudi Arabia. *Journal of Saudi Chemical Society*, 5, 618–625.
- Alvarez, L. M. (2011). Honey proteins and their interaction with polyphenols. Master of Science. Brock University, St. Catharines, Ontario, 93p.
- Alvarez-Suarez, J. M., Giampieri, F., González-Paramás, A. M., Damiani, E., Astolfi, P., Martínez-Sánchez, G. (2012). Phenolics from monofloral honeys protect human erythrocyte membranes against oxidative damage. *Food and Chemical Toxicology*, 50, 1508–1516.
- Alvarez-Suarez, J. M., Tulipani, S., Romandini, S., Bertoli, E., & Battino, M. (2010). Contribution of honey in nutrition and human health: à review. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, 3, 15-23.
- Amenu, D. (2013). The antibacterial activity of honey. *International Journal of Current Research and Academic Review*, 1(2), 102-116.
- Anand, S., Deighton, M., Livanos, G., Pang, E. C. K., & Mantri, N. (2019). Agastache honey has superior antifungal activity in comparison with important commercial honeys. *Scientific Reports*, 9(1), 18197.
- Assagaf, H. M., Mrabti, H. N., Rajab, B. S., Attar, A. A., Hamed, M., Sheikh, R. A., ... & Bouyahya, A. (2022). Singular and combined effects of essential oil and honey of *Eucalyptus globulus* on anti-inflammatory, antioxidant, dermatoprotective, and antimicrobial properties: In vitro and in vivo findings. *Molecules*, 27(16), 5121.
- Assie B., Descottes B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse, p 115.
- BADACHE, F.(2018). Analyse physico-chimiques et l'étude de l'activité antibactérienne de quelques variétés du miel seules et en combinaison avec les antibiotiques et leur activité anti-oxydante.



- Bakhti, H., & Bekheira, I. (2023). Caractérisation physico-chimique et activités anti-oxydantes et antibactériennes des miels de Cresson (*Eruca sativa*) (Doctoral dissertation, Université Ibn Khaldoun).
- Balas, F. (2015). Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. Thèse de doctorat. Université de NICE SOPHIA-ANTIPOLIS, Nice, 85p.
- Bansal V., Medhi B., Pandhi P. (2005): Honey - A remedy discovered and its therapeutic utility. Kathmandu University Medical Journal, 3: 305-309.
- Basualdo C., Sgroy V.N., Finola M.S., Marioli J.M. (2007): Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. Veterinary Microbiology, 124: 375-81
- Behbahani M. (2014): Anti-HIV-1 activity of eight monofloral Iranian honey types. PLoS One, 9: e108195.
- BELHAJ, O., EL ABBADI, I., & OUCHBANI, T. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 4(3).
- Belhaj, O., Oumato, J., & Zrira, S. (2015). Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires, 3(3), 71-75
- Bhagirath, A. Y., Li, Y., Somayajula, D., Dadashi, M., Badr, S., & Duan, K. (2016). Cystic fibrosis lung environment and *Pseudomonas aeruginosa* infection. BMC pulmonary medicine, 16, 1-22.
- Bogdanov S (1984). Characterisation of antibacterial substances in Honey. Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie. 17:74-76.
- Bogdanov S., Blumer P. (2001): Natural Antibiotic Properties of Honey (Propriétés Antibiotiques Naturelles du Miel). Bern, Switzerland, Centre Suisse de Recherche Apicoles : 1-8.
- Bogdanov, S., & International Honey Commission. (1999). Honey quality, methods of analysis and international regulatory standards: Review of the work of the International Honey Commission. Mitt. Lebensm. Hyg., 90, 108–125.
- Bogdanov, S., Jurendic, T., Sieber, R., & Gallmann, P. (2008). Honey for Nutrition and Health: A Review. Nutrients, 1(2), 157-167.
- Bonté, F., & Desmoulière, A. (2013). Le miel : Origine et composition. Actualités Pharmaceutiques, 531, 18–21.
- Brady, N., Molan, P., & Bang, L. (2004). A survey of non-manuka New Zealand honeys for antibacterial and antifungal activities. Journal of Apicultural Research, 43(2), 47–52.
- Brudzynski K., Miotto D., Kim L., Sjaarda C., Maldonado-Alvarez L., Fukš H. (2017) : Active macromolecules of honey form colloidal particles essential for honey antibacterial activity and hydrogen peroxide production. Scientific Reports, 7 : 7637
- Bucekova M., Jardekova L., Juricova V., Bugarova V., Di Marco G., Gismondi A., Leonardi D., Farkasovska J., Godocikova J., Laho M., Klaudiny J., Majtan V., Canini A., Majtan J. (2019) : Antibacterial activity of different blossom honeys : New findings. Molecules, 24 : 1573.
- Bulet P., Stocklin R. (2005): Insect antimicrobial peptides: Structures, properties and gene regulation. Protein and Peptide Letters, 12: 3-11.



- Bulgasem Y., Bulgasem M., Nizam L., Zaiton H., Wan M., Wan Y., Sumaya G.F. (2016): Antifungal activity of lactic acid bacteria strains isolated from natural honey against pathogenic *Candida* species. *Mycobiology*, 44: 302-309.
- Carson, M. C. (2000). Ion-pair solid-phase extraction. *Journal of Chromatography A*, 885(1-2), 343-350.
- Castro-Vázquez, L., Díaz-Maroto, M. C., & Pérez-Coello, M. S. (2007). Aroma composition and new chemical markers of Spanish citrus honeys. *Food Chemistry*, 103, 601–606
- Cavia, M. M., Fernández-Muino, M. A., Alonso-Torre, S. R., Huidobro, J. F., & Sancho, M. T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry*, 100, 1728–1733.
- Challacombe, C. A., Abdel-Aal, E. M., Seetharamana, K., & Duizer, L. M. (2012). Influence of phenolic acid content on sensory perception of bread and crackers made from red or white wheat. *Journal of Cereal Science*, 56, 181–188.
- Cherchi, A., Spanedda, L., Tuberoso, C., & Cabra, P. (1994). Solid-phase extraction and high-performance liquid chromatographic determination of organic acids in honey. *Journal of Chromatography A*, 669, 59–64
- Codex Alimentarius. (2001). Revised codex standard for honey. Codex standard 12-1981, Revue, 1(1987) .12, 1-10
- Coulibaly, B., Diomandé, M., Konaté, I., & Bohoua, G. L. (2019). Qualité Microbiologique, Propriétés Physicochimiques et Profil Sensoriel de Miels de la Région du Worodougou, Côte d'Ivoire *European Scientific Journal*, 15 (30), pp 72\_93.
- Couplan F. Lazardin A. Lazardin G. 2014. Edition du Belvédère. Abeilles et Pollinisation en danger. P : 56
- Couquet Y., Alexis D., Rigal M.L. (2013): The antibacterial and healing properties of honey (Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel). *Actualités Pharmaceutiques*, 52: 22-25.
- Da Silva, P. M., Gauche, C., Gonzaga, L. V., Costa, A. C. O., & Fett, R. (2016). Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food chemistry*, 196, 309-323.
- Delphine I. 2010. « Le miel et ses propriétés thérapeutiques ». Thèse du doctorat.
- Deschamps, V. C. (1998). Production et commercialisation du miel (Doctoral dissertation). Université Paul Sabatier, Toulouse.
- Donia M.S., Fricke W.F., Partensky F., Cox J., Elshahawi S.I., White J.R., Phillippy A.M., Schatz M.C., Piel J., Haygood M.G., Ravel J., Schmidt E.W. (2011): Complex microbiome underlying secondary and primary metabolism in the tunicate-Prochloron symbiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of USA*, 108: E1423-E1432
- Escuredo, O., Dobre, I., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2014). Contribution of botanical origin and sugar composition of honeys on the crystallization phenomenon. *Food Chemistry*, 149, 84–90.
- Escuredo, O., Míguez, M., Fernández-González, M., & Seijo, M. C. (2013). Nutritional value and antioxidant activity of honeys produced in a European Atlantic area. *Food Chemistry*, 138, 851–856.
- Esmon, C. T. (2004). Crosstalk between inflammation and thrombosis. *Maturitas*, 47(4),305–314.



- Estrada H, Gamboa Mdel M, Arias ML, Chaves C (2005). Evaluation of the antimicrobial action of honey against *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, *Listeria monocytogenes* and *Aspergillus niger* Evaluation of its microbiological charge. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 55:167-171.
- Feizabadi, F., Sharifan, A., Tajabadi, N. (2021). Isolation and identification of lactic acid bacteria from stored *Apis mellifera* honey. *Journal of Apicultural Research*, 60(3), 421-426.
- Feknous, N., & Boumendjel, M. (2022). Natural bioactive compounds of honey and their antimicrobial activity. *Czech Journal of Food Sciences*, 40(3), 163-178.
- Fernandes L., Ribeiro H., Oliveira A., Sanches Silva A., Freitas A., Henriques M., Rodrigues M.E. (2020): Portuguese honeys as antimicrobial agents against *Candida* species. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, 11: 130-136
- Fizazi, I., & Zeddami, F. Z. (2018). Etude de l'effet antibactérien du miel sur des souches d'origine hospitalière (Mémoire de master, Université de Belhadj Bouchaib, Aïn-Témouchent).
- Fuente, E., Ruiz-Matute, A. I., Valencia-Barrera, R. M., Sanz, J., & Castro, I. M. (2011). Carbohydrate composition of Spanish unifloral honeys. *Food Chemistry*, 129, 1483–1489.
- Fuentefria, A. M., Pippi, B., Dalla Lana, D. F., Donato, K. K., & de Andrade, S. F. (2018). Antifungals discovery: An insight into new strategies to combat antifungal resistance. *Letters in Applied Microbiology*. 12820
- Glasset, B., Herbin, S., Granier, S. A., Cavalié, L., Lafeuille, E., Guérin, C., ... & Ramarao, N. (2018). *Bacillus cereus*, a serious cause of nosocomial infections : Epidemiologic and genetic survey. *PloS one*, 13(5), e0194346.
- Goetz P. (2009): Honey as a local disinfectant and wound healing treatment (Le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies). *Phytothérapie*, 7: 91-93. (in French).
- Guiraud, J. P. (2003). *Microbiologie alimentaire*, édition DUNOD, Tec et Doc Lavoisier, Paris. 652p. In Thèse de Doctorat en Sciences Contribution à l'étude pour la caractérisation du fromage traditionnel « Bouhezza » au lait de chèvre Présentée par HACENE MEDJOUJ, 10(04), 2018.
- Gülçin, İ., Küfrevioğlu, Ö., Oktay, . M. & Büyükokuroğlu, . M., 2004. Antioxidant, antimicrobial ,antiucler and analgesic activities of nettle (*Urtica dioica* L.). *Journal of Ethnopharmacologie*, 90(2\_3), pp. 205-215.
- Gulfraz, M., Iftikhar, F., Imran, M., Zeenat, A., Asif, S., & Shah, I. (2011). Compositional analysis and antimicrobial activity of various honey types of Pakistan. *International Journal of Food Science and Technology*, 46, 263-267
- Haderbache L., Annou S., Mohammedi A. (2020): Antimicrobial potential of Ziziphus and Euphorbia honeys harvested in semi-arid region of Algeria and their possible use in soft medicine. *Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 9: 1114-1118
- Hamitouche, D., & Landri, M. (2020). Miel: Propriétés, composition et qualité. Mémoire de master. Université Mouloud Mammeri, Tizi-Ouzou, 79p.
- Harmouzi, A., el Ammari, Y., Boughdad, A. & CHAOUCH, A., 19-21 Mai 2016. Composition chimique et toxicité des huiles essentielles de *Tetraclinis*. Rabat – Maroc, Edition du Congrès International « Substances Naturelles et Développement Durable ».



- Hermosín, I., Chicón, R. M., & Cabezudo, M. D. (2003). Free amino acid composition and botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 83, 263–268
- Homrani, M., Escuredo, O., Rodríguez-Flores, M. S., Fatiha, D., Mohammed, B., Homrani, A., & Seijo, M. C. (2020). Botanical Origin, Pollen Profile, and Physicochemical Properties of Algerian Honey from Different Bioclimatic Areas. *Foods*, 9(7), 938
- Hosny I., El-Ghani S.A., Nadir A.S. (2009): Nutrient composition and microbiological quality of three unifloral honeys with emphasis on processing of honey probiotic youghurt. *Global Veterinaria*, 3: 107-112
- Iglesias, M. T., Martian-Alvarez, P. J., Polo, M. C., Lorenzo, C., Gonzalez, M., & Pueyo, E. N. (2006). Changes in the free amino acid contents of honeys during storage at ambient temperature. *Journal Agricultural and Food Chemistry*, 54, 9099–9104.
- Ilyasov R.A., Gaifullina L.R., Saltykova E.S., Poskryakov A.V., Nikolenko A.G. (2012): Review of the expression of anti-microbial peptide defensin in honey bees *Apis mellifera* L.. *Journal of Apicultural Science*, 56: 115-124.
- Irish J., Blair S., Carter D.A. (2011): The antibacterial activity of honey derived from Australian flora. *PLoS One*, 6: e18229
- Kabiche, H., & Zerrouki, L. (2022). Evaluation des caractéristiques physico-chimiques, antioxydante et antibactériennes de deux miels algériens de différentes origines (botaniques, florales) (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Kamal, M. A., & Klein, P. (2011). Determination of sugars in honey by liquid chromatography. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 18, 17–21.
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G. (2014). Characterisation and classification of Greek pine honeys according to their geographical origin based on volatiles, physicochemical parameters and chemometrics. *Food Chemistry*, 146, 548–557.
- Karabagias, I. K., Badeka, A., Kontakos, S., Karabournioti, S., & Kontominas, M. G.
- Küçük M., Kolayli S., Karaoğlu Ş., Ulusoy E., Baltacı C., Candan F. (2007): Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100: 526-536.
- Kurek-Górecka A., Górecki M., Rzepecka-Stojko A., Balwierz R., Stojko J. (2020): Bee products in dermatology and skin care. *Molecules*, 25: 556.
- Kwakman, P. H. S., Van den Akker, J. P. C., Güçlü, A., Aslami, H., Binnekade, J. M., de Boer, L., Boszhard, L., Paulus, F., Middelhoek, P., te Velde, A. A., Vandenbroucke-Grauls, C. M. J. E., Schultz, M. J., & Zaat, S. A. J. (2008). Medical-grade honey kills antibiotic-resistant bacteria in vitro and eradicates skin colonization. *Clinical Infectious Diseases*, 46\*(11), 1677–1682.
- Lashani, E., Davoodabadi, A., Dallal, M. M. S. (2020). Some probiotic properties of *Lactobacillus* species isolated from honey and their antimicrobial activity against foodborne pathogens. In *Veterinary research forum* (Vol. 11, No. 2, p. 121). Faculty of Veterinary Medicine, Urmia University, Urmia, Iran.
- León-Ruiz, V., Vera, S., González-Porto, A. V., & Andrés, M. P. S. (2013). Analysis of water-soluble vitamins in honey by isocratic RP-HPLC. *Food Analytical Methods*, 6, 488–496.





- Lorrot, M., Bourrat, E., Doit, C., Prot-Labarthe, S., Dauger, S., Faye, A., ... & Bonacorsi, S. (2014). Infections superficielles de la peau et dermo-hypodermes bactériennes. *Archives de Pédiatrie*, 21(8), 906-912.
- Louveaux, J., & Douault, C. (1968). Les perspectives de l'apiculture française: Compte rendu d'une journée d'études. Bures-sur-Yvette, le 10 janvier 1968. *Annales De L'Abeille*, 11(3), 151-227.
- Maddocks, S. E., & Jenkins, R. E. (2013). Honey: a sweet solution to the growing problem of antimicrobial resistance?. *Future microbiology*, 8(11), 1419-1429.
- Madejczyk, M., & Baralkiewicz, D. (2008). Characterization of Polish rape and honeydew honey according to their mineral contents using ICP-MS and F-AAS/AES. *Analytica Chimica Acta*, 617, 11-17.
- Majtan J, Kaludiny J, Bohova J, Kohutova L, Dzurova M, Sediva M, Bartosova M, Majtan V (2012). Methylglyoxal-induced modifications of significant Honeybee proteinous components in manuka Honey: possible therapeutics implications. *Fitoterapia* 83:671-677.
- Majtan J., Bohova J., Horniackova M., Kludiny J., Majtan V. (2014): Anti-biofilm effects of honey against wound pathogens *Proteus mirabilis* and *Enterobacter cloacae*. *Phytotherapy Research*, 28: 69-75.
- Mandal M.D., Mandal S. (2011): Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedecine*, 1: 154-60
- Manyi-Loh, C. E., Clarke, A. M., & Ndip, R. N. (2011). An overview of honey: Therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. *African Journal of Microbiology Research*, 5(8), 844-852.
- Manzanares, A. B., García, H., Galdón, B. R., Rodríguez, E. R., & Romero, C. D. (2014). Physicochemical characteristics of minor monofloral honeys from Tenerife, Spain. *Food Science and Technology*, 55, 572-578
- Mathur, R., Oh, H., Zhang, D., Park, S., Seo, J., Koblansky, A., ... & Ghosh, S. (2012). A mouse model of *Salmonella Typhi* infection. *Cell*, 151(3), 590-602.
- Mato, I. S., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J. S., & Sancho, M. T. (2006). Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54, 1541-1550.
- Mavric, E., Wittmann S, Barth G, Henle T (2008). Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol. Nutr. Food Res.* 52:483-489.
- McBride, S. M., Fischetti, V. A., LeBlanc, D. J., Moellering, R. C. Jr., & Gilmore, M. S. (2007). Genetic diversity among *Enterococcus faecalis*. *PLOS ONE*, 2(7), e582.
- Mohammed S.E.A., Kabbashi A.S., Koko W.S., Rana R.M., Adgaba N., Ghamdi A.A. (2017): In vitro activity of some natural honeys against *Entamoeba histolytica* and *Giardia lamblia* trophozoites. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 26: 238-243.
- Molan, P. (2001). Why honey is effective as a medicine: 2. The scientific explanation of its effects. *Bee World*, 82(1), 22-40.
- Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey: 1. The nature of the antibacterial activity. *Bee world*, 73(1), 5-28.
- Molan, P. C. (2006). The evidence supporting the use of honey as a wound dressing. *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 5(1), 40-54.



- Moussa D., Nouredine H.S., Mohamed M., Abdelmelek, Saad A. (2012): Antibacterial activity of various honey types of Algeria against *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus pyogenes*. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 5: 773-776.
- Neveling, D. P., Endo, A., Dicks, L. M. (2012). Fructophilic *Lactobacillus kunkeei* and *Lactobacillus brevis* isolated from fresh flowers, bees and bee-hives. *Current microbiology*, 65, 507-515.
- Nozal, M. J., Bernal, J. L., Gómez, L. A., Higes, M., & Meana, A. (2003). Determination of oxalic acid and other organic acids in honey and in some anatomic structures of bees. *Apidologie*, 34, 181–188
- Obaseiki-Ebor E.E., Afonya T.C.A. (1984): In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate (HY-1) compared with that of some antimycotic agents. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 36: 283-284.
- Olaitan P.B., Adeleke O.E., Ola I.O. (2007): Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7: 159-165.
- Olaitan, P. B., Adeleke, O. E., & Ola, I. O. (2007). Honey: A reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*, 7(3), 159–165.
- Olofsson, T. C., Butler, È., Markowicz, P., Lindholm, C., Larsson, L., Vásquez, A. (2016). Lactic acid bacterial symbionts in honeybees—an unknown key to honey’s antimicrobial and therapeutic activities. *International Wound Journal*, 13(5), 668-679.
- Ouadah, N., Kaddouri, A., & Otsmane, H. (2022). Etude comparative in vitro entre les traitements alternatifs et les traitements conventionnels vis-à-vis d'E. coli responsable d’infection urinaire chez l’homme.
- Ouadjnia A., Mebkhout.A., (2022). Etude physico-chimique et activités antibactériennes et antioxydantes de quelques miels monofloraux algériens., Mem. Master en Sciences biologiques. Université Ibn Khaldoun, Tiaret
- Prestinaci, F., Pezzotti, P., & Pantosti, A. (2015). Antimicrobial resistance: A global multifaceted phenomenon. *Pathogens and Global Health*, 109(7), 309–318.
- Prost P.J. et Le Conte Y. 2005. 7ème édition. Page : 380-382-385-388. *Apiculture, connaître l’abeille, conduire le rucher*. Lavoisier, France.
- PubChem (2022): Human Defensin NP1 (Compound). PubChem, National Institutes of Health (NIH).
- Pyrzynska, K., & Biesaga, M. (2009). Analysis of phenolic acids and flavonoids in honey. *Trends in Analytical Chemistry*, 28, 893–902.
- Rabie E., Serem J.C., Oberholzer H.M., Gaspar A.R.M., Bester M.J. (2016): How methylglyoxal kills bacteria: An ultrastructural study. *Ultrastructural Pathology*, 40: 107-111.
- Radovic, B. S., Careri, M., Mangia, A., Musci, M., Gerboles, M., & Anklam, E. (2001). Contribution of dynamic headspace GC–MS analysis of aroma compounds to authenticity testing of honey. *Food Chemistry*, 72, 511–520.
- Rafael V., Flavia Z., Gloria M., Ady G. (2021): Bioactive compounds in *Apis mellifera* monofloral honeys. *Journal of Food Science*, 86: 1552-1582.
- rish J., Carter D.A., Shokohi T., Blair S.E. (2006): Honey has an antifungal effect against *Candida* species. *Medical Mycology* May, 44: 289-291
- Ruttner F., (1988) *Biogeography and taxonomy of honey bees*. Ed. Springer, Berlin, 284p.



- Ruttner R., Tassencourt L. and Louveaux J., (1978) - Biometrical-statistical analysis of the geographic variability of *Apis mellifera*. *Apidologie*, 9 (4) : 363-381
- Sak-Bosnar, M., & Sakac, N. (2012). Direct potentiometric determination of diastase activity in honey. *Food Chemistry*, 135, 827–831.
- Sampath Kumar K.P., Bhowmik D., Chiranjib B., Chandira M.R. (2010): Medicinal uses and health benefits of honey: An overview. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 2: 385-395.
- Schlech III, W. F. (2019). Epidemiology and clinical manifestations of *Listeria monocytogenes* infection. *Microbiology Spectrum*, 7(3), 10-1128.
- Sindi, A., Chawn, M. V. B., Hernandez, M. E., Howes, T., & Steeper, R. (2019). Antibiofilm effects and characterisation of the hydrogen peroxide activity of a range of Western Australian honeys compared to Manuka and multifloral honeys. *Scientific Reports*, 9\*(1), 17666.
- Siu, L. K., Yeh, K., Lin, J., Fung, C., & Chang, F. Y. (2012). *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: A new invasive syndrome. *The Lancet Infectious Diseases*, 12(11), 881–887.
- Smaili, I., & Mimoun, L. (2022). Evaluation de l'activité antibactérienne de certains extraits végétaux et du miel sur *E. coli* et *S. aureus* (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).
- Snowdon, J. A., & Cliver, D. O. (1996). Microorganisms in honey. *International journal of food microbiology*, 31(1-3), 1-26.
- Sojka M., Valachova I., Bucekova M., Majtan J. (2016): Antibiofilm efficacy of honey and bee-derived defensin-1 on multispecies wound biofilm. *Journal of Medical Microbiology*, 65 837-344
- Soroy L., Bagus S., Yongkie I.P., Djoko W. (2014): The effect of a unique propolis compound (Propoelix®) on clinical outcomes in patients with dengue hemorrhagic fever. *Infection and Drug Resistance*, 7: 323-329
- Suárez-Luque, S., Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J. Sancho, M. T. (2002). Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 955, 207–214.
- Suárez-Luque, S., Mato, I., Huidobro, J. F., Simal-Lozano, J., & Sancho, M. T. (2002). Rapid determination of minority organic acids in honey by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 955, 207–214.
- Syed Yaacob, S. N., Huyop, F., Kamarulzaman Raja Ibrahim, R., & Wahab, R. A. (2018). Identification of *Lactobacillus* spp, and *Fructobacillus* spp. isolated from fresh *Heterotrigona itama* honey and their antagonistic activities against clinical pathogenic bacteria. *Journal of Apicultural Research*, 57(3), 395-405.
- Trautvetter, S., Koelling-Speer, I., & Speer, K. (2009). Confirmation of phenolic acids and flavonoids in honeys by UPLC–MS. *Apidologie*, 40, 140–150.
- Udvary D.W., Gontang E.A., Jones A.C., Jones C.S., Schultz A.W., Winter J.M., Yang J.Y., Beauchemin N., Capson T.L., Clark B.R., Esquenazi E., Eustáquio A.S., Freel K., Gerwick L., Gerwick W.H., Gonzalez D., Liu W.T., Malloy K.L., Maloney K.N., Nett M., Nunnery J.K., Penn K., Prieto-Davo A., Simmons T.L., Weitz S., Wilson M.C., Tisa L.S., Dorrestein P.C., Moore B.S. (2011): Significant natural product biosynthetic potential of actinorhizal symbionts of the genus *Frankia*, as revealed by comparative genomic and proteomic analyses. *Applied and Environmental Microbiology*, 77 : 3617-3625.



## Références

---

- Vásquez A. Forsgren E. Fries I. Paxton R.J., Flaberg E., Székely L., Olofsson T.C (2012) : Symbionts as major modulators of insect health : Lactic acid bacteria and honeybees. PLoS One. 7-33188.
- Wadi, M. A. (2022). In vitro antibacterial activity of different honey samples against clinical isolates. BioMed Research International, 2022, 1–8.
- Wahdan, H. A. L. (1998). Causes of the antimicrobial activity of honey. Infection, 26, 26-31.
- Watanabe K., Rahmasari R., Matsunaga A., Haruyama T., Kobayashi N. (2014): Anti-influenza viral effects of honey in vitro: Potent high activity of Manuka honey. Archives of Medical Research, 45 : 359-365
- Weston, R. The contribution of catalase and other natural products to the antibacterial activity of honey : A review. Food Chem. 2000, 71, 235–239.
- Yang, S. C., Lin, C. H., Aljuffali, I. A., & Fang, J. Y. (2017). Current pathogenic *Escherichia coli* foodborne outbreak cases and therapy development. Archives of Microbiology, 199(6), 811–825
- Yücel, Y., & Sultanoglu, P. (2013). Characterization of honeys from Hatay region by their physicochemical properties combined with chemometrics. Food Bioscience, 1, 16–25.

# Annexes

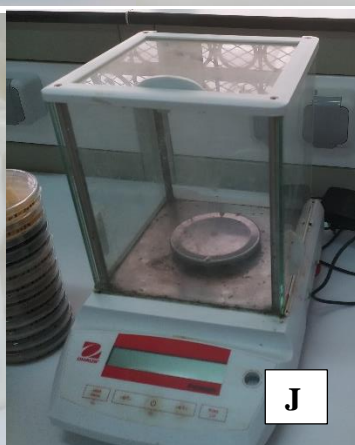
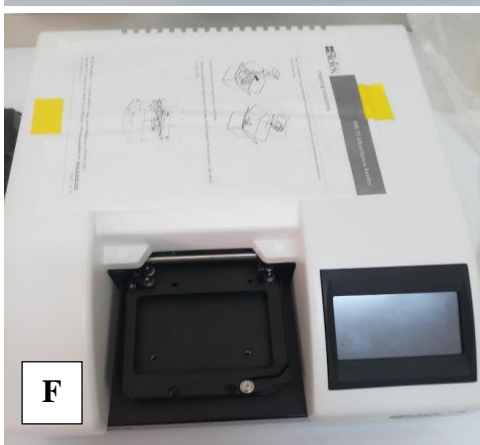
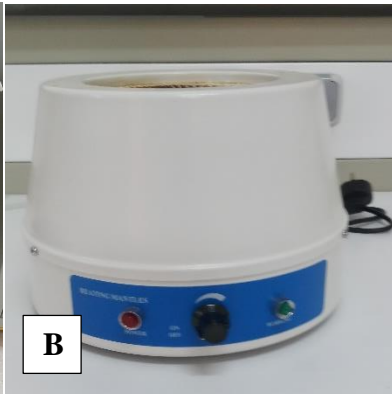




## Annexes

### Annexe 01 : Appareillage et matériel

#### ❖ Appareillage



A : Autoclave

B : Manteau chauffant électrique

C : Agitateur vortex

D : pH mètre

E : Microscope optique

F : Lecture de microplaque

J : Balance précise

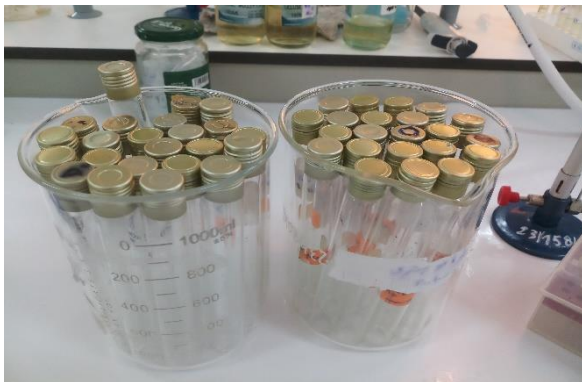
H : Agitateur chauffant

I : Incubateur à 37°C

G : Incubateur à 30°C

K : Conteur de colonies bactériennes

## ❖ Matériels



Tubes fermé



Filtre

## Annexe 02 : Milieu du culture et bouillon

### ❖ Milieu de Muller Hinton

Pour préparer 1 litre, (placer 38 g dans 1 litre d'eau distillée).

- Extrait de viande.....2g
- Amidon.....1.5g
- Hydrolysate acide fasciné..17.5g
- Agar.....17g

Ph=7.4

### ❖ Bouillon de Muller Hinton

Mêmes ingrédients sans ajout d'agar

### ❖ Milieu de Yeats extract peptone agar (YEPG)

Pour préparer 1L

- Extrait de levure.....10g
- Glucose... ..20g
- Peptone caséine.....10g
- Agar .....20g

Ph=5

### ❖ Bouillon DE YEPG :

Mêmes ingrédients sans ajout d'agar

### ❖ Milieu de gélose nutritive (GN)

Pour préparer 1L (Pour préparer 1 litre, placer 23 g dans 1 litre d'eau distillée)

- Peptone caséine .....5g
- Extrait de viande.....3g
- Glucose.....2.5g
- Agar.....15g

Ph=7.2

### ❖ Bouillon de GN

Mêmes ingrédients sans ajout d'agar

### ❖ Milieu de Man Regosa Sharpe(MRS)

- Peptides caséine.....10g
- Extrait de viande.....10g
- Extrait de levure.....5g
- Glucose.....5g
- Polysorbate 80.....1g
- Citrate d'ammonium.....2g
- Acétate de sodium.....5g
- Sulfate de magnésium.....0.10g
- Sulfate de magnèse.....0.05g
- Phosphate disodique .....2g
- Agar.....15g

Ph=6.5

### ❖ Bouillon de MRS

Mêmes ingrédients sans ajout d'agar

### ❖ Milieu de gélose nutritive (GN)

Pour préparer 1L (Pour préparer 1 litre, placer 23 g dans 1 litre d'eau distillée)

- Peptone caséine .....5g
- Extrait de viande.....3g
- Glucose.....2.5g
- Agar.....15g

Ph=7.2

### ❖ Bouillon de GN

Mêmes ingrédients sans ajout d'agar



### Annexe 03 : Chloramphénicol, Cycloheximide, Catalase

❖ Chloramphénicol

- Poudre Chloramphénicol...10mg
- Ethanol.....100ml

❖ Solution de catalase de concentration (5600unités/ml)

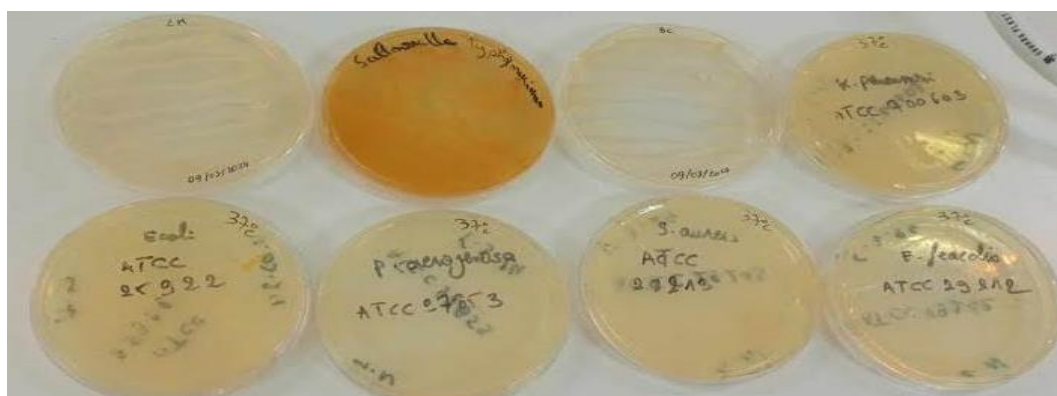
- Poudre de catalase .....224mg
- Eau distillée.....200ml

❖ Cycloheximide

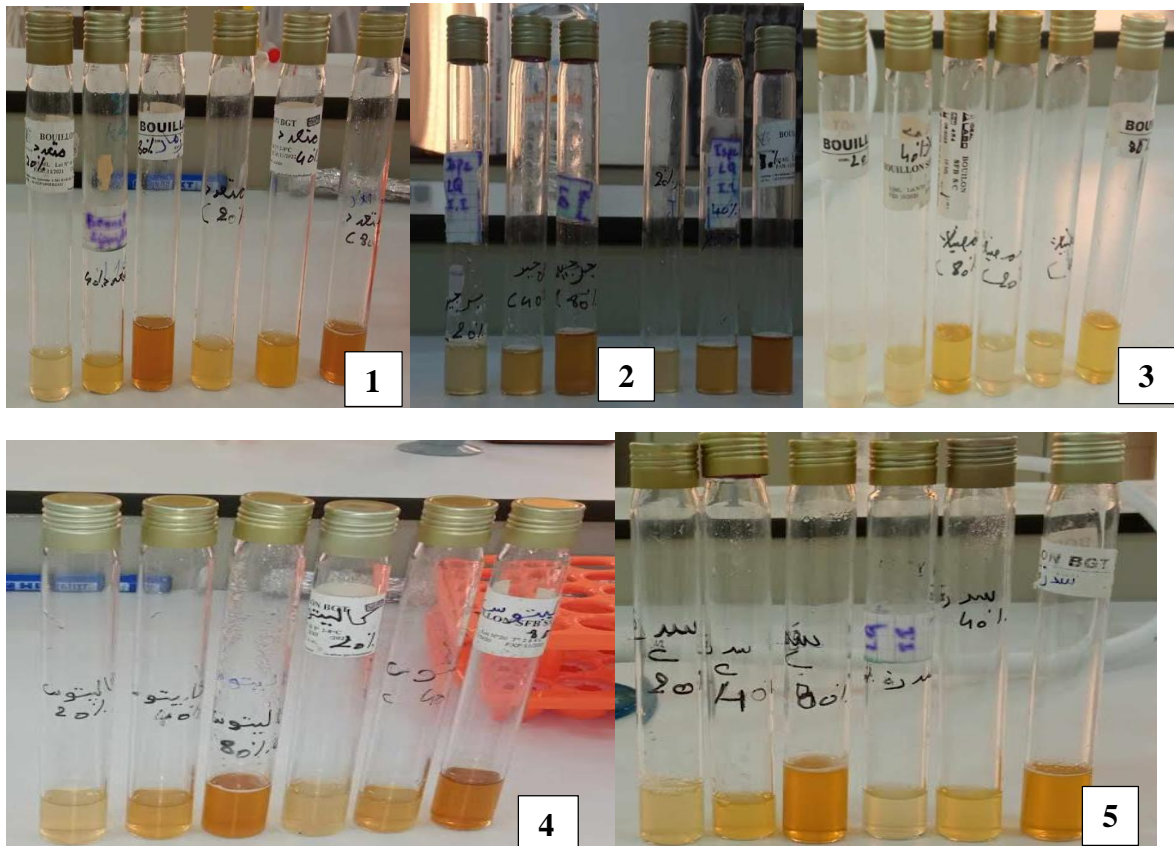
- Poudre de Cycloheximide.....20mg
- Eau distillée.....100ml

### Annexe 04 : Dilutions

❖ Les souches bactériennes



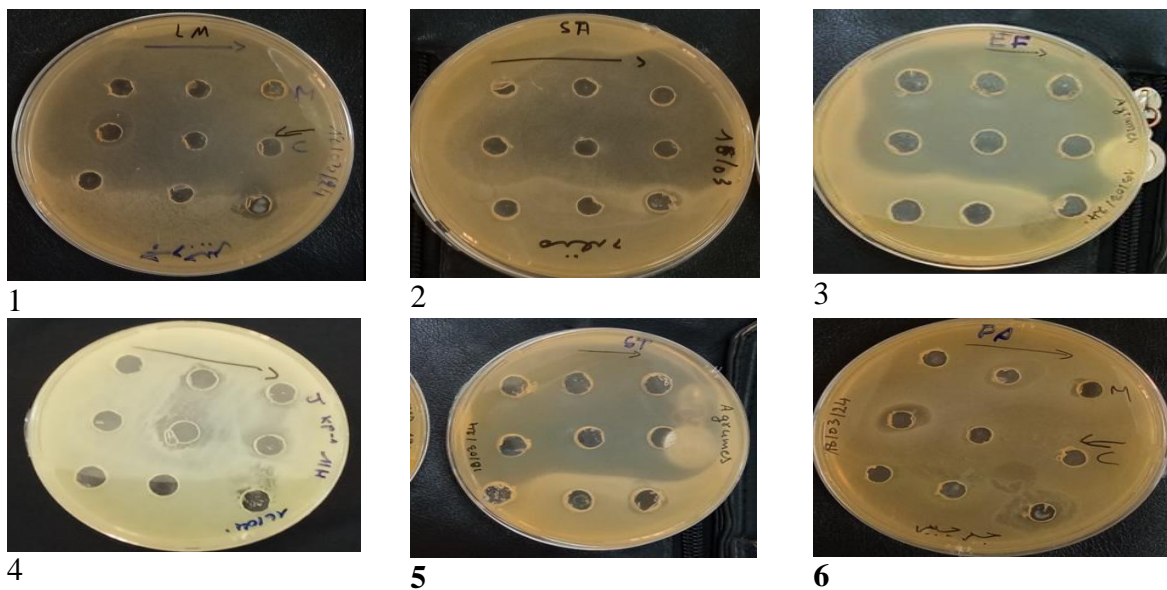
❖ Les dilutions des échantillons

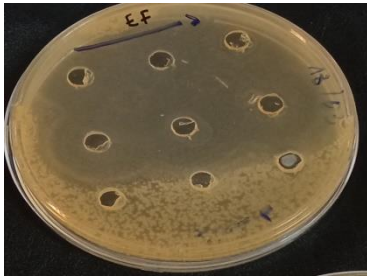


1 : Multi fleurs, 2 : Cresson, 3 : Agrumes, 4 : Eucalyptus, 5 : Sedra

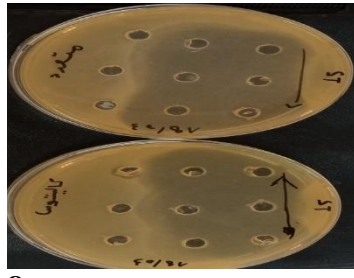
Annexe 05 : Les résultats

❖ Les résultats de méthode de diffusion par puits sur gélose





7



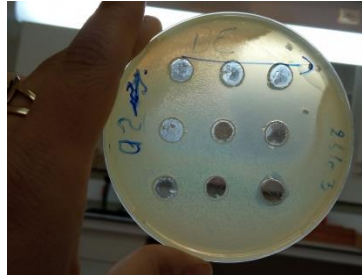
8



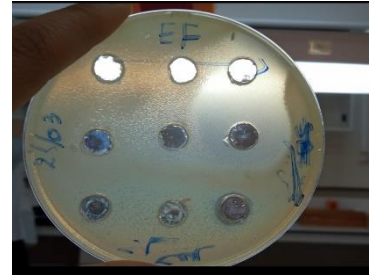
9



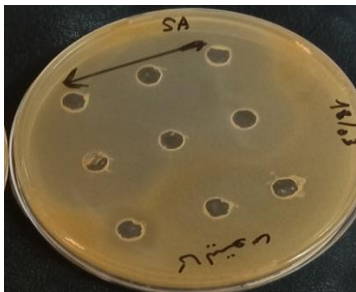
10



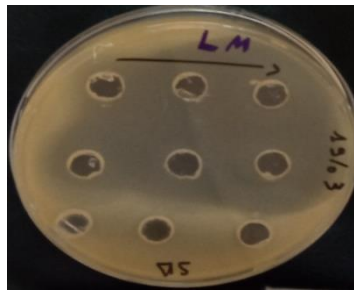
11



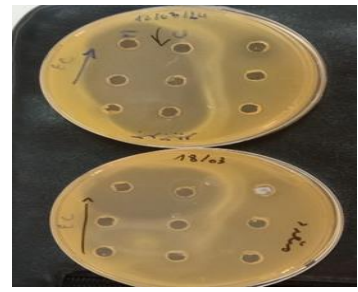
12



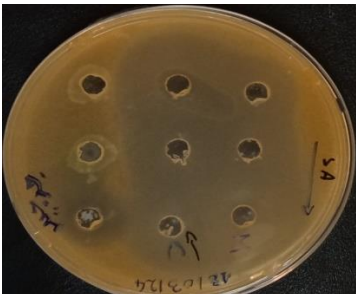
13



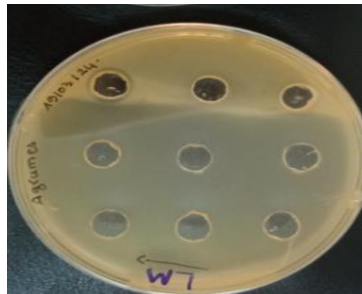
14



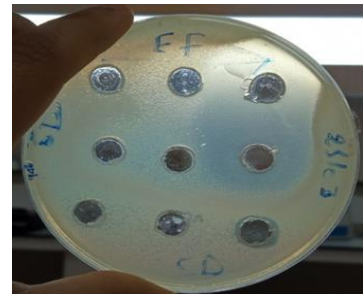
15



16



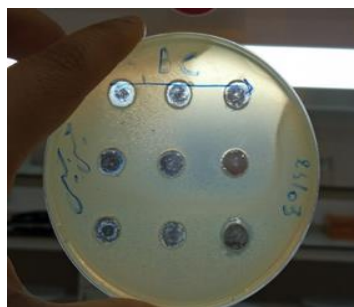
17



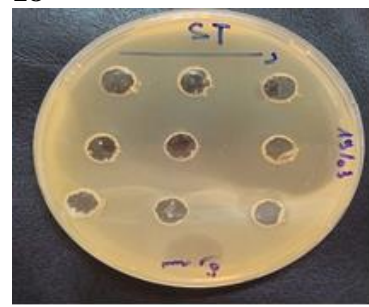
18



19



20



21

- |  |  |
|--|--|
| 1 : Cresson + <i>Listeria monocytogenes</i>      | 12 : Cresson + <i>Enterococcus faecalis</i>    |
| 2 : Multi fleurs + <i>Staphylococcus aureus</i>  | 13 : Eucalyptus + <i>Staphylococcus aureus</i> |
| 3 : Agrumes + <i>Enterococcus faecalis</i>       | 14 : Sedra + <i>Listeria monocytogenes</i>     |
| 4 : Cresson + <i>Klebsiella pneumoniae</i>       | 15 : Cresson + <i>Escherichia coli</i>         |
| 5 : Agrumes + <i>Salmonella typhimurium</i>      | Multi fleurs + <i>Escherichia coli</i>         |
| 6 : Cresson + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>      | 16 : Cresson + <i>Staphylococcus aureus</i>    |
| 7 : Multi fleurs + <i>Enterococcus faecalis</i>  | 17 : Agrumes + <i>Listeria monocytogenes</i>   |
| 8 : Multi fleurs + <i>Salmonella typhimurium</i> | 18 : Sedra + <i>Enterococcus faecalis</i>      |
| Eucalyptus + <i>Salmonella typhimurium</i>       | 19 : Sedra + <i>Escherichia coli</i>           |
| 9 : Agrumes + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>      | 20 : Cresson + <i>Bacillus cereus</i>          |
| 10 : Agrumes + <i>Staphylococcus aureus</i>      | 21 : Sedra + <i>Salmonella typhimurium</i>     |
| 11 : Sedra + <i>Bacillus cereus</i>              |  |

## ❖ Les résultats de micro-dilution

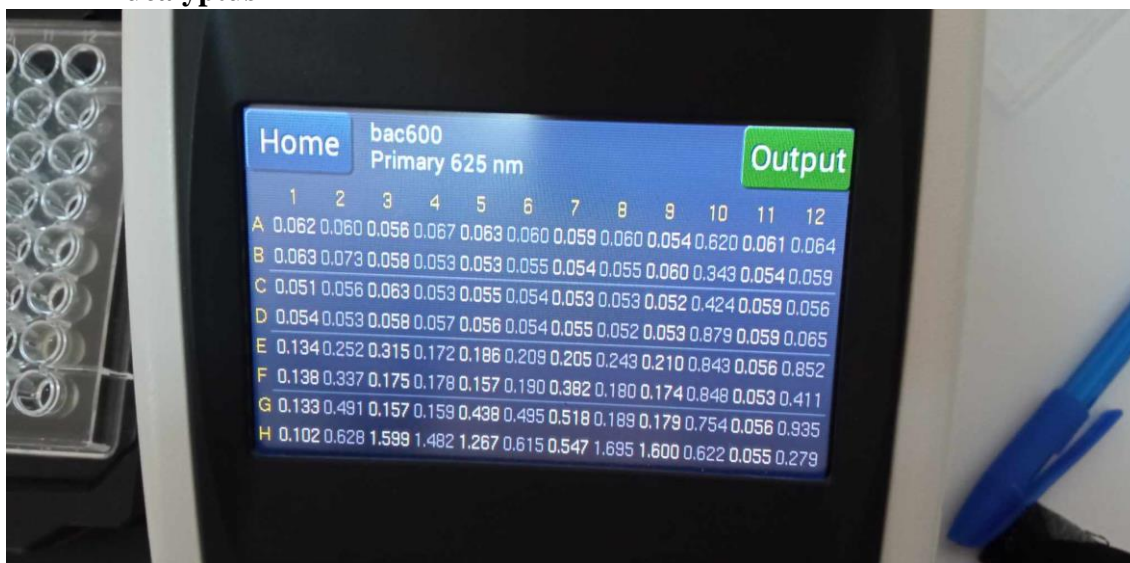
- Cresson et Sedra

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	0.133	0.172	0.222	0.173	0.170	0.209	0.174	0.164	0.160	0.075	0.057	0.064
B	0.118	0.169	0.186	0.193	0.182	0.179	0.177	0.178	0.176	0.668	0.051	0.062
C	0.134	0.172	0.171	0.174	0.163	0.173	0.168	0.178	0.191	0.159	0.051	0.053
D	0.132	0.143	0.158	0.162	0.163	0.174	0.175	0.175	0.237	0.597	0.060	0.064
E	0.099	0.118	0.131	0.126	0.130	0.138	0.141	0.131	0.142	0.928	0.056	0.059
F	0.073	0.104	0.091	0.091	0.099	0.104	0.097	0.098	0.100	0.622	0.052	0.059
G	0.073	0.101	0.098	0.094	0.096	0.102	0.087	0.094	0.102	0.793	0.053	0.055
H	0.072	0.088	0.098	0.096	0.098	0.090	0.095	0.096	0.098	0.628	0.088	0.056

• Agrumes et Multi fleurs



• Eucalyptus




❖ Dénombrement

	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-1</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-2</sup>	10 <sup>-3</sup>	10 <sup>-3</sup>
<b>Cresson (<i>Eruca sativa</i>)</b>	16	7	4	15	8	51
<b>Sedra (<i>ziziphus lotus</i>)</b>	84	94	70	39	87	95
<b>Eucalyptus (<i>Eucalyptus Globulus</i>)</b>	89	106	120	65	74	78
<b>Multifleurs</b>	19	37	79	15	75	66
<b>Agrumes</b>	37	55	44	51	81	28

Ghardaïa le : 01/07/2024

**Rapport : Correction du mémoire**

Enseignant (e) (s) Chargé (e) de la correction :

Nom et prénom l'examineur 1 et Signature	Nom et prénom de l'examineur 2 et Signature	Nom et prénom du président de Jury et Signature
<p><b>BAKLI Mahfoud</b></p> 		

**Thème :**

**Evaluation du pouvoir antimicrobien et de la qualité microbiologique  
(bactéries lactiques) de quelques types de miels naturels récoltés dans  
plusieurs régions d'Algérie**

Après les corrections apportées au mémoire, L (es)'étudiant (s) (es) :

**TERBAGOU Bochra Naouia et Hacini woroud**

Est (sont) autorisé (es) à déposer le manuscrit au niveau du département.

**Président du Jury**