



Institut des Sciences
Vétérinaires- Blida

Université Saad
Dahlab-Blida 1-



Projet de fin d'études en vue de l'obtention du
Diplôme de Docteur Vétérinaire

**Effet antimicrobien de quelques miels in vitro sur les germes
pathogènes de mammites bovines**

Présenté par
MAGHMOULI Assala
ISSAD Ryad Farouk

Devant le jury :

Président(e) :	YAHIMI Abdelkrim	MCB	ISVB
Examineur :	DJELLATA Nadia	MAA	ISVB
Promoteur :	KAIDI Rachid	Professeur	ISVB
Co-promotrice :	KABLI Nabila	Attachée de Recherche	INRAA

Année : 2019-2020

Remerciements

Toute la gratitude va à Allah qui nous a guidés à acquérir le savoir et la science.

Au terme de ce travail, qu'il nous soit de remercier tous ceux et celles qui de près ou de loin ont contribué à sa réalisation.

Nos remerciements s'adressent particulièrement au Professeur KAIDI RACHID, notre responsable de projet qui malgré ses nombreuses activités, nous a toujours réservé un accueil chaleureux, en nous donnant l'avantage de bénéficier de son esprit élevé de compréhension et d'analyse, de ses conseils et de son encouragement. Qu'il soit assuré de notre gratitude et qu'il sache le réel plaisir que nous avons pris à travailler à ses côtés.

Ainsi, que notre Co-promotrice Madame KABLI NABILA, Chercheur à l'Institut National de la Recherche Agronomique d'Algérie (INRAA), elle a été pour nous, un guide très précieux tout au long de la réalisation de ce travail. Nous l'assurons de notre profonde estime et de notre reconnaissance.

Un grand hommage à nos parents pour leur soutien moral et matériel durant tout notre cursus universitaire.

Merci





Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à mes chères parents, ma chère sœur, ma famille, mes enseignants, mes amis et à tous ceux qui ont fait de mon cursus un moment très profitable...

Qu'Allah nous préserve et nous guide.

Assala





Dédicaces

Je tiens à exprimer toute ma reconnaissance à mon directeur de mémoire, Monsieur Rachid Kaidi et ma co-promotrice Mademoiselle Nabila Kabli. Je les remercie de m'avoir encadré, orienté, aidé et conseillé.

J'adresse mes sincères remerciements à tous les professeurs, intervenants et toutes les personnes qui par leurs paroles, leurs écrits, leurs conseils et leurs critiques m'ont guidé tout au long de ma scolarité.

Je remercie mes très chers parents, qui ont toujours été là pour moi. Je remercie mes frère, sœur et belle-sœur, pour leurs encouragements.

Je remercie tous mes amis qui ont toujours été là pour moi. Leur soutien inconditionnel et leurs encouragements ont été d'une grande aide.

Enfin, je remercie la personne exceptionnelle Madame K. Zerrouki qui m'a aidé à choisir ma voie et réaliser mon rêve

À tous ces intervenants, je présente mes remerciements, mon respect et ma gratitude.

Ryad



Résumé

L'objectif de ce travail est l'étude de l'effet antimicrobien et thérapeutique de quelques miels et de déterminer lequel de ces types de miel a un pouvoir inhibiteur sur la croissance des germes pathogènes des mammites des vaches laitières.

Nous avons effectués des analyses physico-chimiques selon les méthodes de l'International Honey Commission et polliniques selon la méthode de Von Der Ohe au laboratoire pour six échantillons de miel de différentes régions d'Algérie à savoir : Djelfa, Boussada, Bejaia, Azeffoun, Tizi Ouzou.

Les 06 échantillons de miels analysés répondaient aux normes internationale établie par le *Codex Alimentarius* (2001) ce sont des miels de bonne qualité physico chimiques par leurs humidités (15-22%), conductivité électrique(220-850 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), pH (3.81-5.7) , acidité libre(12.5-47 meq/kg) et leurs HMF(5.1-17.5 mg/kg), et leurs analyse polliniques a permis l'identification de différents familles botaniques, et a permis aussi de confirmé leurs origines botanique présumées.

Evidemment d'après les résultats et les études consacrées à ce thème on trouve que le miel a un effet inhibiteur contre les espèces bactériennes responsables des mammites bovines.

Mots clés: Mammites, germe, vache laitière, miel, analyse physicochimie, analyse pollinique, activités antimicrobienne.

م ملخص

الهدف من هذا العمل هو دراسة التأثير المضاد للميكروبات والعلاجي لبعض أنواع العسل وتحديد أي من هذه الأنواع له قوة تثبيط على نمو الجراثيم الممرضة لالتهاب الضرع في الأبقار الحلوب.

أجرينا التحاليل الفيزيائية والكيميائية وفق أساليب الهيئة الدولية للعسل وحبوب اللقاح وفق طريقة فون دير أوه في المخبر لستة عينات من العسل من مناطق مختلفة من الجزائر وهي: الجلفة ، بوسعادة ، بجاية ، أزفون ، تيزي وزو.

استوفت عينات العسل الستة التي تم تحليلها المعايير الدولية التي وضعها الدستور الغذائي (2001)، وهو عسل ذو صفات فيزيائية وكيميائية جيدة من حيث الرطوبة (15-22%)، التوصيل الكهربائي (220-850)، درجة الحموضة (3.81-5.7)، الحموضة الحرة (12.5-47) وهمف (5.1-17.5)، وقد سمح تحليل حبوب اللقاح تحديد العائلات النباتية المختلفة، وتأكيد اصولها النباتية المفترضة.

من الواضح ، وفقاً للنتائج والدراسات المخصصة لهذا الموضوع ، أن العسل له تأثير مثبط ضد الأنواع البكتيرية المسؤولة عن التهاب الضرع البقري.

الكلمات المفتاحية: التهاب الضرع ، الجرثومة، البقرة الحلوب، العسل، التحليل الفيزيائي الكيميائي، تحليل حبوب اللقاح، الانشطة المضادة للميكروبات.

Abstract

The aim of this work is to study the antimicrobial and therapeutic effect of some honeys and to determine which of these types of honey has an inhibitory power on the growth of pathogenic germs of mastitis in dairy cows.

We carried out physico-chemical analyses according to the methods of the International Honey Commission and pollen analysis according to the method of Von Der Ohe in the laboratory for six samples of honey from different regions of Algeria namely: Djelfa, Boussada, Bejaia, Azeffoun, Tizi Ouzou.

The 06 samples of honeys analyzed met the international standards established by the Codex Alimentarius (2001) they are honeys of good physical and chemical qualities by their humidity (15-22%), electrical conductivity (220-850 $\mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$), pH (3.81-5.7), free acidity (12.5-47 meq/kg) and their HMF (5.1-17.5 mg/kg), and their pollen analysis allowed the identification of different botanical families, and also allowed to confirm their presumed botanical origins.

Evidently, according to the results and studies devoted to this topic, it is found that honey has an inhibitory effect against the bacterial species responsible for bovine mastitis.

Key words: Mastitis, germ, dairy cow, honey, physicochemical analysis, pollen analysis, antimicrobial activities.

Sommaire

Introduction.....	01
--------------------------	-----------

Partie bibliographique :

Chapitre I : GÉNÉRALITÉS SUR LES MAMMITES

1-Généralités.....	02
2-Types de mammites.....	02
2-1 Les mammites cliniques.....	02
2-1-1 Mammite suraiguë.....	03
2-1-1-1 La mammite paraplégique.....	03
2-1-1-2 La mammite gangréneuse.....	04
2-1-2 Mammite aiguë.....	04
2-1-3 Mammite chronique.....	05
2-2 Les mammites subcliniques.....	05
3-Etiologies.....	06
3-1 Le genre <i>Staphylococcus</i>	06
3-1-1 <i>Staphylococcus aureus</i>	06
3-1-2 Les staphylocoques à coagulase négative.....	07
3-2 Le genre <i>Streptococcus</i>	07
3-2-1 <i>Streptococcus agalactiae</i>	08
3-2-2 <i>Streptococcus uberis</i>	08
3-2-3 <i>Streptococcus dysgalatiae</i>	09
3-3 Les <i>Enterobacteriaceae</i>	09
3-3-1 <i>Escherichia coli</i>	10
3-3-2 <i>Klebsiella</i>	10
3-4 <i>Arcanobacterium pyogènes</i>	11
3-5 <i>Mycoplasma</i>	11
4-Diagnostic.....	12

4-1 Diagnostic clinique.....	12
4-2 Diagnostic expérimental.....	12
4-2-1 Comptage avec le fossomatic.....	13
4-2-2 Comptage avec le Coulter-Counter.....	13
4-2-3 Comptage par la méthode microscopique directe.....	13
4-2-4 Le « Californian Mastitis Test » (CMT).....	13
4-2-5 Diagnostic bactériologique.....	14
4-2-5-1 Indications du diagnostic bactériologique.....	14
4-2-5-2 Nature des prélèvements.....	15
4-2-5-3 Conservation des prélèvements.....	17
4-2-5-4 Méthode des prélèvements individuels.....	17
4-2-5-5 Analyse des prélèvements.....	19
4-2-5-6 Interprétation des résultats.....	19
5-Importance.....	19
5-1 Pertes de production.....	19
5-2 Impact économique.....	20
6-Traitement.....	20
Chapitre II : Apiculture et produits de la ruche	
1-Généralité sur l'apiculture.....	21
1-1 L'apiculture dans le monde.....	21
1-2 Apiculture en Algérie.....	21
2- Les autres produits de la ruche.....	22
2-1 Le pollen.....	22
2-2 La cire.....	23
2-3 La propolis.....	25
2-4 La gelée royale.....	25
2-5 Le venin.....	26
Chapitre III : Généralités sur le miel	
1-Définition du miel.....	28

2-Origine du miel.....	28
2-1 La source Nectar.....	28
2-2 La source miellat.....	29
3-Production du miel.....	30
4-Technologie du miel.....	30
4-1 Fabrication du miel par l'abeille.....	30
4-2 La récolte du miel.....	31
5-Les types de miels.....	32
5-1 Les miels mono floraux.....	32
5-2 Les miels poly floraux.....	32
6-Composition et propriétés du miel.....	32
6-1 Composition chimique.....	32
6-2 Propriétés physico-chimiques du miel.....	35
7-Propriétés du miel.....	38
7-1 Propriétés biologiques.....	38
7-2 Propriété anti-oxydante.....	38
7-3 Propriété antibactérienne.....	38
7-4 L'activité antifongique.....	39
8-Mécanisme d'action du miel contre l'infection.....	40
8-1 Facteurs responsables de l'activité antimicrobienne du miel.....	40
8-1-1 Facteurs physiques.....	40
8-1-2 Facteurs chimiques.....	41
8-2 La relation entre la source florale et l'activité antimicrobienne du miel.....	42

Partie expérimentale

Chapitre I : Matériel et méthodes

1-Objectif de travail	43
2-Matériel et méthodes	43
2-1 Matériel	44

2-1-1-Matériel non biologique	44
2-1-2-Matériel biologique : le miel	44
2-2-Méthodes	45
2-2-1-Analyses physico-chimiques.....	45
2-2-1-1-Teneur en eau	45
2-2-1-2-Acidité libre et pH	46
2-2-1-3-Conductivité électrique	46
2-2-1-4-Teneur en Hydroxymethylfurfural	47
2-2-2-L'analyse pollinique	49
Chapitre II : Résultats et discussions	
1-Résultats globaux des analyses physico-chimique de qualité.....	51
2-Analyses polliniques.....	55
2-1-Confirmation de l'origine florale.....	60
Chapitre III : effet thérapeutique et antimicrobien du miel.....	61
Conclusion.....	63
Annexe	
Références bibliographiques	

Liste des tables

Tableau 1 : Les types de mammites.....	02
Tableau 2 : Concentrations de différentes bactéries dans le tank à lait.....	16
Tableau 3 : Codification des échenillons étudiés.....	44
Tableau 4 : Préparation de l'échantillon et du blanc pour la mesure du HMF.....	48
Tableau 5 : Résultats des analyses physico chimique des miels étudiés.....	51
Tableau 6 : Classification du pollen en fonction de son pourcentage.....	55
Tableau 7 : Origine forale confirmée.....	60

Listes des figures

Figure 1 : Mammite colibacillaire : sécrétion modifiée.....	03
Figure 2 : Mammite gangréneuse.....	04
Figure 3 : Mammite aiguë.....	04
Figure 4 : Mammite chronique.....	05
Figure 5 : <i>Staphylococcus aureus</i> vu sous microscope électronique.....	06
Figure 6 : Staphylocoques à coagulase négative en mode culture.....	07
Figure 7 : <i>Streptococcus</i> vu sous microscope.....	07
Figure 8 : <i>Streptococcus agalactiae</i> vu sous microscope.....	08
Figure 9 : <i>Streptococcus uberis</i> vu sous microscope.....	08
Figure 10 : <i>Streptococcus dysgalatiae</i> vu sous microscope.....	09
Figure 11 : <i>Enterobacter spp</i> vu sous microscope	09
Figure 12 : <i>Escherichia coli</i> vu sous microscope électronique.....	10
Figure 13 : <i>Klebsiella</i> vu sous microscope électronique.....	10
Figure 14 : <i>Arcanobacterium pyogenes</i> vu sous microscope.....	11
Figure 15 : Mycoplasma vu sous microscope.....	11
Figure 16 : <i>Californian mastitis</i> Test effectué sur une cache malade	14
Figure 17 : Pelotes de pollen.....	23
Figure 18 : Cire d'abeille.....	24
Figure 19 : Différente couleurs et apparence récoltant la propolis.....	25
Figure 20 : Jeune larve dans sa cellule royale (artificielle) remplie de gelée royale.....	26
Figure 21 : Dard d'ouvrière - extrémité observée au microscope électronique à balayage.....	27
Figure 22 : Dard implanté dans une peau Humaine.....	26
Figure 23 : Exemples de nectaires Modifiés	29
Figure 24 : Producteurs de miellat blanc.....	29
Figure 25 : Les principaux organes de l'abeille.....	31
Figure 26 : Phénomène de trophallaxie.....	31

Figure 27 : Composition chimique du miel.....	33
Figure 28 : Refractomètre électrique.....	33
Figure 29 : Conductimètre.....	36
Figure 30 : pH-mètre.....	37
Figure 31 : Les principaux composants attribués à l'activité antimicrobienne du miel et leur mécanismes d'action.....	39
Figure 32 : Acquisition de composés antimicrobiens dans le miel.....	42
Figure 33 : Laboratoire d'Apiculture de la Division de Recherche en Production Animale de l'INRAA.....	43
Figure 34 : Echantillons de miel analysés.....	44
Figure 35 : Les différentes étapes du dosage de l'HMF.....	49
Figure 36 : Organisation de lame pour un examen microscopique représentatif.....	50
Figure 37 : Solution du miel après centrifugation (dépôt d'culot).....	50
Figure 38 : Observation des pollens au microscope optique.....	50
Figure 39 : Valeurs de la teneur en eau des échantillons de miel étudiés.....	51
Figure 40 : Valeurs de la conductivité électrique des échantillons de miel étudiés.....	52
Figure 41 : Valeurs de pH des échantillons de miel étudiés.....	53
Figure 42 : Valeurs de l'acidité libre des échantillons de miel étudiés.....	54
Figure 43 : Valeurs des taux d'HMF des échantillons analysés.....	54
Figure 44 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech1.....	55
Figure 45 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech2.....	56
Figure 46 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech3.....	57
Figure 47 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech4.....	58
Figure 48 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech5.....	59
Figure 49 : Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech6.....	59

Liste des abréviations

AGEs: advanced glycation end products

AMP: antimicrobial peptide

ATCC: American Type Culture Collection.

aw: Activité de l'eau.

CCI: comptage cellulaire individuel

CCSI: comptages cellulaires somatiques individuels

CE : conductivité électrique

CFU: colony-forming unit

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice.

CMT: Californian Mastitis Test

DN: Diastase Number.

Ech : échantillon

E. Coli : *Escherichia Coli.*

FAO: l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture

H: Humidité.

HMF : hydroxymethylfurfural

INRAA : Institute National De La Recherche Agronomique D'Algérie

ISO : International Organisation for Standardization.

ITELV : Institut Technique Des Elevages

JOF : Journal Officiel Français.

LMR : limite maximale de résidus

LPC: Laboratory Pasteurised Count

MGO: méthylglyoxal

NA: norme algérienne

SCC: Le nombre de cellules somatiques du lait

SCN: staphylocoques à coagulase négative

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

T : température

TBT: taux butyreux total

UV : ultra-violet

μS/cm : microsiemens/ centimètre.

pH : Potentiel d'Hydrogène.

kcal : Kilo calories.

g : gramme.

mg : milligramme.

Kg: kilogramme.

Méq : Milliéquivalent.

°C : Celsius.

Introduction

Le miel fut utilisé, consommé par l'Homme depuis les temps anciens. En effet, des peintures rupestres espagnoles décrivent déjà la récolte du miel sauvage : l'Homme primitif pillait les nids qu'il trouvait dans les troncs d'arbres, les creux des rochers, sous la terre... Les premières ruches datent du néolithique : l'Homme en se sédentarisant, apprit à domestiquer les abeilles en leur construisant des abris.

Plus tard, dans la Rome ancienne, il était considéré comme un médicament universel, la devise des médecins romains était «mangez du miel et vous resterez en bonne santé ». Ainsi on l'utilisait aussi bien pour des maux physiques comme des blessures.

Le Saint Coran et el hadith du prophète présentent le miel en tant que traitement des maladies et comme a dit **le prophète (bénédition et paix sur lui)** : "*le miel est un remède pour chaque maladie et le Coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le Coran et le miel*" **(rapporte par l'imam Bukhari)**.

Avec le développement continu de l'antibio-résistance des bactéries le miel fait le sujet de plusieurs recherches en raison de ses propriétés inhibitrices, thérapeutiques et le fait qu'il ne présente aucuns effets secondaires

Dans ce travail, nous présentons une synthèse des connaissances actuelles sur les propriétés générales et spécifiques du miel et notamment sur son pouvoir antibactérien révélé in vitro sur les germes pathogènes des mammites bovines.

Pour ce faire nous avons opté pour le plan suivant :

- ✓ Etude bibliographique sur les mammites bovines
- ✓ Etude bibliographique sur l'apiculture les produits de la ruche et plus particulièrement le miel
- ✓ Etude expérimentale des paramètres physico chimiques et pollinique de quelques miels de différentes régions de l'Algérie.

Chapitre I : GÉNÉRALITÉS SUR LES MAMMITES

1- GÉNÉRALITÉS

La mammite est une réaction inflammatoire de la glande mammaire d'origine infectieuse, traumatique ou toxique, dont la plus fréquente est la pénétration d'une bactérie dans un quartier par le canal du trayon. On différencie la mammite clinique (entraînent une modification systématique de l'aspect du lait, avec présence ou non de signes locaux sur la mamelle et de signes généraux), de la mammite subclinique que l'on met en évidence *a posteriori*, grâce aux comptages cellulaires somatiques individuels (CCSI) ou à ceux du quartier. Ce qu'il faut retenir, c'est qu'il s'agit dans les deux cas, d'une infection d'un quartier ou d'une mamelle.

Sa prévalence est élevée parmi les vaches laitières et elle représente l'une des maladies les plus importantes dans l'industrie laitière.

Si elle n'est pas traitée, elle peut conduire à la détérioration du bien-être et de la santé de la vache, de la production laitière et de la qualité du lait et aboutir à la mise à la réforme des vaches affectées, voire à leur mort.

2- Types de mammites

Les mammites sont classées en mammites cliniques, c'est-à-dire suraiguës, aiguës ou chroniques et en mammites subcliniques (Bergonier et *al.* 1997; Brugère-Picoux 2004).

Tableau 1 : Les types de mammites

Mammites cliniques	Suraiguës
	Aiguës
	Subaiguës, dites aussi chroniques
Mammites subcliniques	

2-1 Les mammites cliniques

Les mammites cliniques sont définies par la présence de symptômes fonctionnels, elles entraînent systématiquement une modification du lait dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite (grumeaux, pus, caillots sanguins, etc.).

Les mammites cliniques peuvent être associées à des signes locaux (douleur, chaleur, œdème, rougeur, etc.) et/ou généraux (hyperthermie, abattement, anorexie, etc.) (Rémy, 2010).

Selon l'évolution, on distingue trois types de mammites cliniques :

2-1-1 Mammite suraiguë

D'apparition brutale et d'évolution rapide, elle se caractérise par une sécrétion lactée très modifiée (aspect séreux, aqueux, hémorragique, sanieux ou purulent), voire interrompue par la douleur. Les signes locaux sont très manifestes ; la mamelle très congestionnée. L'état général est fortement altéré et l'évolution vers la mort est fréquente en l'absence de traitement précoce. On distingue deux formes caractéristiques :

2-1-1-1 La mammite paraplégique

La vache est en décubitus avec un syndrome fébrile (tachycardie, tachypnée, hyperthermie) associé parfois à une diarrhée. Les symptômes locaux peuvent être frustrés. Il convient alors de faire le diagnostic différentiel avec une fièvre vitulaire en observant la sécrétion qui est rare et séreuse. Des entérobactéries sont le plus souvent associées à ce type de mammite.

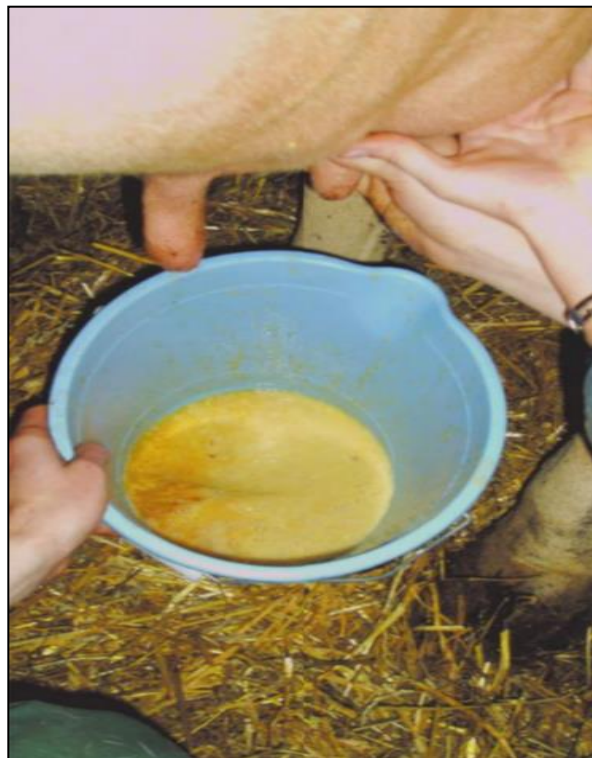


Figure 1 : Mammite colibacillaire (sécrétion modifiée) (J.-M. Nicol)

2-1-1-2 La mammite gangréneuse

L'inflammation du (des) quartier (s) atteint (s) est très sévère, puis suivie d'une nécrose avec apparition d'un sillon disjoncteur séparant les tissus sains des tissus nécrosés froids, noirâtres à gris plombé. La sécrétion est rare et nauséabonde. L'évolution rapide conduit à la mort de l'animal en l'absence de traitement. Le germe mis en cause est *S. aureus*, parfois associé à des anaérobies.



Figure 2 : Mammite gangréneuse. (J.-M. Nicol)

2-1-2 Mammite aiguë

Le quartier est enflammé, la sécrétion est modifiée avec des grumeaux. Les symptômes généraux sont peu marqués. L'évolution est plus lente et généralement ne se solde pas par la mort de l'animal. En l'absence de traitement, l'évolution vers la chronicité est fréquente. Tous les germes potentiellement responsables de mammite peuvent être isolés.



Figure 3 : Mammite aiguë.(guide pratique de médecine bovine, chapitre11)

2-1-3 Mammite chronique

Elle est le plus souvent secondaire à une mammite aiguë. Les symptômes locaux sont discrets, lentement le quartier évolue vers l'atrophie du fait de l'installation de zones de fibrose cicatricielle. Le parenchyme mammaire est parsemé soit de nodules, de taille variable, soit se densifie à la palpation. La sécrétion n'est souvent modifiée qu'en début de traite. L'évolution est lente vers le tarissement de la sécrétion au bout de plusieurs mois. Tous les germes donnant des mammites peuvent être isolés.



Figure 4 : Mammite chronique.

<https://veteriankey.com/udder-and-teat-disorders/>

2-2 Les mammites subcliniques

Elles sont par définition asymptomatiques : la sécrétion paraît macroscopiquement normale même en début de traite, les signes locaux et généraux sont absents. Seul l'examen du lait par des techniques et tests particuliers permet de mettre en évidence des modifications chimiques (baisse du taux de caséine et de lactose, augmentation du taux de chlorure), bactériologiques (présence des germes) et surtout cellulaires du lait, en l'occurrence une augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles). Les germes en causes sont essentiellement ceux de Gram positif (staphylocoques et streptocoques). Les mammites subcliniques, beaucoup plus fréquentes que les mammites cliniques, sont insidieuses et responsables de pertes économiques importantes par une baisse de la production laitière et une augmentation des comptages cellulaires du troupeau. (Anselme, 2007)

3- Etiologies

3-1 Le genre *Staphylococcus*

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques Gram positif. Elles ne sont ni sporulées, ni mobiles, ni capsulées. Elles sont différenciables des autres coques à gram positif, telles que les bactéries de la famille des *Streptococcaceae*, par leur activité catalase positive.

Les staphylocoques sont aéro-anaérobies facultatifs. Ces bactéries sont commensales de la peau et des muqueuses de l'animal et de l'homme (Gyles et al. 2010).

Le genre *Staphylococcus* regroupe deux ensembles de bactéries qui sont différenciés par la présence ou l'absence d'une activité coagulase. Les bactéries ayant l'enzyme coagulase font coaguler le sang en laboratoire en se liant à la prothrombine et en formant de la fibrine.

3-1-1 *Staphylococcus aureus*

Les *Staphylococcus aureus* peut coloniser le lait des vaches en lactation, les vaches tarées, les veaux, la surface de la peau, les trayons, le vagin, le mufler (Boddie et al., 1987 ; Roberson et al., 1998, Matos et al., 1991). Cependant, la principale source d'infection est le lait provenant des quartiers infectés mais aussi les mains des trayeurs et l'équipement de la traite (George et al., 2008). Il existe des différences entre les souches de *S. aureus* isolés au niveau des différents sites c'est-à-dire le lait, la peau du trayon, les mains, et l'équipement de traite (Zadoks et al., 2002).

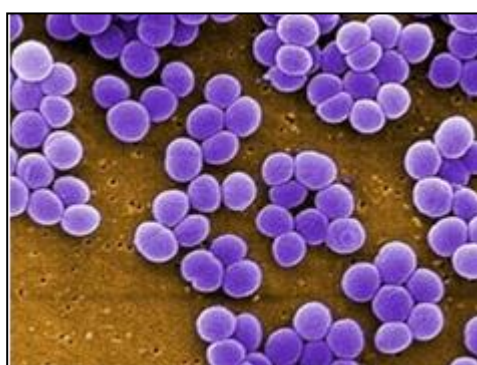


Figure 5 : *Staphylococcus aureus* vu sous microscope électronique à balayage

<https://pixnio.com/science/microscopy-images>

3-1-2 Les staphylocoques à coagulase négative

Le groupe des staphylocoques à coagulase négative (SCN) comprend 39 espèces dont une dizaine a été isolée des cas de mammites avec la prédominance d'un petit nombre (Pyorala et Taponen, 2009). Dans les élevages, la prévalence des mammites à SCN est plus élevée autour du vêlage chez les primipares et les vaches (Aerestrup et Jensen, 1997 ; Rajala-schulz *et al.*, 2004). Les staphylocoques à coagulase négative peuvent être isolés des sites extra-mammaires comme la peau, le canal du trayon, et leur transmission est facilitée lorsque les mesures d'hygiène sont inadéquates (Trinidad *et al.*, 1990 ; Matos *et al.*, 1991 ; George *et al.*, 2008). Généralement, ce groupe de bactéries provoque des mammites subcliniques, et dans quelques rares cas des mammites cliniques (Pyorala et Taponen, 2009). Près de 15 espèces différentes ont été mises en évidence dans des cas de mammites (Persoon *et al.*, 2011) dont les plus fréquentes sont *Staphylococcus chromogenes*, *Staphylococcus simulans*, *Staphylococcus hyicus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Staphylococcus haemolyticus*, *Staphylococcus xylosus* et *Staphylococcus cohnii*. Dans ce groupe, certains se comportent comme des bactéries contagieuses et d'autres comme des bactéries environnementales.



Figure 6 : *Staphylocoques* à coagulase négative en mode culture

https://virtuallab.tlc.ontariotechu.ca/virtual_lab.php?id=L8_5

3-2 Le genre *Streptococcus*

Ce sont des bactéries commensales de la peau et des muqueuses des mammifères, dont l'homme, et des oiseaux. Leur métabolisme est strictement fermentaire. Les germes du genre sont anaérobies stricts aérotolestants. Les bactéries du genre *Streptococcus* les plus retrouvées dans les mammites sont *Streptococcus uberis*, *Streptococcus agalactiae* et *Streptococcus suis* (Bergonier *et al.* 2003).

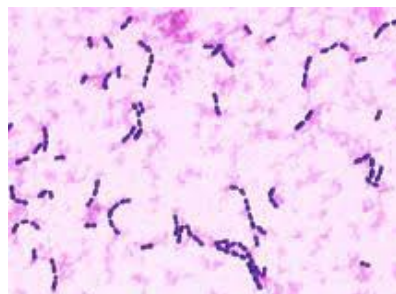


Figure 7 : *Streptococcus* vu sous microscope <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01982651/document>

3-2-1 *Streptococcus agalactiae*

S. agalactiae est une cocci à Gram positif, β hémolytique, appartenant au groupe B de la classification de Lancefield. C'est une bactérie hautement contagieuse, parasite obligatoire de la glande mammaire, car elle ne survit que très peu de temps en milieu extérieur. La bactérie est généralement responsable de cas de mammites subcliniques avec, souvent aussi des cas cliniques (George *et al.*, 2008). Le lait de la mamelle infectée constitue la principale source de contamination dans les élevages laitiers. La contamination intervient à l'occasion de la traite.

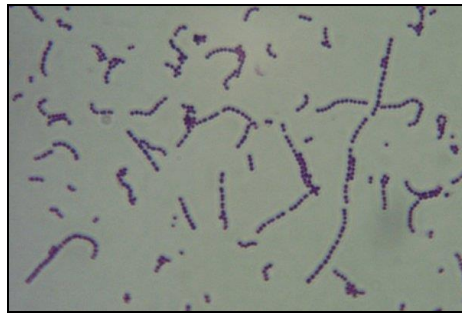


Figure 8 : *Streptococcus agalactiae* vu sous microscope

<https://www.vetbact.org/>

3-2-2 *Streptococcus uberis*

C'est une cocci à Gram positif, α hémolytique, esculines +, saprophyte du milieu extérieur. La bactérie est retrouvée au niveau des trayons, sur la peau de la mamelle, dans le rumen, dans la cavité buccale et au niveau du vagin (George *et al.*, 2008). Les infections mammaires à *S. uberis* s'installent au cours de la lactation ou durant la période sèche avec des manifestations cliniques ou subcliniques (George *et al.*, 2008). Des études ont montré que deux types de modèles épidémiologiques différents peuvent être définis dans le cas des infections à *S. uberis* (Serieys, 2004 ; George *et al.*, 2008). Dans le premier modèle, les infections s'installent au cours de la période sèche ou durant la lactation, et la contamination se fait essentiellement à partir de sources environnementales par des souches polyclonales. Dans le second modèle, la contamination se fait d'un quartier à un autre à l'occasion de la traite avec un nombre limité de souches (oligoclonal).

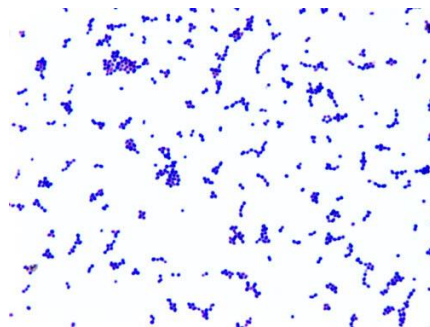


Figure 9 : *Streptococcus uberis* vu sous microscope <http://faculty.weber.edu/>

3-2-3 *Streptococcus dysgalactiae*

S. dysgalactiae est une cocci à Gram positif, α hémolytique appartenant au groupe C de la classification de Lancefield. Cette bactérie occupe une position intermédiaire entre les germes contagieux et les germes de l'environnement. En effet, elle peut se retrouver dans l'environnement de la vache, et a été isolée de sites extra-mammaires comme au niveau des amygdales, de la bouche ou encore du vagin (Quinn *et al.*, 2011), mais aussi à partir du pis, et sur les lésions des trayons (Schalm *et al.*, 1971). La transmission de la bactérie se fait principalement pendant la traite (Bramley et Dodd, 1984).



Figure 10 : *Streptococcus dysgalactiae* vu sous microscope

<http://microbe-canvas.com/Bacteria.php?p=1176>

3-3 Les *Enterobacteriaceae*

Les *Enterobacteriaceae* sont des germes peu exigeants, oxydase négative, retrouvés dans le sol, dans l'eau, et surtout dans l'intestin de l'homme et des animaux et renferment un nombre très élevé de genres et d'espèces. Dans le cas des infections mammaires, on peut les distinguer en deux groupes, celles qui sont lactose+ notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, communément appelées coliformes, et celles qui sont lactose- comme *Serratia spp*. Les infections mammaires dues aux coliformes présentent deux caractéristiques qui dépendent du moment de leur installation. En effet, Serieys (2004) rapporte, que les souches qui s'installent durant la lactation provoquent des mammites plus sévères que celles qui s'installent durant la période du tarissement.

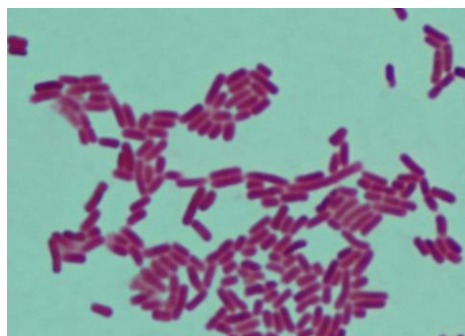


Figure11 : *Enterobacter spp* vu sous microscope.

<http://www.bacteriainphotos.com/>

3-3-1 *Escherichia coli*

Les caractéristiques cliniques et les résultats de la mammite à *E. coli* varient d'une mammite légère, où les vaches ne présentent que des signes locaux dans le pis et la durée de l'infection est courte, à très sévère ou même formes mortelles (Burvenich et *al.*, 2003). La mammite à *E. coli* a généralement un début soudain, ce qui conduit à changements d'aspect du lait, d'abord à séreux et jaune, puis à caillouteux et épais. Le nombre de cellules somatiques du lait (SCC) augmente à des nombres très élevés. Le pis devient dur, gonflé et tendre. La vache présente également des signes systémiques, notamment une forte fièvre, une augmentation de la fréquence contractions du rumen, manque d'appétit, dépression et diminution de la production de lait. Les études expérimentales de mammite à *E. coli* ont montré que les premiers signes sont généralement observés au niveau local. à environ 8 h après la provocation (PC), et la fièvre et d'autres signes systémiques atteignent un pic à 12 h PC (Lohuis et *al.*, 1990b; Hirvonen et *al.*, 1999; Hoeben, 1999; Haddad et *al.*, 2001).



Figure12 : *Escherichia coli* vu sous microscope électronique à balayage.

<https://www.lavanguardia.com/>

3-3-2 *Klebsiella*

Les espèces de *Klebsiella* sont des coliformes à Gram négatif, *K. oxytoca* et *K. pneumonia* sont les bactéries pathogènes des mammites. *Klebsiella* et d'autres bactéries coliformes se trouvent dans des quantités élevées de matière organique, comme la litière et fumier. Les pis sont infectés par des coliformes bactéries par contact avec la matière organique de l'environnement ou pendant la traite. Les bactéries *Klebsiella* sont hangar en forte concentration dans les fèces et le lait des vaches infectées. Certaines infections à *Klebsiella* ont été s'est avéré se produire pendant la traite lorsque le lait d'une vache infectée contamine l'unité de traite et passe l'infection à la prochaine vache ou aux vaches qui sont traites.

De plus, certains types de literie, en particulier les sous-produits du bois, ont été associés à des concentrations élevées de *Klebsiella*.

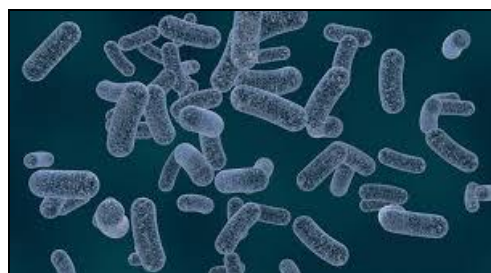


Figure 13 : *Klebsiella* vu sous microscope électronique. <https://www.biocote.com/>

3-4 *Arcanobacterium pyogenes*

Arcanobacterium pyogenes est l'agent responsable de la mammité d'été. Ses principaux réservoirs concernent les animaux : blessures des trayons, abcès, infections génitales, quartiers infectés. La contamination des trayons se fait par contact avec des matériaux contaminés comme les litières des box de vêlage. *Hydrotaea irritans* un diptère lécheur-suceur, joue un rôle prépondérant dans la contamination des quartiers par son rôle de vecteur à partir des zones contaminées. Ces caractéristiques en font un agent de mammité d'épidémiologie mixte car il peut se transmettre durant la traite comme entre les traites.

Arcanobacterium pyogenes infecte le plus souvent des génisses en fin de gestation ou des vaches tarées. Plus rarement, la bactérie est responsable de mammites cliniques chez des vaches laitières en lactation, notamment suite à des blessures des trayons. L'infection est également décrite dans le cadre de l'utilisation de dilateur de trayon, ou de sonde trayeuses associés à une hygiène déficiente.

Ces mammites sont sévères, avec une production de pus et parfois le dégagement d'une odeur nauséabonde produite par des bactéries anaérobies additionnelles.

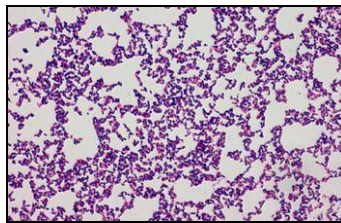


Figure 14 : *Arcanobacterium pyogenes* vu sous microscope (<http://microbe-canvas.com/>)

3-5 *Mycoplasma*

Les mycoplasmes ont, entre autres caractéristiques, une absence de paroi bactérienne en tant que telle. Ils possèdent une simple membrane. Ceci explique leur insensibilité aux antibiotiques agissant sur la paroi cellulaire ou les protéines qui y sont associées. Ils peuvent vivre en parfaite harmonie avec leur hôte, on retrouve donc des porteurs asymptomatiques. En revanche, ils survivent mal dans l'environnement. Les sources de contamination seront donc les sécrétions (nasales, vaginales, lait,...) des animaux porteurs, qu'ils soient malades ou non. *Mycoplasma bovis* est le mycoplasme le plus souvent identifié dans le lait. Il est responsable de pneumonies, d'arthrites, d'otites et de kérato conjonctivites. Le diagnostic de ce pathogène pourra donc également se baser sur une suspicion dans l'anamnèse de troupeau.

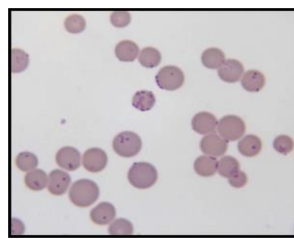


Figure 15 : *Mycoplasma* vu sous microscope (<https://en.wikipedia.org/wiki/Mycoplasma>)

4- Diagnostic

4-1 Diagnostic clinique

L'examen clinique de la mamelle et des sécrétions mammaires constitue le pilier de la démarche diagnostique des mammites cliniques. Il constitue en plus le moyen le plus simple et le moins onéreux (DUREL et *al*, 2003).

Cependant pour être efficace, ce diagnostic doit suivre une démarche précise et méthodique. Ainsi une étude minutieuse devra porter sur trois points :

- **Un examen visuel de la mamelle** : Il s'agit d'évaluer les caractères physiques de la mamelle afin de détecter des modifications perceptibles à l'examen de l'animal à distance.
- **Une palpation de la mamelle** : Elle est réalisée sur une mamelle vide après la traite. Elle permet d'observer la qualité de la peau qui recouvre l'organe, la texture et les anomalies perceptibles dans le conjonctif, la présence de signes inflammatoires (douleur, rougeur, tuméfaction et chaleur), la présence d'une lymphadénite. Cette palpation permettrait un diagnostic précoce de certaines affections et le pronostic des infections anciennes ou chroniques (Durel et *al*, 2003).
- **Un examen macroscopique des sécrétions mammaires** : On doit chercher à apprécier les modifications de la qualité des sécrétions mammaires telles que la couleur (jaune au rouge sombre), le goût et l'odeur (odeur d'œuf pourri en cas d'infection par les germes pyogènes), la consistance, la viscosité, et l'homogénéité peuvent aussi être évaluées.

4-2 Diagnostic expérimental

Les infections mammaires étant la plupart du temps inapparentes, le simple examen clinique des quartiers et du lait ne suffit pas dans tous les cas pour les diagnostiquer. C'est pourquoi on a alors recours aux méthodes de dépistage plus fines, praticables en routine à grande échelle et peu onéreuses. C'est le cas des méthodes de numération des cellules du lait, qui peuvent s'appliquer indifféremment à des échantillons de lait de quartier, de lait de mélange individuel (des quatre quartiers) ou de lait de tank (SERIEYS, 1985b). Il convient d'ajouter à ces tests, le Californian Mastitis Test (CMT) qui est un test fiable et facile d'utilisation à l'étable.

4-2-1 Comptage avec le fossomatic

Appelé aussi comptage automatique à Fluorescence, ce comptage utilise le fossomatic qui est un microscope automatique à fluorescence. Les noyaux des cellules du lait sont rendus fluorescents par un colorant, le bromure d'éthidium, qui se fixe sur l'ADN (DUREL et *al.*, 2003).

Après cette coloration, le lait est étalé sous forme d'un film très fin de 10 microns d'épaisseur sur le pourtour d'un disque rotatif qui sert de porte objet pour le microscope. Chaque noyau de cellule somatique contenu dans le lait, excité par la lumière d'une lampe au Xénon, renvoie une lumière rouge qui est captée par le microscope lorsque le noyau passe sous l'objectif. Ces émissions de lumière sont transformées en signaux électriques qui sont comptabilisés.

Les bactéries ayant un ADN plus diffus, leurs noyaux émettent une lumière moins intense, et l'appareil est calibré pour que ces signaux de faible intensité ne soient pas comptés. L'appareil peut réaliser 150 échantillons à l'heure.

4-2-2 Comptage avec le Coulter-Counter

Le Coulter-Counter totalise les impulsions électriques qui résultent du passage de particules à travers un orifice situé entre deux électrodes. Quand une particule passe par l'ouverture, la résistance entre les deux électrodes est modifiée, produisant une impulsion électrique proportionnelle au volume de la particule (DUREL et *al.*, 2003). L'appareil est calibré de façon à ce que les particules étrangères (bactéries et particules diverses) d'un diamètre inférieur à celui des cellules ne soient pas comptées. L'appareil peut réaliser une centaine de mesures à l'heure.

4-2-3 Comptage par la méthode microscopique directe

La méthode de comptage microscopique sur lames constitue la méthode de référence pour toutes les méthodes de comptage des cellules somatiques. Cependant, faute de ne pas être automatisable, elle est souvent reléguée à l'étalonnage des autres méthodes (DUREL et *al.*, 2003).

Pour le comptage à l'aide de la cellule de THOMA, le prélèvement est d'abord mélangé avec le liquide de dilution, et le comptage se fait au microscope après dépôt d'une goutte du prélèvement entre lame et lamelle au grossissement 10, 25 et 40 (GABLI et *al.*, 2005).

4-2-4 Le « Californian Mastitis Test » (CMT)

Le CMT constitue un test peu onéreux et facile à réaliser en élevage. Connue depuis 1957, son principe est basé sur l'action d'un détergent tensioactif (solution de Teepol à 10%) mélangé avec un colorant (généralement le pourpre de bromocrésol) dans le lait. Après élimination des premiers jets, une petite quantité de lait (environ 2 ml) est recueillie dans une coupelle

transparente. On ajoute au lait prélevé une quantité égale du tensioactif et par un mouvement rotatoire, on mélange les deux liquides dans les coupelles. Au bout de quelques secondes, il se forme un précipité dont l'importance et la consistance sont fonction de la teneur en cellules somatiques du lait prélevé.

Ce test peut permettre, quand il est effectué régulièrement, de préciser le statut infectieux d'un animal et de déterminer le ou les quartiers infectés (DUREL et *al.*, 2003) (Figure 16).



Figure16 : Californian Mastitis Test effectué sur une vache malade

[https://www.semanticscholar.org/paper/Efficacy-of-a-composite-formulation-\(masticure%C2%AE\)-as-As-Ahmad/b69b165ae7beeb3b9c14c21f877f7b769425a44c/figure/6](https://www.semanticscholar.org/paper/Efficacy-of-a-composite-formulation-(masticure%C2%AE)-as-As-Ahmad/b69b165ae7beeb3b9c14c21f877f7b769425a44c/figure/6)

4-2-5 Diagnostic bactériologique

4-2-5-1 Indications du diagnostic bactériologique

Il faut savoir limiter les prélèvements aux circonstances où elles s'avèrent indispensables c'est-à-dire en cas de mammites cliniques si l'exploitation est confrontée à une augmentation brutale de leur incidence ou à un problème de récurrence après échec de mesures préventives ou curatives et en cas de mammites sub-cliniques pour en contrôler l'origine infectieuse et l'efficacité des mesures préventives utilisées. Le plus souvent il sera indiqué si l'analyse épidémiologique réalisée (examen des CCI, audit de santé mammaire, visite de traite, analyse des cas cliniques) ne conclut pas à une situation univoque. Par ailleurs, il peut également revêtir une connotation pédagogique pour convaincre l'éleveur de l'exactitude du diagnostic posé. Enfin, il permet d'affiner les mesures préventives et/ou curatives à prendre.

4-2-5-2 Nature des prélèvements

a) Le prélèvement individuel : les quartiers

Si l'objectif est de définir une stratégie de traitement des mammites cliniques, on peut envisager de prélever tous les quartiers atteints au fur et à mesure de l'apparition des cas cliniques. Le prélèvement systématique en assure une plus grande représentativité et évite de concentrer les prélèvements sur les cas les plus graves (rechutes, absence de guérison, signes généraux graves) ou sur une saison particulière. Ces prélèvements pourront être congelés dans l'exploitation au moyen d'un agent cryoprotecteur (Cryokit Intervet) pour assurer une meilleure conservation de bactéries qui résistent mal au processus de la congélation-décongélation (enterobactéries surtout). Afin d'améliorer la qualité des renseignements fournis par ces examens, on peut conseiller, lors de mammite clinique aiguë, de réaliser un prélèvement avant traitement et de le congeler immédiatement. En cas d'échec thérapeutique (persistance des signes cliniques, récurrence) un second prélèvement est réalisé et les deux sont envoyés au laboratoire pour analyse. Il est une règle couramment admise en matière de diagnostic bactériologique des mammites : pour qu'un germe soit rendu responsable d'une mammite, il faut qu'il ait été isolé dans deux ou dans deux prélèvements sur trois effectués à 1 jour d'intervalle.

Si l'objectif est de définir une stratégie de traitement des mammites subcliniques au tarissement ou en lactation, on prélèvera alors du lait sur les quartiers présentant un CMT positif chez des vaches ayant un taux cellulaire > 300.000 ou > 200.000 si l'on suspecte des infections à Staphylocoque. Si on se préoccupe du traitement au tarissement, on prélèvera plus spécifiquement des vaches en fin de lactation. Ces mammites étant davantage dues à des Gram+, le recours à un agent cryoprotecteur pour la congélation est moins indispensable.

b) Le prélèvement dans le tank à lait

La détermination de la concentration en bactéries du lait de tank constitue une première approche intéressante d'un problème de mammites dans une exploitation. Par ailleurs, son résultat conditionne le prix payé au producteur. Enfin, il peut constituer un gage de qualité pour le consommateur. C'est ainsi que cette recherche est hebdomadairement effectuée dans les exploitations produisant du lait de qualité supérieure (A,A,A). Actuellement cependant, cette détermination de la teneur globale en germes est réalisée 4 à 6 fois par mois dans la plupart des exploitations.

Trois facteurs contribuent à augmenter la concentration bactérienne dans le tank à lait : le lait mammiteux, les coliformes et le manque de nettoyage de l'installation de traite. Une insuffisance de dépistage précoce des mammites contribue à laisser passer dans le tank à lait du lait provenant de vaches infectées. On se rappellera qu'un quartier infecté cliniquement par

du *Streptocoque agalactiae* ou *uberis* (principaux germes susceptibles d'augmenter la concentration bactérienne du tank à lait) renferme parfois jusque 100 millions de germes par ml de lait. L'addition de 2 litres de ces laits à 1500 litres de lait sain, peut augmenter le TBT de 1.000.000 bactéries par ml. Ce fait met en exergue l'importance d'une détection précoce des cas cliniques et la traite séparée des vaches infectées. La détermination de la concentration des coliformes dans le lait de tank peut mesurer indirectement l'importance de leur présence dans l'environnement des animaux et plus particulièrement au niveau des trayons. Elle mesure donc indirectement le degré de propreté de la traite (lavage et le cas échéant essuyage des trayons, chute plus ou moins fréquente de la griffe...). L'objectif est d'avoir une concentration inférieure à 100 / ml (En Angleterre, la norme est fixée à 25/ml) quoique des concentrations inférieures à 500 / ml soient encore considérées comme acceptables. En Belgique, dans le cadre de la production de lait (AA), la recherche des coliformes est effectuée deux fois par mois. L'octroi de la prime est lié à l'obtention d'une moyenne géométrique calculée sur les deux derniers mois inférieure à 50 coli par ml. Un nettoyage insuffisant de l'installation de traite peut conduire à la formation de dépôts, endroit de multiplication bactérienne et donc de contamination du lait. La détermination de la concentration en germes dits thermoduriques peut donc dans certains cas s'avérer intéressante. Cette détermination est effectuée après pasteurisation du lait (LPC : Laboratory Pasteurised Count). Une concentration supérieure à 750 germes par ml laisse entrevoir un problème de nettoyage (température insuffisante, volume d'eau insuffisant soit moins de 12 à 14 litres par griffe) ou la possibilité d'une contamination par des bactéries telles que le *Bacillus cereus* (présence de terre sur les trayons).

En aucun cas, ce dénombrement ne revêt une valeur diagnostique car la flore totale au niveau du lait de mélange ne reflète le statut infectieux des quartiers.

Tableau 2 : Concentrations (CFUs/ml) de différentes bactéries dans le tank à lait (Farnsworth R, Agri-Practice 1992)

	Faible	Moyen	Elevé	Très élevé
<i>Strep.agalactiae</i>	0 - 50	50 - 200	200 - 400	>400
<i>Stah.aureus (coag+)</i>	< 50	50 – 150	150 - 250	>250

<i>Strepto non agalatae</i>	500 - 700	700 – 1200	1200 - 2000	>2000
Coliforme	< 100	100 – 400	400 - 700	>700
<i>Staph.aureux (Coag -)</i>	< 300	300 – 500	500 - 750	>750

4-2-5-3 Conservation des prélèvements

Le lait doit être réfrigéré aussi vite que possible à une température inférieure à 4°C pour prévenir la multiplication bactérienne. Les Coliformes peuvent dans des conditions optimales doubler leur nombre toutes les vingt minutes. Certaines bactéries dites psychotropes (*Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Flavobacterium*, *Aeromonas*, *Achromobacter* mais aussi *Listeria*, *Yersinia enterocolitica*) présentes dans l'air et l'environnement de l'étable peuvent néanmoins se multiplier à une température inférieure à 7°C.

L'idéal et surtout en ce qui concerne les *enterobactériacées* est de recourir à un agent cryoprotecteur.

4-2-5-4 Méthode des prélèvements individuels

Le prélèvement sera effectué en fin de traite. Cette méthode est de nature à réduire le nombre de contaminants qui habituellement se multiplie plus rapidement que les *Streptocoques* et *Staphylocoques*. L'échantillon peut raisonnablement avoir été contaminé si plus de 2 voire 3 colonies sont isolées. Le germe contaminant peut être considéré comme pathogène s'il se développe seul.

Tout prélèvement contaminé doit être recommencé (Sears et *al.*, J. Dairy Sci., 1991) (Annexe 1)

- ✓ Se laver les mains
- ✓ Nettoyer les trayons (lavette et eau savonneuse) et les sécher au moyen de papier absorbant (le papier après essuyage doit être propre);
- ✓ Mettre des gants
- ✓ Désinfecter l'extrémité de chaque trayon à l'alcool à 70° pendant au moins 20 sec. Lorsque les prélèvements portent sur plusieurs quartiers, la désinfection commence par

le plus éloigné et finit par le plus proche. La désinfection sera prolongée tant que le tampon se salit au contact de l'extrémité du trayon.

- ✓ Saisir si l'on est droitier, le flacon de la main gauche et le dévisser de la main droite. Le bouchon sera maintenu entre le pouce et l'index et le flacon placé dans la paume de la main gauche.
- ✓ La main droite éliminera les premiers jets de lait (dans un récipient spécial)
- ✓ De la main droite, plusieurs jets de lait (10 ml) seront dirigés vers le flacon maintenu horizontalement pour éviter sa contamination par des poils ou autres débris cellulaires présents sur la peau du quartier. Si plusieurs quartiers doivent être prélevés, on procède du plus proche au plus éloigné, en sens inverse de la désinfection.
- ✓ Reboucher le flacon
- ✓ identifier chaque prélèvement (identification de l'animal, date et quartier prélevé (AG AD PG PD))
- ✓ Rédaction des commémoratifs les plus complets possibles et orientation éventuelle des recherches (agents mycosiques, choix des antibiotiques à tester...)
- ✓ Expédition au laboratoire dans les délais les plus brefs (moins de 4 heures), sous la protection du froid c'est-à-dire à une température inférieure à 4°C (entre 4 et 24 heures) ou par congélation si la durée d'acheminement doit dépasser 24 heures. La congélation est un excellent moyen de conservation des bactéries responsables de mammites contagieuses tels le *Staphylocoque*, le *Streptocoque agalactiae* et les mycoplasmes. Elle peut cependant modifier les dénombrements bactériens et exclut la possibilité d'un dénombrement des cellules somatiques. Certains auteurs ont observé une augmentation du nombre (x 1.45) de Staphylocoques après congélation du prélèvement pendant 23 jours à -20°C (Villanueva M R et al, J Am Vet Med.; 1991,198:8,1398-1400). Celle-ci serait imputable au fait que la congélation libérerait les neutrophiles libérant ainsi les *Staphylocoques* qu'ils sont susceptibles de renfermer. D'autres auteurs n'ont pas observé de modifications du taux de survie de la majorité des germes responsables de mammites après congélation pendant 6 semaines (Murdough P A et al, J Dair Sci.1996,79: 2, 334-336). La congélation modifierait le dénombrement des *Staphylocoques coagulase* – mais pas celui des *Staphylocoques* et des *Streptocoques* (Schukken Y H et al, J Dair Sci, 1989, 72:7, 1900-1906).

4-2-5-5 Analyse des prélèvements

Le classement et les analyses seront effectuées par le laboratoire. Néanmoins elles peuvent également être assurées par le praticien moyennant un minimum d'équipement. Les germes responsables de mammites se répartissent en cinq groupes : les coques Gram +, les coliformes Gram -, les *Actinomyces*, les *Mycoplasmes* et les autres (*Nocardia*, *Prototheca*). Leur isolement peut être effectué par étalement de 0.01 à 0.05 ml de lait sur de la gélose au sang renfermant ou non de l'esculine (0.1 %). Le milieu d'Edwards (gélose agar et sang, esculine, cristal violet) est adapté aux différents *streptocoques*. Le milieu de Mc Conckey permet le diagnostic différentiel entre les *entérobactériacées* et les Streptocoques fécaux. La recherche des mycoplasmes suppose l'emploi de milieux plus spécifiques. Une première lecture peut être réalisée au bout de 18 à 24 heures, des conclusions définitives ne pouvant être apportées qu'au bout de 48 heures.

4-2-5-6 Interprétation des résultats

Il n'existe pas de flore normale de la mamelle. Tout isolement bactérien mérite dès lors d'être pris en compte pour autant que les conditions du prélèvement aient été optimales. Une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection dans 90 % des cas. L'association de deux espèces est rare, celle de trois tout à fait exceptionnelle et pose alors le problème de la qualité du prélèvement. L'objectif vise à l'estimation au sein d'un troupeau de l'importance relative entre *Staphylococcus aureus* et les streptocoques (*Streptococcus uberis* en particulier) en cas de mammites subcliniques et entre *Staphylococcus aureus*, les Streptocoques et les *enterobactériacées* (*E. Coli* en particulier) en cas de mammites cliniques.

En cas de résultat négatif, il faut s'assurer que l'animal n'a pas reçu récemment d'agents anti-infectieux. Si des prélèvements répétés sont négatifs, il faut penser à rechercher des micro-organismes exigeant des milieux spéciaux (mycoplasmes, mycobactéries, bactéries anaérobies, levures...). Lorsqu'il s'agit d'établir l'efficacité d'un traitement de manière scientifique, on estime utile de réaliser deux analyses bactériologiques avant et après le traitement.

5- Importance

5-1 Pertes de production

Les études les plus pertinentes, sous l'angle économique, concernent les effets sur la production cumulée des 4 quartiers.

En effet, en cas d'atteinte d'un quartier, une compensation partielle est réalisée par les quartiers sains. Les pertes de production laitière associées aux cas cliniques varient en intensité

et en durée à l'échelle de la lactation : quasi nulles avec un effet très fugace jusqu'à 900 kg répartis sur toute la lactation (Lescourret et Coulon, 1994). Les variations sont liées à la gravité médicale (signes généraux, nombre de quartiers atteints), à la nature du pathogène responsable (persistance de l'infection), et au stade de lactation lors de la survenue et h l'animal (Deluyker et *al.*, 1991).

En tendance centrale, la perte associée aux mammites cliniques est de 250-300 kg par lactation atteinte (soit 4 à 7 %). Cette valeur, évaluée en conditions d'élevage, intègre des efficacités de traitement inconnues. Les effets sur la production peuvent persister au-delà de la lactation en cours. Ce phénomène n'est cependant significatif (répercussion différée de 380 kg en moyenne) qu'à partir de 3 cas cliniques dans la même lactation (Houben et *al.*, 1993).

Les teneurs élevées de cellules somatiques dans le lait sont associées à des pertes de production journalière de 1,3 % chez les primipares et 2,7 % chez les multipares par pas de doublement (par exemple, passage de 150 000 à 300 000 cellules/ml) selon Hortet et *al.*, 1997).

5- 2 Impact économique

L'impact économique est formé par la somme des coûts des actions de maîtrise (traitements et préventions) et des pertes. Celles-ci sont liées aux réductions de production, au lait non commercialisé, aux pénalités sur le prix de vente, ainsi qu'aux mortalités et réformes anticipées ou supplémentaires. Ces dernières résultent surtout d'élévations du nombre de cellules et de cas cliniques survenant dans les 45 premiers jours de lactation ou pendant la période sèche (Beaudeau et *al.*, 1995).

6- Traitement

L'utilisation d'antibiotiques n'est pas la solution idéale. Outre les problèmes qu'elle engendre au niveau du lait (retrait du lait pendant x jours, contamination possible avec les résidus d'antibiotiques, problèmes lors de la transformation en yaourt et fromage), l'utilisation d'antibiotiques n'a pas fait diminuer le taux de mammite depuis qu'elle est pratiquée (Philpot et Dodd, 1978). Les problèmes de résistance ou carrément d'inefficacité sont par ailleurs réels dans les cas de mammites provoquées par les coliformes et les staphylocoques dorés (Hill, 1986).

Par contre, l'application de miel peut favoriser la cicatrisation des plaies infectées qui ne répondent pas à la thérapie conventionnelle, c'est-à-dire aux antibiotiques et aux antiseptiques (Ahmed AK et *al.*, 2003) , y compris les plaies infectées par des *S. aureus* résistants à la méthicilline (Natarajan S et *al.*, 2001), (Dunford C et *al.*, 2000).

Le miel cru contient de grandes quantités de composés tels que des flavonoïdes et d'autres polyphénols qui peuvent agir comme antioxydants (Blassa M et *al.*, 2006). Des observations cliniques ont fait état d'une réduction des symptômes d'inflammation lorsque le miel est appliqué sur des plaies. L'élimination de l'exsudat dans les plaies habillées de miel est utile pour gérer les plaies enflammées (Ahmed AK et *al.*, 2003).

Chapitre II : Apiculture et produits de la ruche.

1- Généralité sur l'apiculture

L'apiculture est une branche de l'agriculture qui a pour objet d'élever des abeilles dans le but d'obtenir de manière rentable des produits de la ruche (le miel, la gelée royale, le pollen, la cire) (Catays, 2016).

1-1 L'apiculture dans le monde

L'apiculture est une activité pratiquée depuis la plus haute Antiquité et encore largement répandue dans le monde, elle est très importante dans le domaine agricole, et en particulier dans celui de la pollinisation croisée de nombreuses plantes cultivées et fécondées par les abeilles (Badren, 2016).

La production mondiale de miel s'élève à plus de 1 million de tonnes par an et se concentre à 61% dans dix pays qui se trouvent principalement dans l'hémisphère Nord. La production dépend donc des ruches utilisées, des facteurs environnementaux, de la technicité des apiculteurs et du développement du pays en règle générale (Delahais, 2012).

D'après l'Organisation des Nations Unies pour l'Alimentation et l'Agriculture (FAO), la Chine, le Mexique et l'Argentine sont les premiers exportateurs de miel au monde, tandis que l'Allemagne et le Japon sont les premiers importateurs. L'ex-URSS produisait environ un quart de la quantité mondiale de miel, mais ne le commercialisait pas, jusqu'à une période récente, sur le marché international (Badren, 2016).

Les Etats-Unis étaient également de gros producteurs de miel, mais, suite au phénomène de mortalité des abeilles par le phénomène de pollution, sa production a chuté de presque 30% depuis quelques années (Delahais, 2012).

1-2 Apiculture en Algérie

En Algérie, l'apiculture a toujours revêtu une importance sur le plan socio-économique, compte tenu des conditions climatiques et de la flore importante favorable à son développement. Malgré ces conditions favorables, la production algérienne en miel est de l'ordre de 4000 à 5000 quintaux par an, est inférieure aux besoins de la consommation locale, alors qu'elle devrait être supérieure et être à l'origine d'un courant d'exportation important (Nair, 2014).

L'Algérie possède des ressources mellifères très étendues variées qui permettent de produire des différents types de miels, ces ressources contribuent à l'apparition d'apiculture dominante dans les régions suivantes : littoral, montagne, hauts plateaux, maquis et forêts (Oudjet, 2012). Neuf des treize wilayas du nord sont incontestablement très riches de possibilités apicoles, ce sont : Alger, Oran, Mostaganem, Chlef, Constantine, Annaba, Tizi Ouzou, Tlemcen et Sétif. Dans ces wilayas les agrumes constituent l'élément principal de la flore mellifère cultivée (Badren, 2016).

2- Les autres produits de la ruche

Les produits de la ruche ne se résument pas à la seule production de miel. Elle offre d'autres produits très intéressants comme la cire, le pollen, la propolis, la gelée royale et même le venin des ouvrières.

2-1 Le pollen

Le pollen, contenu dans les anthères situées à l'extrémité des étamines, est l'appareil sexuel mâle des fleurs. C'est une matière première fondamentale pour les abeilles, mais aussi un produit de la ruche. Une colonie en récolte environ 20 à 40 kg par an (*Bradbear, 2010*).

L'anatomie des abeilles est particulièrement adaptée à sa récolte (nombreux poils, corbeilles à Pollen). Les butineuses ramènent à la ruche un chargement de 10 à 20 mg à chaque voyage (*Toullec, 2008*). Le pollen récolté est mélangé à des sécrétions salivaires pour en faire des pelotes.

Ce pollen amassé contient différentes sécrétions apiaires, qui, contiennent des lacto-ferments nécessaires à la formation ultérieure du pain de pollen. Les pelotes de pollen sont réceptionnées par des ouvrières qui se chargent de le stocker dans des alvéoles: elles le tassent au fond d'une cellule et rajoutent une fine couche de propolis. Parfois, le pain d'abeille peut être operculé. En observant des rayons dans lesquels sont stockés du pollen, on constate qu'il y a de nombreuses couleurs différentes: cela montre que les abeilles d'une colonie récoltent le pollen de différentes espèces de plantes (même si une abeille se concentre sur un type de fleurs) (*Bradbear, 2010*). Cela participe à la variété du régime alimentaire des abeilles. En effet, la composition du pollen varie en fonction de son origine florale. C'est l'unique source protéique (20 à 35% de la matière sèche) et la principale source de vitamines, de lipides et de sels minéraux (essentiellement potassium, phosphore, fer, manganèse, zinc et cuivre) des

abeilles (*Adam G., 2011*). Il contient également des glucides, de l'eau, des lipides, des enzymes, des antibiotiques, des antioxydants et des ferments.

C'est un aliment clé du développement des larves. Ce sont les nourrices qui en consomment le plus (vers 9-10 jours), afin de produire la gelée royale. En milieu tempéré, les besoins varient en fonction de la saison: en hiver, il n'y a quasiment pas de couvain ce qui entraîne des consommations moindres en pollen (*Adam, 2011*).

De par sa forte proportion de protéines avec tous les acides aminés essentiels, le pollen est un complément alimentaire intéressant pour les humains. 100 g de pollen contiennent la même quantité de protéines que 7 œufs ou 400 g de viande bovine. Il contient tous les acides aminés essentiels. Il possède également des propriétés thérapeutiques: il est utilisé par exemple comme antianémique ou comme régulateur de transit (en cas de diarrhée ou de constipation) (*Jean-Prost, 2005*).

Pour le récupérer, l'apiculteur peut installer des trappes à pollen. Toutefois, elles ne doivent être mises en place que pendant de courtes périodes, et sur des colonies fortes. Il ne faut prélever qu'une partie du pollen pour ne pas trop ralentir le développement de la colonie (*Segeren et al, 2004*). Le pollen doit être récupéré presque tous les jours, car il est très sensible à l'humidité. Il doit donc être conservé dans un endroit sec, après séchage ou congélation (moins de pertes de ses propriétés).



Figure 17 : Pelotes de pollen (*Bogdanov, 2006*)

2-2 La cire

La cire est le matériau utilisé par les abeilles pour construire leur nid. Elle sert également à operculer des alvéoles (contenant par exemple des larves ou du miel). Les abeilles construisent des rayons du haut vers le bas. Pour se faire, elles se suspendent et forment une chaîne d'abeilles. Pour rappel, la cire est produite au niveau des glandes cirières des jeunes ouvrières, sous forme d'écailles transparentes de 1,5 mm de long sur 1mm de large environ (*Jean-Prost, 2005*).

Lorsqu'une abeille a produit une écaille, elle remonte sur le lieu de la construction pour y ajouter sa cire (Bradbear, 2010). L'écaille formée est récupérée par les pattes postérieures et emmenée à la bouche. Avec ses mandibules, l'abeille malaxe la cire et y ajoute des sécrétions salivaires.

La cire nouvelle est blanche puis devient jaune en raison de la présence de pigments caroténoïdes liposolubles provenant du pollen (Winston, 1993). Avec le temps, la cire deviendra brune et de plus en plus foncée, à cause des cocons filés par les larves à la mue imaginale et de leurs excréments.

La construction de rayons est très coûteuse en énergie pour l'abeille, puisqu'il faut environ 10 à 20 kg de miel et 1 kg de pollen pour fabriquer 1 kg de cire (Gharbi, 2011). C'est pour cela que dans les ruches modernes à cadres mobiles, l'apiculteur fournit des rayons préfabriqués à ses abeilles: la cire gaufrée. Elles pourront ainsi se consacrer au maximum à la production de miel.

Les pays africains produisent des quantités importantes de cire d'abeille. Cela est dû au fait qu'ils pratiquent encore la chasse au miel ou l'apiculture à rayons fixes, où l'extraction manuelle du miel entraîne la destruction des rayons (Bradbear, 2010). Ces derniers ne peuvent être remis dans la ruche et la cire est alors récupérée.

Cependant, les cires synthétiques lui font concurrence sur le marché mondial (Jean-Prost, 2005). D'un point de vue de sa composition, la cire contient plus de 300 composés, dont les principaux sont des esters d'acides gras et d'alcool, ainsi qu'une petite fraction de pollen et de propolis. La cire se ramollit quand la température de la ruche dépasse les 35°C, d'où les nombreux efforts des abeilles pour maintenir la température de la ruche constante.

La cire d'abeille est utilisée dans de nombreux domaines: en cosmétique (40%), dans l'industrie pharmaceutique (30%) pour ses propriétés antibiotiques et anti-inflammatoires entre-autres, ou encore pour faire des bougies (20%) (Bradbear, 2010). Aujourd'hui, le problème des contaminants se pose. A la manière d'une éponge, la cire accumule les pesticides ou résidus de médicaments employés pour lutter contre les maladies apiaires, et notamment les acaricides (Jean-Prost, 2005).



Figure 18 : Cire d'abeille

<https://www.pourlascience.fr/>

2-3 La propolis

Les butineuses récoltent une substance gommeuse, collante, sur les bourgeons de plantes ou la résine des conifères. Cette dernière est transportée sous forme de gouttelettes dans les corbeilles à pollen. Elle est ensuite amalgamée à leur salive, puis mélangée à de la cire pour former de la propolis (50% de résine, 30% de cire) (Jean-Prost, 2005).

Les abeilles l'utilisent pour :

- colmater les trous ;
- réduire les espaces, ce qui facilite la thermorégulation de la colonie ;
- souder la cire aux parois ou souder les rayons entre eux ;
- envelopper les prédateurs morts (souris, frelons...), trop lourds pour être évacués à l'extérieur de la ruche ;
- l'étanchéité du nid. Elles en appliquent à l'intérieur de la ruche.

La propolis a de nombreuses propriétés, entre autres antiseptiques, cicatrisantes, et antibiotique. C'est un produit de la ruche à la fois intéressant et potentiellement gênant pour l'apiculteur. En effet, les abeilles vont combler tous les espaces trop petits ou trop grands, et si les dimensions de la ruche à cadres mobiles ne sont pas exactes, les abeilles peuvent souder les éléments et il devient très difficile de les mobiliser.

Il peut en récolter en grattant des cadres ou de manière plus spécifique, en plaçant une grille dans la ruche, dont les espaces libres vont être bouchés par de la propolis (Jean-Prost, 2005).



Figure 19 : Différente couleurs et apparence de la propolis (Bogdanov et *al.*, 2006)

2-4 La gelée royale

La gelée royale est la substance produite par les nourrices pour alimenter les larves de moins de 3 jours (ouvrières et faux-bourçons y compris), les larves royales et la reine. Toutefois, sa composition diffère selon les castes et l'âge des larves. Elle contient beaucoup

d'eau (50 à 70%), des protides (11-14%), des glucides (11-23%), des lipides (3-5%) dont un acide gras particulier : l'acide 10-hydroxy-trans-2-décénoïque (10H2DA), des vitamines, des minéraux et d'autres substances pas encore identifiées. C'est une sorte de bouillie épaisse, de couleur blanchâtre. Elle est produite par les ouvrières à partir des glandes hypo pharyngiennes (sécrétion claire), et une petite fraction à partir des glandes mandibulaires (sécrétion blanche) de J6 à J12 environ. Les glandes labiales seraient impliquées dans l'élaboration de la gelée royale. Elle permet une croissance exceptionnelle des larves, avec un poids multiplié par 1800 en 5 jours (Jean-Prost, 2005 et Gharbi, 2011).

La méthode de production de gelée royale la plus utilisée est celle de la ruche orpheline. Les abeilles élèveront alors de nouvelles reines. L'apiculteur récolte la gelée royale directement dans les cellules royales (naturelles ou artificielles) sur des larves âgées de 2 à 3 jours, là où la quantité de gelée royale est maximale.

C'est un produit de la ruche très prisé pour ses nombreuses propriétés thérapeutiques: action revitalisante sur le métabolisme, action antioxydant, immunostimulante, antibactérienne, antivirale, antifongique...



Figure 20 : Jeune larve dans sa cellule royale (artificielle) remplie de gelée royale.

https://fr.wikipedia.org/wiki/Gel%C3%A9e_royale

2-5 Le venin

C'est un produit mineur de la ruche. En effet, il faut environ 10 000 abeilles pour récolter 1 gramme de venin (Bradbear, 2010). Il est produit au niveau de la glande acide de l'appareil vulnérant. La glande alcaline ou glande de Dufour jouerait un rôle dans la production de venin (Jean-Prost, 2005). Pour rappel, les faux-bourdons ne sont pas munis de dard. Le venin d'abeille est majoritairement constitué d'eau (85% environ). Il contient de nombreux autres composés dont certains sont volatils (phéromone d'alarme). Une piqûre d'abeille entraîne en général une atteinte locale: douleur, démangeaison, œdème local, et peut être à l'origine d'une toxicité

générale, quelques heures à quelques mois après la piqûre. C'est donc une substance potentiellement dangereuse, notamment en cas de réaction allergique. Il est utilisé dans le traitement des rhumatismes, des arthrites et pour la désensibilisation des allergiques aux piqûres d'abeilles.



Figure 21 : Dard d'ouvrière - extrémité observée au microscope électronique à balayage (Gharbi, 2011)



Figure 22 : Dard implanté dans une peau Humaine (Gharbi, 2011)

Chapitre III : Généralités sur le miel

1- Définition du miel

Selon le *Codex Alimentarius* (2001), le miel est défini comme « *substance sucrée naturelle, produite et traitée par des abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs ou des sécrétions provenant des parties vivantes des plantes ou des excréments laissés par des insectes suceurs qu'elles butinent, transforment et combinent avec des matières spécifiques propres emmagasinées et laissées murir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée.* »

2- Origine du miel

Le miel provient des plantes, et plus précisément, de leur sève. Elle est extraite de deux manières des vaisseaux qui la contiennent par les nectaires qui élaborent le nectar, ou par les insectes parasites qui rejettent du miellat. Les butineuses récoltent le nectar et le miellat en y ajoutant leur salive chargée d'une enzyme, l'invertase (ou saccharase), qui entame la transformation du saccharose en un mélange de glucose et de lévulose. De retour à la ruche, elles distribuent leur récolte aux autres ouvrières, qui se la transmettent à plusieurs reprises par trophallaxie, afin de poursuivre la transformation des sucres par la salive des ouvrières. Ces dernières déposent ensuite le miel dans les alvéoles et le reprennent à plusieurs reprises afin de favoriser l'évaporation de l'eau qu'il contient. Après quelques jours, le miel se concentre en sucres, jusqu'à atteindre un taux de 70 à 80% et perd jusqu'à 14 à 25% de son eau. À ce stade, les alvéoles peuvent être refermés par un opercule de cire. Le miel engrangé dans les hausses de la ruche pourra alors être récolté par un apiculteur, tandis que les abeilles conserveront leurs réserves pour passer l'hiver (Elodie Cavalier 2013).

2-1 La source Nectar

La butineuse a à sa disposition plusieurs types de sources sucrées. La plus connue est le nectar floral. C'est une solution aqueuse, plus ou moins concentrée, dont les sucres représentent habituellement de 20 à 40% (parfois plus de 80%). Cette solution est produite par des tissus glandulaires spécialisés, ou nectaires, généralement localisés au cœur des fleurs. Le type de sucre dépend de l'espèce végétale. Certaines plantes ne produisent qu'un mélange dominé par deux sucres simples : le glucose et le fructose. D'autres sécrètent principalement un disaccharide, le saccharose (sucre blanc de betterave). Un troisième groupe produit ces trois sucres. La composition en sucres va influencer la vitesse de cristallisation du miel.

Le nectar est acide et contient d'autres éléments en très faible quantité (vitamines, pigments, arômes). Ces éléments vont donner au miel sa couleur et ses arômes. (Le traité *Rustica* de l'apiculture)

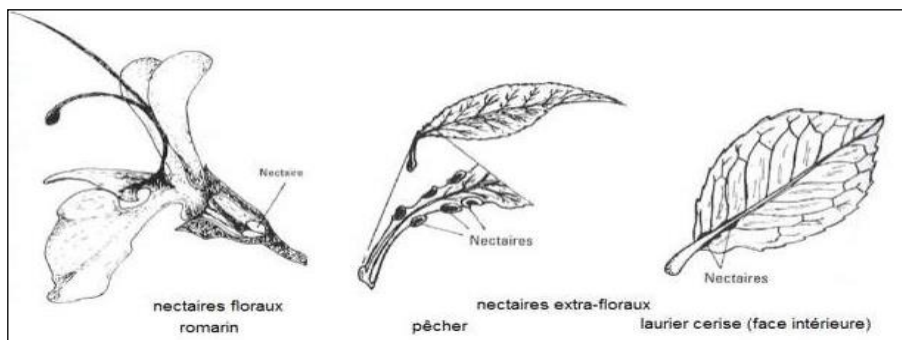


Figure 23: Exemples de nectaires Modifiés (d'après Prost, 2005)

2-2 La source du miellat

L'autre grande source de production de miel provient des excréments laissés sur les végétaux par des insectes suceurs. On parle dans ce cas de miellat. Cette source est généralement sous-estimée par les apiculteurs car le butinage est plus difficile à observer. Il est vrai qu'en présence d'une grande quantité de nectar, les abeilles délaissent le miellat. Mais par temps plus sec, il peut produire des miellées assez importantes. La concentration en sucre est souvent plus élevée, ce qui demande aux abeilles un apport glandulaire assez important pour pouvoir le prélever.

On trouve dans le miellat des sucres plus complexes, qui se sont formés dans le système digestif de l'insecte piqueur. Ce sont d'autres *disaccharides* et des *trisaccharides* tels que l'*erlose* et le *mélizitose*.

La composition du miellat est plus proche de la sève végétale que celle du nectar. Elle est donc plus riche en azote (0,2 à 1,8%), en acide organiques et minéraux. Cela permet d'identifier les miels de miellat. . (Le traité *Rustica* de l'apiculture)



Figure 24 : Les insectes producteurs de miellat blanc (Gharbi, 2011)

3- Production du miel

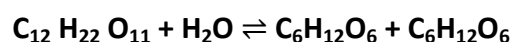
Nous savons que la récolte se fait exclusivement dans les hausses et que, sous aucun prétexte, il ne faut toucher aux provisions contenues dans le nid à couvains. L'enlèvement des hausses doit se faire avant que la grande miellée ne soit terminée, alors qu'il y a encore des fleurs à l'extérieure. La récolte de miel doit se faire quand la majeure partie des cellules sont operculées.

4- Technologie du miel

Depuis quelques dizaines d'années, la commercialisation du miel a cependant subi de profondes transformations. De plus en plus, la production du miel est appelée à passer par des circuits commerciaux complexes qui nécessitent la mise en œuvre de moyen modernes de conditionnement pour assurer une présentation agréable à la fourniture en qualité. L'obtention de très grosses quantités d'un produit homogène et irréprochable nécessite l'application d'une véritable technologie du miel, dont on peut situer la naissance vers 1929 avec les travaux de Dyce sur la cristallisation contrôlée, et qui constitue, à l'heure actuelle, un objet de recherches et de mises au point continues. (LOUVEAUX, 1968)

4-1- Fabrication du miel par l'abeille

Selon Ouchemoukh (2012), Le miel est produit selon le processus suivant : L'abeille butineuse aspire le nectar des fleurs ou le miellat, elle le stocke dans son jabot (figure 25) avec sa salive ce qui le permet de s'enrichir en enzymes. L'élaboration du miel commence dans le jabot de la butineuse où il y a une sécrétion d'une enzyme, l'invertase, qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et en fructose selon la réaction suivante :



De retour à la ruche, les butineuses transmettent le nectar ingéré aux ouvrières qui le régurgitent encore, puis le passent à d'autres abeilles (phénomène de trophallaxie) (figure 26) pour continuer le processus.

La teneur en eau du nectar s'abaisse progressivement jusqu'à atteindre environ 18%, et s'enrichit au même temps en enzymes salivaires. Le nectar qui est quasiment du miel, est ensuite déposé dans des alvéoles qui seront operculées par une couche de cire à fin d'assurer sa conservation (Alvarez, 2010).

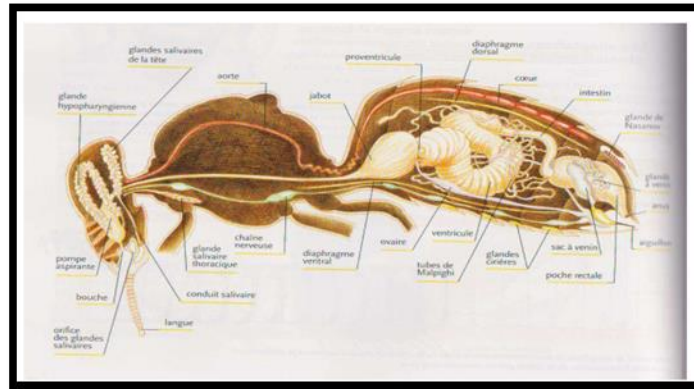


Figure 25 : Les principaux organes de l'abeille (Clément et *al.*, 2006).



Figure 26 : Phénomène de trophallaxie (Cuvillier, 2015).

4-2 La récolte du miel

D'après DONADIEU (1984), La récolte de miel par l'apiculteur a lieu en générale après une miellée (qui correspond au période de production de nectar par la flore susceptible d'en fournir) et lorsque les $\frac{3}{4}$ des alvéoles des rayons de cire sont opercules.

C'est ainsi que le miel est récolté entre le mois d'avril et de novembre, en une a plusieurs fois, La première récolte ne débute habituellement qu'à la fin du mois de mai.

Après avoir enfumé la colonie, la récolte du miel peut s'effectuer essentiellement en quatre étapes (Irlande, 2010 (Annexe 2) :

a- Désoperculassions : L'apiculteur enlève les opercules de cire à l'aide d'un couteau à désoperculer.

b- L'extraction : Les cadres sont ensuite mis dans un extracteur, une sorte de centrifugeuse manuelle ou automatiser, qui permet la sortie du miel des alvéoles.

c- Maturation : Le miel est recueilli dans un maturateur, un simple récipient de décantation surmonté d'un filtre. Il est destiné à retenir les impuretés qui pourraient y être contenues (bulles d'air, fragments de cire...). Ces dernières remontent à la surface du miel et constituent une écume qui sera retirée.

d- Conservation : Le miel est un produit vivant qui subit au cours du temps un certain nombre de modifications aboutissant inévitablement à la perte de sa qualité. Dans la mesure du possible, les locaux de conservation du miel seront secs et aérés. Tous les miels dont le PH est inférieur à 4 conviennent de les garder dans des locaux frais ou à des températures qui ne dépassent pas 20°C. Si le miel à stocker présente un risque de fermentation, il faudra impérativement le pasteuriser ou le conserver dans des températures de 4 à 5 °C (Hoyet, 2005).

5- Les Types de miels

5-1 Les miels mono floraux

Sont élaborés à partir d'une seule espèce végétale, qu'il s'agisse de miel de nectar ou de miellat. Pour l'obtention d'un miel mono floral (Composé de 80% d'une même espèce végétale) il faut placer la ruche près de l'espèce végétale considérée au cours de sa floraison et la récolte doit avoir lieu dès la fin de la miellée (Élodie, 2013). Les miels mono floraux possèdent des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques (Moussaoui, 2011).

5-2-Les miels poly floraux

Ces miels sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent leur origine géographique. Celle-ci indique soit l'aire de production, région, département, massif (Chouia, 2014).

6- Composition et propriétés du miel

6-1 Composition chimique

Selon Bruneau (2011), la composition chimique du miel est très complexe et variable. Elle est influencée par de nombreux facteurs, tel que :

- La race d'abeille ;
- L'état physiologique de la colonie ;
- Origine botanique des plantes butinées ;
- Nature du sol.

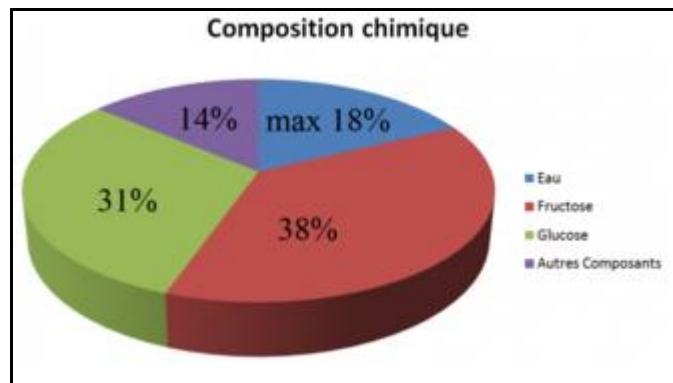


Figure 27 : Composition chimique du miel

6-1-1 Teneur en eau (Humidité)

La teneur en eau est un paramètre très important, elle conditionne la conservation des miels, seul les miels dont la teneur est inférieure à 18% sont de bonne conservation (Gonnet, 1982).

En effet, les cellules de miel sont operculées par les abeilles lorsque sa teneur en eau atteint en moyenne 17 à 18% (Bogdanov et al. 2004).

En générale, la teneur en eau peut osciller entre 15 et 20%, elle est mesuré à l'aide d'un refractomètre .Un excès en eau augmente le risque de fermentation.



Figure28 : Refractomètre électrique

6-1-2 Glucides

Selon **Gonnet (1982)**, les glucides représentent 95 à 99%de la matière sèche du miel. On distingue des :

- **Monosaccharides** : Fructose (38%).
Glucose (31%).
- **Disaccharides** : Saccharose (1.5%).
Maltose (7.5%).
- **Divers sucres** : mélézitose, érlose (présents à l'état de traces).

6-1-3 Acides organiques

Tous les miels contiennent des acides organiques, ces derniers peuvent être libres ou sous forme combinée (sous forme de lactones). Le principal acide organique dans le miel est l'acide gluconique, qui se forme à partir du glucose (Gonnet, 1982).

On trouve aussi d'autres acides organiques telle que : l'acide citrique, malique, maléique, succinique, oxalique, formique (Philippe, 2007).

6-1-4 Protides

Ils sont présents en faible quantité dans le miel (0.26%), et la teneur en azote est négligeable. Il s'agit essentiellement de peptone, d'albumine, de globuline et de nucléoprotéines qui proviennent soit de la plante (nectar, grains de pollen), soit des sécrétions de l'abeille (Meda et al, 2005).

6-1-5 Matières minérales

En générale, les miels clairs sont moins riches en cendres que les miels foncés. Des études ont démontré qu'il existe une relation entre la couleur des miels et leur teneur en cendres. En plus, on peut retrouver à l'état de traces, plusieurs éléments différents parmi lesquels en site : le fer, le cuivre, le cobalt, le chlore, le soufre, le phosphore, le magnésium, le calcium, le sodium, et le zinc (Gonnet, 1982).

6-1-6 Enzymes

Les enzymes présents dans le miel proviennent principalement des sécrétions salivaires des abeilles. On trouve :

***L'amylase (α et β)** : Se sont des enzymes qui dégradent l'amidon en dextrine puis en maltose.

***La gluco-invertase (α glucosidase)** : Elle coupe la molécule de saccharose en glucose et en fructose.

***La gluco-oxydase** : Elle est responsable de l'oxydation de glucose en acide gluconique et en libérant du peroxyde d'hydrogène (Gonnet, 1982).

6.1.7 Vitamines

Le miel est un aliment pauvre en vitamine, elles sont apportées principalement par les grains de pollen. Les plus représentées sont les vitamines hydrosolubles du groupe B : B1, B2,

B3, B5, B6, B8 et B9. Les vitamines liposolubles A, D, E et K se retrouvent en quantités négligeable. La vitamine C est présente à l'état de trace (Cousin, 2014).

6.1.8 Substances pigmentaires

Le miel contient des produits pigmentaires qui appartiennent aux groupes des caroténoïdes et des flavonoïdes, ils participent pour une faible partie à la coloration du miel. (Louveaux, 1959).

6.1.9 Substances aromatiques

Les substances aromatiques, comme leur nom l'indique, sont l'origine de l'arome et le gout spécifique du miel, elles peuvent permettre d'identifier l'origine des miels, car elles proviennent presque exclusivement de la plante (Huchet et *al.*, 1996).

6.1.10. Matières pigmentaires

Le miel contient principalement des produits pigmentaires qui appartiennent aux groupes des caroténoïdes et des flavonoïdes. Ils sont responsables de la coloration du miel.

6.1.11 Lipides

Très faiblement présent, il s'agit majoritairement des stérols, des glycérides ou des acides gras (Louveaux, 1959).

6-2 Propriétés physico-chimiques du miel

Les caractéristiques physico-chimiques des miels sont très importantes, leur interprétation permet de déduire non seulement l'état de fraîcheur du miel mais également ses conditions optimales de conservation ainsi que sa qualité. Certains entre eux participent aussi à l'identification de l'origine florale d'un miel.

6-2-1 Densité

La densité du miel varie environ de 1,39 à 1,44 à 20°C. Le miel est un produit proportionnellement dense. La densité varie de la teneur en eau. Plus un miel est riche en eau, moins il est dense (Gonnet, 1982).

6-2-2 Viscosité

La viscosité du miel dépend de trois facteurs qui sont, sa teneur en eau, sa composition chimique et de sa température.

La viscosité est très élevée à basse température. Elle décroît rapidement lorsque la température augmente (Gonnet, 1982).

6-2-3 La coloration

Constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. Il va du jaune très pâle au brun très foncé mais est le plus souvent blond.

6-2-4 La saveur

Plus ou moins sucrée et aromatique, d'odeur variable

6-2-5 La conductibilité thermique

C'est la propriété d'un corps de permettre le passage du courant électrique. Elle est en fonction de la teneur du miel en matières ionisables. La conductivité électrique se mesure à l'aide d'un conductimètre (figure 29) et s'exprime en *microsiemens /cm*. La conductivité électrique est utilisée pour caractériser les miels de miellat et elle est aussi utilisée pour différencier certains miels de fleurs. Selon l'origine florale des miels, la conductivité varie de 1 à 15 $\mu\text{S}/\text{cm}$ (Gonnet, 1982).



Figure 29 : Conductimètre

6-2-6 Conductivité thermique

C'est la propriété d'un corps de permettre la diffusion de la chaleur dans sa masse. La conductivité du miel est relativement faible. Le miel est mauvais conducteur de la chaleur, il est donc bon isolant thermique (Gonnet, 1982).

6-2-7 Le pH

Le pH d'un miel est en fonction de la quantité d'acide ionisable qu'il renferme (ions H^+) ainsi que de sa composition minérale (ions OH^-).

- Le pH du miel de nectar varie de 3,5 à 4,5.
- Le pH du miel de miellat varie de 4,5 à 5,5. (Gonnet, 1982).



Figure 30 : pH-mètre

6-2-8 Cristallisation

La cristallisation de miel est un phénomène naturel, elle se fait à partir des cristaux primaires de glucose qui sert d'amorces et à partir desquels d'autres cristaux se former, se multiplier et grossir (Louveaux, 1968). Elle dépend des facteurs suivants :

a. La teneur en sucre

Plus la teneur en glucose est élevée, plus la cristallisation du miel sera rapide, mais aussi plus le rapport fructose / glucose est élevée, plus la cristallisation est lente. En règle générale, le miel reste liquide au-dessus d'un rapport fructose / glucose proche de 1,3 (Bogdanov, 1999).

b. La température

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18°C. Une température constante de 14°C est idéale pour un miel à teneur en eau moyenne. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent leur dissolution. Elles disparaissent totalement à 78°C (Huchet et *al.*, 1996).

c. La teneur en eau

Les miels dont leur teneur en eau est de 15 à 18% ont une bonne cristallisation. Les miels avec une teneur en eau inférieur ou supérieur se cristallisent plus lentement (Bogdanov, 1999).

6-2-9 Hygroscopicité

Comme toutes les solutions sursaturées le miel tend vers en état d'équilibre environnant. Selon le degré hygrométrique de cette atmosphère il tendance à absorber ou à perdre de l'eau.

7- Propriétés du miel

Tout d'abord, le miel présente une innocuité absolue et une parfaite tolérance, même à doses très élevées. De plus, il peut prétendre à de nombreux avantages nutritionnels et énergétiques. Ainsi, il aurait une action dynamisante, apéritive, anti-oxydante (par le bêta-carotène, les polyphénols...), facilite l'assimilation d'autres aliments grâce à la présence d'enzymes (amylase...), exerce une action positive sur la croissance staturo-pondérale de l'enfant en bas-âge, améliore l'assimilation du calcium et du magnésium dans les os, a des actions antianémique (fer, vitamines B6 et B9), antiseptique, antitoxique, digestive (réduit l'acidité gastrique), béchique, émolliente, fébrifuge, laxative, cardio-protectrice (vitamines B6 et B9 préservant la fluidité sanguine), hépato-protectrice, sédative, cicatrisante, hypotensive.

7-1 Propriétés biologiques

Le miel est considéré comme un produit naturel qui fait partie de la médecine traditionnelle depuis la nuit du temps. Le rôle bénéfique de miel est partiellement attribuable activités de ses composants bioactifs. La quantité et le type de ses composés dépend largement de la source florale / variété de miel, les facteurs saisonniers et environnementaux, ainsi que les conditions de traitement et de stockage. (Gheldof et *al*, 2002; Silici et *al*, 2010; Lachman et *al*, 2010; Khalil et *al*, 2010; Ulloa, 2012).

7-2 Propriété anti-oxydante

De jour en jour la demande de produits naturels augmente pour une alimentation saine, à la fois en raison des effets négatifs possibles d'additifs alimentaires synthétiques sur la santé humaine et de la perception du consommateur accrue de ce problème au cours des dernières années (Baltrušaitytė et *al*, 2007; Ertürk et *al*, 2014). Le miel est à la tête de la liste de ces types de produits naturels.

Selon des études récentes, les substances anti oxydantes disponibles dans diverses sources naturelles et les aliments peuvent effectivement représenter un moderne «fontaine de jouvence». Les preuves suggèrent que les vitamines C et E et le bêta-carotène, un précurseur de vitamine A, peut réduire le risque de certaines formes de cancer, les maladies cardiaques, accidents vasculaires cérébraux, et les cataractes et peut ralentir le processus de vieillissement.

7-3 Propriété antibactérienne

Le miel a des propriétés antibactériennes connues depuis plus d'un siècle. Quoiqu'utilisé dans de nombreuses cultures depuis des millénaires, son efficacité avait été constatée sans reconnaissance de ses propriétés antibactériennes. (Assie, 2004).

Le miel est un bactériostatique et bactéricide. Son activité est attribuée à l'osmolarité élevée, l'acidité et à la composition chimique (tel que le peroxyde d'hydrogène, les acides organiques, les substances volatiles, des composés phénoliques, de cire d'abeille, nectar, pollen et propolis).

Les variations dans le type et le niveau de l'activité antimicrobienne du miel sont associés à leurs origines florales, l'emplacement géographique de la source florale, l'âge et la santé de la colonie (White, 1956; Bogdanov, 1997). L'activité antibactérienne du miel de nectar est plus influencée par la chaleur, de la lumière et le stockage que le miel de miellat (Bogdanov, 2009).

L'action antibactérienne du miel est déterminée par plusieurs facteurs et quatre d'entre eux sont mis en avant: l'osmolarité, le pH acide, la présence du système peroxyde d'hydrogène, la présence du système non-peroxyde.

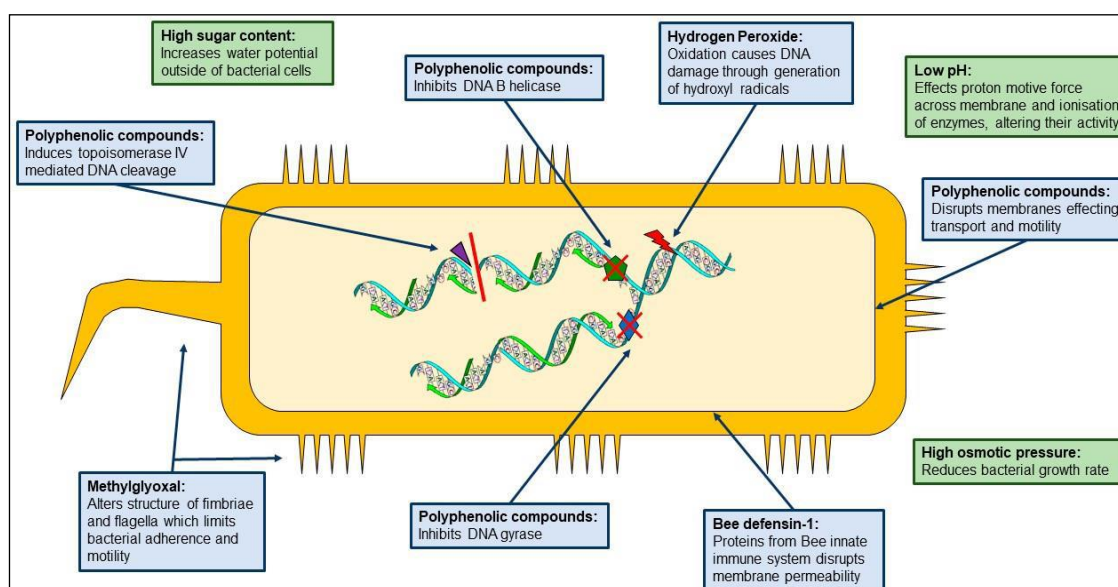


Figure 31 : Les principaux composants attribués à l'activité antimicrobienne du miel et leurs mécanismes d'action. Les facteurs inhibiteurs directs affectent les mécanismes cellulaires (en **bleu**), les facteurs inhibiteurs indirects ont un effet à plus grande échelle sur la cellule bactérienne (en **vert**).

7-4 L'activité antifongique

Le miel été utilisé depuis l'antiquité pour le traitement de plusieurs maladies, il est capable d'éliminer et d'inhiber complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida Albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (Molan, 1992).

8- Mécanisme d'action du miel contre l'infection

Les expériences cliniques ont montré l'efficacité du miel dans le processus anti-infectieux et dans la guérison. Or nous savons que dans le cas de brûlures, les bactéries Gram⁺ sont les premiers à coloniser la plaie, issues de la flore cutanée endogène ou de l'environnement externe. Elles sont ensuite suivies par les bactéries Gram⁻ provenant de la flore gastro-intestinale dans les jours qui suivent. Donc, que se soit le germe, le miel lutte contre toutes sortes de micro-organismes.

La prolifération des lymphocytes B et T dans le sang ainsi que l'activation des phagocytoses est stimulée par le miel à des concentrations de 0,1%. A une concentration de 1%, le miel peut stimuler les monocytes à sécréter des cytokines, des IL-1 et des IL-6 qui activent la réponse immunitaire contre l'infection (Delphine, 2010).

8-1 Facteurs responsables de l'activité antimicrobienne du miel

Le miel a été étudié pour préciser quels étaient les composants responsables de l'activité antagoniste contre les micro-organismes pathogènes.

Cette activité antimicrobienne est attribuée à la fois aux facteurs physiques, aux facteurs chimiques, les inhibines non peroxydes, le pollen, la propolis, qui apportent des molécules actives tel que les polyphénols et les flavonoïdes.

8-1-1 Facteurs physiques

a) L'osmolarité

Le miel est une solution saturée de sucre, composé de 84% d'un mélange de glucose et fructose. La teneur en eau n'est que de 15 à 20%.

Les fortes interactions de ces molécules de sucre avec des molécules d'eau laissent très peu de molécules d'eau disponible pour les microorganismes. Cette eau libre est mesurée comme étant l'activité de l'eau (a_w) qui est de 0,562 à 0,62 pour le miel. Dans le cas où le miel présente une forte teneur en eau certaines levures peuvent vivre et causer sa détérioration, si l' (a_w) est de l'ordre de 0,94 à 0,99 la croissance de nombreuses espèces bactériennes est complètement inhibée. D'autre part, certaines espèces ont un taux de croissance maximale lorsque l' (a_w) est de 0,99, donc, l'inhibition par l'effet osmotique de solution de miel dépend évidemment de l'espèce bactérienne (Molan, 1992).

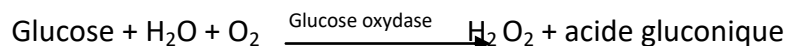
b) L'acidité

Le miel est caractéristiquement tout à fait acide, il présente la plupart du temps un PH peu élevé de 3 à 4, les bactéries ne peuvent se multiplier dans un milieu aussi acide. Cependant certains miels ont un PH nettement plus élevé compris entre 5 et 6 (miel de miellat), ceux-ci possèdent tout de même un effet antibactérien (Bogdanov et *al.*, 2001).

8-1-2 Facteurs chimiques

a) Inhibine peroxyde ou peroxyde d'hydrogène

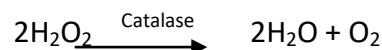
Le peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), aussi appelée l'eau oxygénée, est considérée le principal agent antibactérien retrouvé dans la plupart des miels. L'eau oxygénée et l'acide gluconique résultent de l'oxydation de l'eau et du glucose. Cette oxydation est provoquée par le glucose oxydase qui est une enzyme du miel secrété par la glande nourricière de l'abeille qui est ajoutée lors de transformation du nectar en miel.



Le glucose oxydase n'est pas active dans le miel pur, en revanche l'enzyme devient active quand le miel est dilué.

L'enzyme est sensible à la lumière et à la chaleur, il est donc important de stocker le miel dans un endroit frais et à l'abri de la lumière (Molan, 1992).

La catalase est une enzyme présent dans de nombreux miel, elle réduit l'eau oxygénée, donc la concentration de peroxyde d'hydrogène dépend directement de l'activité de ces deux enzymes (Bogdanov et Blumer, 2001).



L'eau oxygénée se forme uniquement dans le miel non mûr, le miel mûr ne contient que des petites quantités d'eau oxygénée inhibant que faiblement la croissance bactériennes. (Bogdanov et Blumer, 2001).

b) Inhibine non peroxyde

La majeure partie des propriétés antimicrobiennes du miel mûr sont probablement assurée par les inhibines non peroxydes, qui sont peu sensible à la variation thermique, à l'exposition à la lumière et à la durée de stockage. Parmi les substances non peroxydes on cite les lysozymes les composants phénoliques, les flavonoïdes, les acides phénoliques, les acides aromatiques et d'autres composants indéterminés (Bogdanov et Blumer, 2001).

c) Les composants phénoliques

Les composés phénoliques sont des molécules organiques spécifiques du règne végétal (Bogdanov et Blumer, 2001). comprenant au moins 8000 différentes structures connues, généralement de haut poids moléculaire et présents dans tous les organes de la plante à faible doses. Les composés phénoliques du miel sont les acides phénoliques (acides benzoïque) et les flavonoïdes, qui sont considérés comme des marqueurs potentiels de son origine botanique

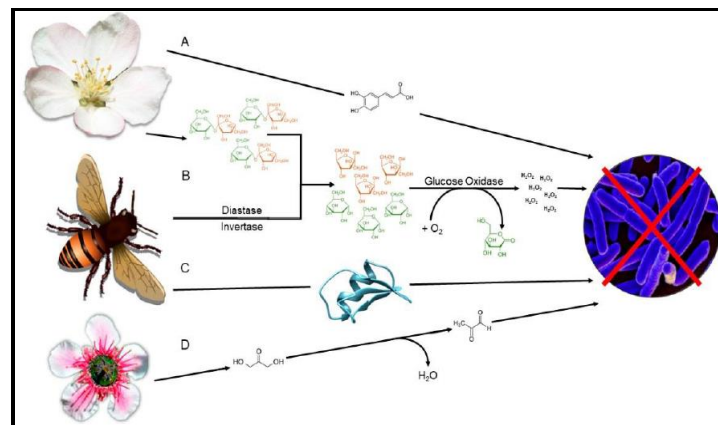


Figure 32 : Acquisition de composés antimicrobiens dans le miel. **(A)** Les composés polyphénoliques dérivés de la plante sont transférés par l'abeille. **(B)** Le saccharose de la fleur est ingéré par l'abeille et décomposé en glucose et en fructose par l'ajout de diastase et d'invertase par l'abeille. Le glucose est oxydé par la glucose-oxydase lors de l'ajout d'oxygène, ce qui produit de la D-glucono- δ -lactone et du peroxyde d'hydrogène. Le peroxyde d'hydrogène a une activité antimicrobienne. **(C)** La défensine-1 est ajoutée au miel par l'abeille (Swissmodel 6mry.5.A). **(D)** La dihydroxyacétone est récoltée à partir de *Leptospermum sp.* et convertie de manière non enzymatique en méthylglyoxal par une réaction de déshydratation.

8-2 La relation entre la source florale et l'activité antimicrobienne du miel

Il ya eu plusieurs études qui ont prouvés que le miel foncé des forêts de conifère des régions montagneuses d'Europe centrale ont particulièrement une activité antimicrobienne très élevée. Ce miel n'est pas d'une source de nectar, mais de miellat, produit par des pucerons suçant la sève des feuilles des arbres, de même le miel de la châtaigne (*Castanea sativa*), d'une couleur foncé qui provient de nectar a été également signalé comme un miel d'une forte activité antimicrobienne, un autre miel de couleur sombre, le miel de manuka (*Leptospermum scoparium*) en Nouvelle-Zelande, a aussi un haut niveau d'activité antimicrobienne (Dustman, 1979).

Chapitre I : Matériels et Méthodes

1-Objectif de travail

L'objectif de notre étude est de réaliser des analyses physico chimique et pollinique de quelques miel de différentes régions d'Algérie et de démontrer le pouvoir inhibiteur de ces miel sur activité antibactérienne et plus précisément ; les bactéries responsable des différentes des types de mammites chez la vache laitières.

Concernant, la première étude sur les analyses physicochimiques et pollinique du miel, cette activité a été réalisée en Novembre 2019 au niveau du laboratoire d'Apiculture de la Division de Recherche en Productions Animales de l'INRAA, par contre, l'activité concernant le pouvoir anti bactérien du miel n'as pas pu être réalisée pour cause de pandémie du la Covid- 19 depuis Mars 2020, qui a engendré la fermeture des laboratoires de toutes les Universités et Instituts à travers tout le territoire Algérien.

2-Matériel et méthodes

- **Lieu d'étude**

Les analyses physicochimique et pollinique du miel de notre étude ont été effectuées au niveau de laboratoire d'Apiculture de la Division de Recherche en Productions Animales du CRP Mehdi Boualem, INRAA de Baraki (Figure 33), concernant les analyses bactériologiques, elles devaient être réalisées au niveau de l'ITELV de Baba Ali.



Figure 33 : Laboratoire d'Apiculture de la Division de Recherche en Production Animale de l'INRAA.

2-1-Matériel

2-1-1-Matériel non biologique (Annexe 3).

2-1-2-Matériel biologique

❖ Le miel

• Origine des échantillons de miel

Notre étude a porté sur l'analyse de 06 échantillons de miel, de quatre régions géographiques de l'Algérie à savoir : Djelfa, Boussada, Bejaia, Tizi ouzou (Figure 34).



Figure 34 : Echantillons de miel analysés

Un code a été attribué à chaque échantillon, dans le but de faciliter leur manipulation durant les différentes analyses au laboratoire, comme le montre le Tableau 3.

Tableau 3 : Codification des échantillons étudiés.

Echantillons	régions de récolte	Date de récolte	origine florale supposée
Ech 1	Djelfa	Juin 2019	miel Jujubier
Ech2	Boussada	Juillet 2019	miel d'Euphorbe
Ech3	Bejaia	Octobre 2018	miel de Foret
Ech4	Djelfa	Juin 2019	miel de Harmel
Ech 5	Azefoun	juin 2018	miel toutes fleurs
Ech 6	Tizi Ouzou	juillet 2018	miel d'Eucalyptus

• Conditions de stockage

Les miels sont, dès leur réception au niveau de laboratoire, stockés dans des boîtes hermétiquement fermées, à l'abri de la lumière et à une température ambiante.

2-2-Méthodes

2-2-1-Analyses physico-chimiques

2-2-1-1-Teneur en eau (Norme Algérienne NA 19410 2018)

La méthode est basée sur la relation entre l'indice de réfraction et l'humidité, en effet il est admis que l'indice de réfraction augmente avec l'augmentation du taux de solide soluble, il est donc inversement proportionnel au taux d'humidité.

a) Préparation de l'échantillon

Homogénéiser le miel, l'échantillon correctement préparé est mis dans un petit flacon, ce dernier est correctement fermé puis placé dans un bain à 50°C ($\pm 0,2^\circ$) jusqu'à disparition totale des cristaux de sucre. Refroidir jusqu'à ce que le miel retourne à la température ambiante puis bien mélanger avant de le mettre sur le prisme du réfractomètre.

b) Détermination

Le prisme du réfractomètre est convenable et délicatement nettoyé avec de l'eau distillée et bien séché. Le bain à circulation réglé à 20°C est branché au réfractomètre, jusqu'à équilibre des températures. (Un thermomètre est placé pour contrôler la température). Directement après homogénéisation du miel couvrir la surface du prisme par une goutte de miel exempte de cristaux, laisser s'équilibrer les températures pendant 2 min, puis lire l'indice de réfraction à 0,0001 chiffre près.

Faire deux répétitions et prendre la moyenne de la lecture pour extraire l'humidité de la table de Chataway (Annexe 5), si la lecture se trouve entre 2 valeurs du tableau, faire une interpolation.

Note : Cette procédure décrit la méthode de mesure simultanée du pH et de l'acidité libre de miel. Elle s'applique à tous les types de miel (Norme Algérienne NA 19410 2018).

2-2-1-2-Acidité libre et pH (méthode par titrage jusqu'à pH 8.3)

a) Préparation de l'échantillon

Homogénéiser le miel. Dissoudre 10 g de miel dans 75 ml d'eau distillée dégazée (20°C) dans un bécher de 250 ml. Une agitation convenable est assurée par le barreau magnétique, puis l'électrode de pH mètre y est immergée, le pH est ainsi enregistré avec deux décimale. Garder l'électrode dans le bécher pour la suite de l'expérimentation.

b) Détermination de l'acidité libre

La solution précédemment cité, est titrée avec de NaOH (0,1N) jusqu'au pH de 8,3, le volume enregistré, mesuré à 0,20 ml près, servira au calcul de l'acidité libre. Le titrage doit se faire en continu et ne doit pas dépasser 2 min au risque de fausser le résultat par la comptabilisation de l'acidité liée. L'acidité libre sera calculée comme suit :

$$\text{Acidité libre (meq/Kg)} = V \times 10$$

Où V : volume de titrage (ml) et 10 : 0,1 (Normalité) * 100 (facteur pour rapporter les résultats à 1 kg de miel)

2-2-1-3-Conductivité électrique (Norme Algérienne NA 19410 2018)

La conductivité électrique d'une solution de 20 g de matière sèche de miel dans 100 ml d'eau distillée est mesurée en utilisant une cellule de conductivité électrique. La détermination est basée sur la mesure de la résistivité électrique qui est une notion réciproque de la conductivité. La méthode est basée sur le travail original de VORWHOL.

a) Préparation de l'échantillon

Homogénéiser le miel, dissoudre dans un bécher l'équivalent de 20 g de matière sèche de miel dans l'eau distillée puis les transvaser quantitativement dans une fiole de 100 ml et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée. Si nécessaire, pour utiliser une plus faible quantité de miel une solution 1/5 (poids/volume) est préparée.

b) Détermination

Prendre 40 ml de la solution et la mettre dans un bain Marie à 20°C. Rincer l'électrode avec le reste de la solution, puis immerger l'électrode dans la solution de miel et lire la conductivité électrique à l'équilibre en mS.cm^{-1} ou $\mu\text{S.cm}^{-1}$.

- ✓ Pour éviter les phénomènes de polarisation, le temps de lecture doit être le plus court possible.

- ✓ Corriger la lecture si la température de la solution est différente de 20°C, pour les T >20C
- ✓ Soustraire 3,2 % de la valeur de CE par °C, pour T > 20 rajouter 3,2 % de la valeur de CE par °C.
- ✓ Pour éviter l'influence de conductivité de l'eau distillée, mesurer toujours la conductivité de cette dernière, elle ne doit pas dépasser 4 à 6.

c) Expression des résultats

Les résultats sont exprimés à $10 \mu S.cm^{-1}$ près (0,01 mS.cm⁻¹).

2-2-1-4-Teneur en Hydroxyméthylfurfural (HMF) (Norme Algérienne NA 19410 2018)

Cette procédure décrit la méthode de mesure de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) par spectrophotométrie dans l'UV, elle est appelée méthode de White. Elle s'applique à tous les types de miel.

La mesure de la teneur en HMF est basée sur la détermination de l'absorbance spécifique de la molécule à 284 nm ; pour cela on détermine la différence entre l'absorbance d'une solution de miel claire (échantillon) et celle de la même solution contenant de bisulfite de sodium (blanc de lecture) qui a pour rôle de détruire l'hétérocycle de l'HMF. Cette méthode est basée sur le travail original de White (1979).

a) Détermination

Peser 5 g de miel Homogénéisé à 0,01g près dans un bécher de 50 ml. Dissoudre dans 25 ml d'eau distillée et transférer cette quantité dans une fiole jaugée de 50 ml. Ajouter 0,5ml de la solution de Carrez I et mélanger. Ajouter 0,5ml de la solution de Carrez II et mélanger puis compléter jusqu'au trait avec de l'eau distillée (une goutte d'éthanol peut être ajoutée pour éliminer la mousse). Filtrer la solution en utilisant un papier filtre et en jetant la première dizaine de ml du filtrat. Pipeter 5 ml de la solution filtrée dans deux tube à essais (18×150 mm). Dans le premier tube, ajouter 5 ml d'eau distillée et mélanger (solution, échantillon). Dans le second tube ajouter 5 ml de la solution de bisulfite (0,2 %) et homogénéiser (solution de référence) (Figure 35). La dilution de l'échantillon et de la référence est effectuée comme montré dans le tableau suivant :

Tableau 4: Préparation de l'échantillon et du blanc pour la mesure du HMF.

Ajouts au tube à essai	Solution échantillon	Solution de référence
Solution de miel filtrée (ml)	5	5
Eau distillée (ml)	5	0
Solution de bisulfate de sodium (0,2%) (ml)	0	5

On détermine l'absorbance de la solution échantillon contre celle de référence à 284 et 336 nm dans des cellules en quartz (10 mm) au plus tard dans l'heure qui suit la préparation.

Si la valeur de l'absorbance à 284 nm dépasse la valeur de 0,6 ; on dilue, dans les mêmes proportions, la solution échantillon avec de l'eau distillée et la solution de référence avec du bisulfite de sodium. Ceci est dans le but d'obtenir une absorbance suffisamment faible pour la mesure photométrique. Les résultats de l'HMF sont exprimés en mg/kg à une décimale près.

Si une dilution D est nécessaire, elle est calculée par : $D = \text{volume final de la solution diluée} / \text{volume initial de la solution du miel utilisé pour la dilution}$.

b) Expression des résultats

$$\text{HMF en mg/kg} = (A_{284} - A_{336}) \times 149,7 \times 5 \times D/p$$

Où :

A₂₈₄ : Absorbance à 284 nm.

A₃₃₆ : Absorbance à 336 nm.

D : Facteur de la dilution (si la dilution est nécessaire).

5 : Poids nominal de miel utilisé pour la méthode en g.

$149,7 = \frac{126 \times 1000 \times 1000}{16830 \times 10 \times 5}$ = constante de calcul (mg/kg) déduite de la loi de Beer Lambert

126 : Masse moléculaire du HMF

16830 : l'absorptivité molaire ϵ du HMF à $\lambda = 284$ nm

1000 : Conversion des grammes en milligrammes

1000 : Conversion de grammes de miel en kilogramme

10 : Conversion de 5 à 50 ml

5 : Masse théorique de l'échantillon de miel



Figure 35: Les différentes étapes du dosage de l'HMF .

2-2-2-L'analyse pollinique (Von der Ohe et *al.*, 2004)

10 g de miel (pesés à 0,1 g près) sont dissous dans 25 ml d'eau distillée, la solution obtenue est centrifugée pendant 10 min, et le liquide restant est séparé du sédiment par versement rapide. Pour une meilleure élimination des sucres du miel il est recommandé de reprendre le dépôt par 20 ml d'eau distillée, de le transvaser dans un tube à centrifugation et centrifuger à nouveau pendant 10 min, à l'aide d'une pipette on porte le culot d'une façon quantitative sur une lame où on le répartit sur une surface d'environ 20×20 mm. Après séchage sur une plaque chauffante (afin d'éliminer l'eau restante) quelques minutes, on verse une goutte de glycérine sur une lamelle puis on couvre la lame avec cette dernière, en dernier seller la lamelle avec du vernis.

Examen microscopique

L'examen au microscope est effectué à l'agrandissement qui est le plus apte à identifier les différents éléments dans les sédiments (400 X) (Figure38).

Après une inspection générale de la lame pour vérifier sa lisibilité, une identification systématique par ligne est faite afin de déterminer les types et la densité des grains de pollen. L'identification et comptage des grains de pollen pour qu'il soit statistiquement représentatif doit se faire sur 5 lignes parallèles équidistantes (Figure 36) réparties uniformément d'un bord de la lamelle à l'autre, jusqu'à ce que 500 grains ou plus soient comptés. Si le compte n'est pas atteint, désigner cinq autres lignes et continuer le comptage. [AFNOR, 1982]

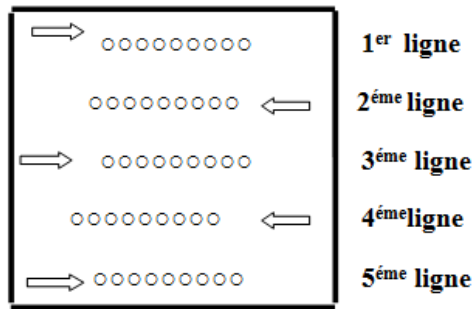


Figure 36 : Organisation de lame pour un examen microscopique représentatif
(AFNOR, 1982)

- Toute la quantité du sédiment doit être répartie sur une seule lame.
- Le but des deux lavages c'est d'enlever les sucres présents dans le miel.
- Le rôle de la glycérine c'est de mettre en suspension les pollens pour une bonne observation.

L'analyse microscopique nous indique tous les sédiments présents sur la lame (pollen, débris de plante, débris d'insecte et de sable ainsi que les pollens non identifiés) (Figure 37). Pour l'identification de l'origine florale on ne compte que les pollens des espèces nectarifères et les pollens non identifiés, le pourcentage de chaque espèce est calculé comme suit :

$$\frac{\text{nombre de pollen de chaque espèce}}{\text{nombre total des pollens}} \times 100$$

Pour classer les pollens de chaque espèce (dominant, rare, isolé important), l'observation doit porter sur 500 à 1200 grains.



Figure 37 : Solution du miel après centrifugation (dépôt d'culot).



Figure 38 : Observation des pollens au microscope optique.

Chapitre II : Résultats et discussions

1-Résultats globaux des analyses physico-chimiques de qualité

Les paramètres physico-chimiques les plus importants ont été mesurés pour les six échantillons de miel à savoir : l'humidité, la conductivité électrique, pH, l'acidité libre et l'HMF. Les résultats obtenus sont résumés dans le tableau 5.

Tableau 5: Résultats des analyses physico chimique des miels étudiés

	Humidité (%)	pH	Al (meq/kg)	CE ($\mu\text{S.cm}^{-1}$)	HMF (mg/kg)
Ech1	15.0	5.7	12.5	563	7.9
Ech2	17.6	3.84	19.5	220	7.2
Ech 3	17,6	3.81	29	482	17.5
Ech 4	16.2	4.51	14	445	5.1
Ech 5	16.8	4.04	31	590	16
Ech6	22	3.92	47	850	17

a) Teneur en eau (Humidité)

Les résultats de la teneur en eau, sont représentés sur la figure 39.

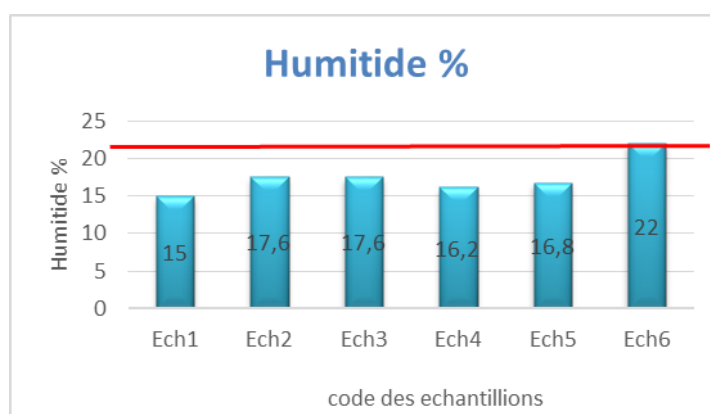


Figure 39 : Valeurs de la teneur en eau des échantillons de miel étudiés.

Selon la Norme Algérienne NA 15304 (2016) inspirée du *Codex Alimentarius* les miels doivent avoir un taux d'humidité inférieur ou égal à 18 %. Notons par ailleurs que l'humidité des échantillons de miels Ech1, Ech2, Ec3, Ech4 et Ech5 sont aux normes, ceci va dans le sens

ou les conditions pédoclimatiques (chaleur, humidité relative basse) favorisent le bon murissement et donnent des miels très peu humides ce qui favorise une longue conservation. De ce fait ils ne subissent pratiquement pas de fermentation s'ils sont stockés dans de bonnes conditions.

En général, les miels jujubier d'Algérie ont des seuils d'humidité assez faible allant de 14 à 16 % ce qui élimine le risque de fermentation et leurs assure de bonne aptitude à la conservation (Haderbache and Kabli, 2019) c'est le cas de l'Ech1 (miel de jujubier) avec une humidité à 15%.

Contrairement à l'échantillon Ech 6 récolté dans la région d'Azeffoun qui représente la plus forte teneur en eau (22%). Cette valeur dépasse les limites normales préconisée Norme Algérienne NA 15304 (2016) inspirée du *Codex Alimentarius*. Ceci peut être expliqué par la récolte du miel avant sa maturité complète dans les alvéoles, ou par l'extraction de ce miel dans un endroit humide ou dans une région où le taux d'humidités est très élevé. Etant donné que le miel est très hygroscopique.

1-2-Conductivité électrique

Les résultats de la conductivité électrique, sont représentés sur la figure 40.

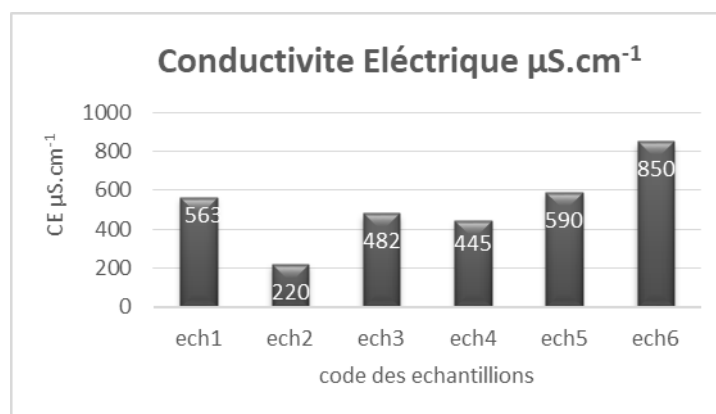


Figure 40: Valeurs de la conductivité électrique des échantillons de miel étudiés

Selon les normes algériennes NA 15304 et le *CODEX-ALIMENTARIUS* (1993)

- Les miels de nectar doivent avoir une conductivité électrique qui ne dépasse pas les $800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.
- Les miels de miellat et mélanges (nectar-miellat) une conductivité électrique pas moins de $800 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$.

La conductivité électrique nous renseigne sur la richesse en minéraux et aussi en acide et toutes les entités susceptibles de conduire le courant électrique.

D'après Chakir et *al.* (2011) la conductivité électrique des miels de jujubier a une moyenne de $654 \mu\text{S}\cdot\text{cm}^{-1}$, l'Ech1 a une conductivité électrique de 563 ce qui confirme son origine botanique (jujubier).

Les échantillons Ech1, Ech2, Ech3, Ech4 et l'Ech5 représentent des valeurs inférieures à $800 \mu\text{S}/\text{cm}$ ce qui démontre que ce sont des miels d'origine nectarifère. Par contre le miel Ech6 qui représente une conductivité de $850 \mu\text{S}/\text{cm}^{-1}$ est considéré comme un miel d'origine mixte où le nectar est dominant.

1-3-pH

Les résultats des pH des quatre échantillons de miel, sont représentés sur la figure 41.

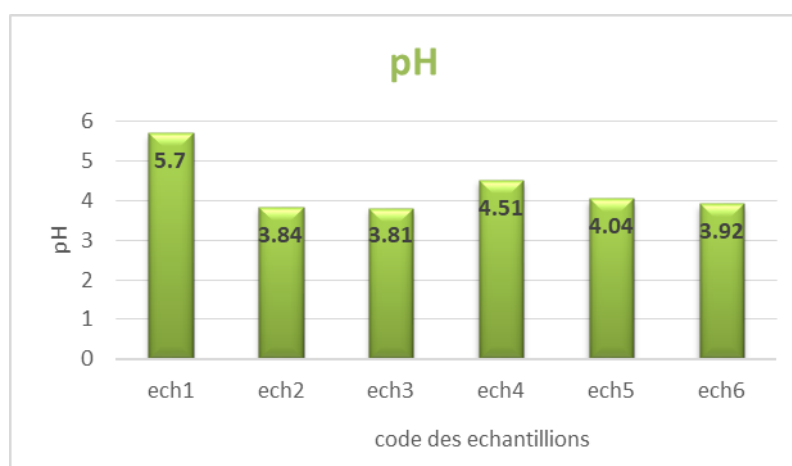


Figure 41: Valeurs de pH des échantillons des miel étudiés.

Selon Zerrouk et *al.* (2017) le pH varie entre 3,0 et 4,5 dans les miels de nectar et il est supérieur à 5 dans ceux du miellat.

D'après les résultats nous remarquons que l'éch1 (miel de jujubier) présente un pH de 5,7 c'est à dire supérieur à 4,5. C'est une valeur spécifique aux miels de jujubier. Ce type de miel est légèrement acide malgré qu'il soit un miel de nectar.

Concernant, les Ech2, Ech3, Ech4, Ech5 et Ech6 leurs pH oscillent entre 3,92 et 4,51. Nous pouvons ainsi dire, que nos échantillons présentent vraisemblablement une origine nectarifère.

1-4-Acidité libre

Les résultats de l'acidité libre, sont représentés sur la figure 42.

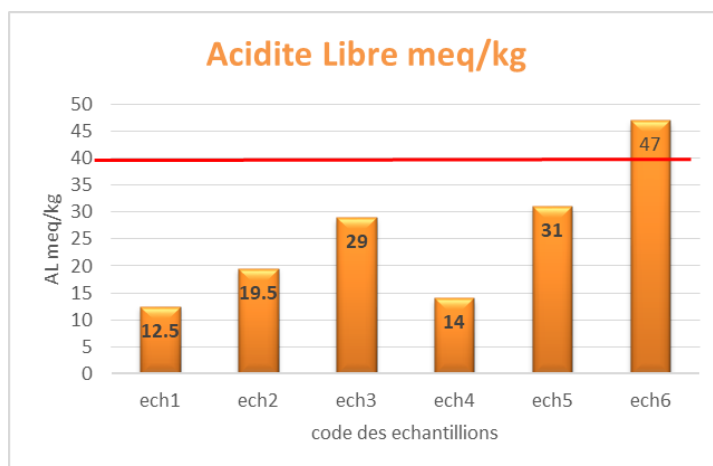


Figure 42 : Valeurs de l'acidité libre des échantillons de miel étudiés.

Selon les normes algériennes NA 15304, l'acidité libre des miels de nectar doit être inférieure à 40 meq/Kg et inférieure à 50 meq/kg pour les miels de miellat.

Les résultats obtenus présentent des valeurs d'acidité qui varient entre 12,5 et 47 meq/Kg pour les miels analysés. la valeur de 12,5 pour l'Ech 1 (Miel de jujubier), (valeur très basse) elle confirme les résultats trouvés par Haderbache et *al.* (2013) qui montrent que le miel de jujubier se différencie des autres miels de nectar avec un taux bas d'acidité libre.

Concernant, L'échantillon Ech6, présente une valeur qui est un peu élevé (47mécq /kg), cette valeur peut être expliquée par son vieillissement.

1-5-Taux d'HMF

Les résultats du taux de l'HMF, sont représentés sur la figure 43.

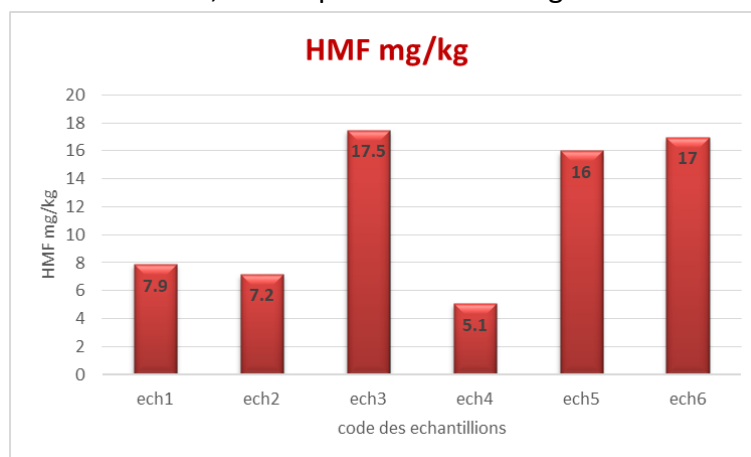


Figure 43 : Valeurs des taux d'HMF des échantillons analysés.

Selon le *Codex Alimentarius*(1993) et la norme nationale (NA 15304) la teneur en HMF ne doit pas dépasser 40 mg/kg pour les miels mis en marché et 20 mg/kg pour les miels fraîchement récoltés.

Les échantillons étudiés présentent un taux d’HMF qui varie entre 7.2 et 17.5 mg/kg, ces résultats sont assez éloignés de la valeur limite du Codex (40 mg/kg), ce qui signifie que les miels testés sont frais et conformes à la norme.

2-Analyses polliniques

La confirmation de l’origine florale des différents types de miel testés est assurée par l’analyse pollinique selon les critères du tableau 6 selon les recommandations de Von der Ohe et *al.* (2004)

Tableau 6: Classification du pollen en fonction de son pourcentage (SAIDA ET FTHIA, 2014)

Pourcentage de pollen	>500 pollens
>45%	Pollen prédominant
16-45%	Pollen d’accompagnement
4-15%	Pollen important isolé
<3%	Pollen isolé

a) L’échantillon Ech1

L’analyse pollinique de l’échantillon Ech1, montre la présence de 10 taxons différents de pollen nectarifère avec un total de 1381 grains (Figure 44).

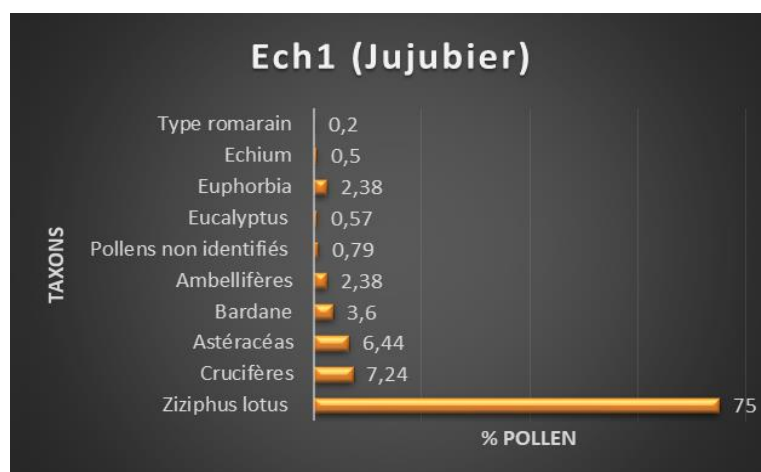


Figure 44: Résultat d’analyses pollinique de l’échantillon Ech1.

Le pollen de jujubier (*Ziziphus lotus*) est représenté avec un pourcentage de 75%, donc c'est un pollen prédominant.

Les pollens de Crucifères et d'Astéracées sont représentés par un pourcentage de 7,24% et 6,44% respectivement. Ces derniers sont des pollens importants isolés.

Tous les pollens restant, à savoir ceux de bardane, ombellifères, eucalyptus, euphorbe, echium, type romarin, sont des pollens isolés.

Grace à cette analyse pollinique nous avons pu confirmer l'origine botanique supposée de cet échantillon qui est **un miel mono floral de jujubier à 75%**.

b) L'échantillon Ech2

L'analyse pollinique de l'échantillon Ech2, montre la présence de 10 taxons différents de pollen nectarifère avec un total de 1020 grains (Figure 45).

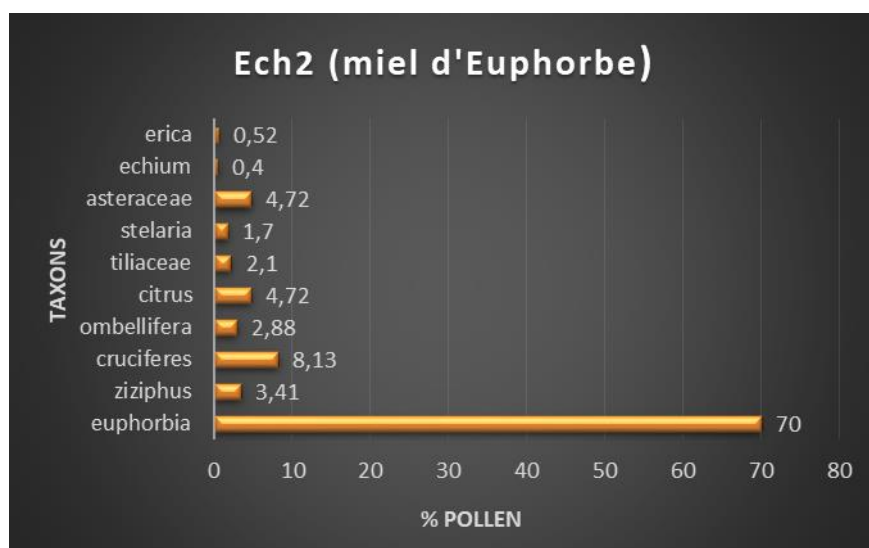


Figure 45: Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech2.

Le pollen d'euphorbe représente 70%, c'est le pollen prédominant, pour les pollens des *Zizyphus*, *Crucifères*, *Citrus* et *Asteraceae* ce sont des pollens importants isolés.

En ce qui concerne les autres pollens, on considère que c'est des pollens isolés car ils sont représentés à moins de 3%.

L'analyse pollinique a confirmé l'origine botanique supposée de ce miel qui est un miel mono floral d'Euphorbe à 70%.

c) Echantillon Ech3

L'analyse pollinique de l'échantillon Ech3, montre la présence de 06 taxons différents de pollen nectarifère avec un total de 1245 grains (Figure 46).

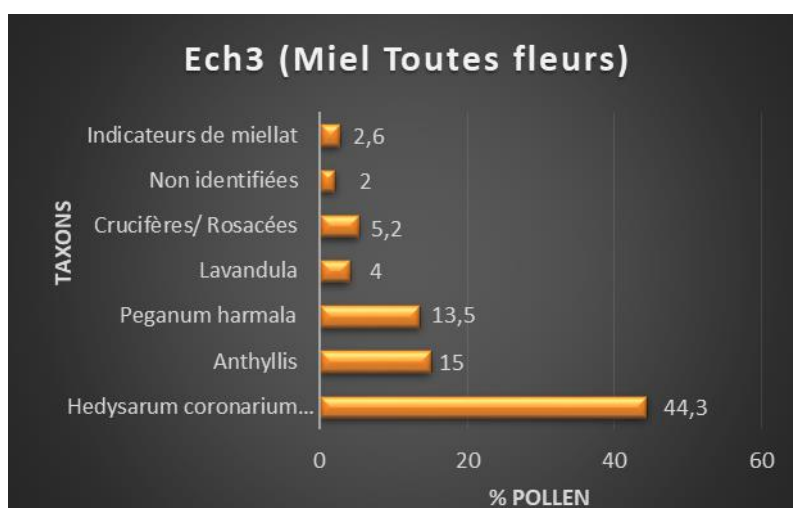


Figure 46: Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech3.

La lame très riche en pollen, elle ne présente aucun film protéique, le miel ne présente aucun signe de fermentation.

Le pollen d'*Hédysarum coronarium* (sulla) est présent avec une fréquence relative de 44,3% et le pollen du pollen d'*Anthyllis* et présent avec un taux de 15%, cette configuration nous permet de classer ce miel dans les miels multi floraux.

d) Echantillon Ech4

L'analyse pollinique de l'échantillon Ech4, montre la présence de 03 taxons différents de pollen nectarifère avec un total de 1245 grains (Figure 47).

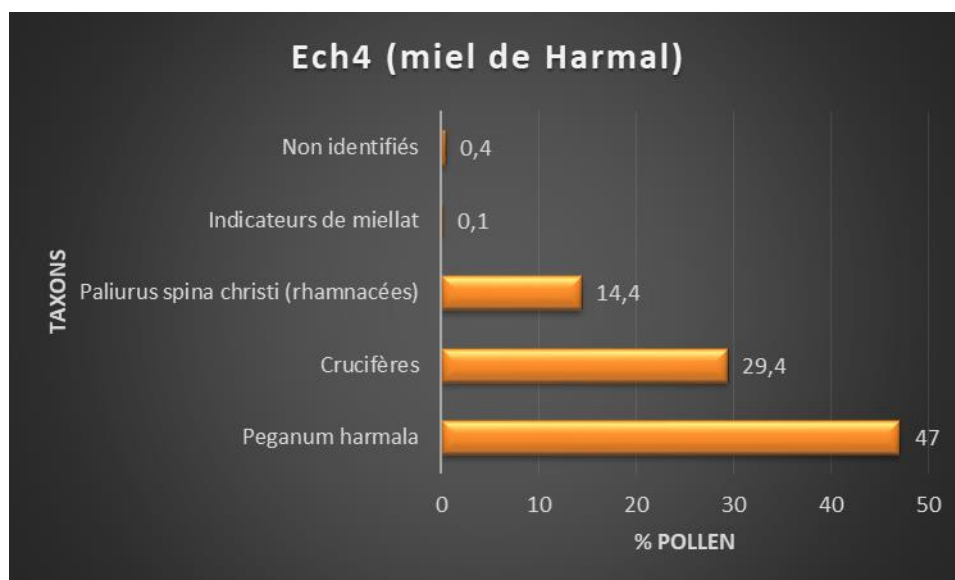


Figure 47: Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech4.

La lame observée de l'échantillon Ech6 est très riche en pollen, le pollen du *Peganum harmala* (Haraml) a 47% ce qui indique que c'est le pollen dominant.

En ce qui concerne le pollen des Crucifères et celui des Rhamnacées, ils sont représentés par 29,4% et 14,4 % respectivement, ce sont des pollens fréquents.

Les autres espèces présentent un pourcentage en pollen qui varie entre 0,1 et 0,4, ce sont donc des pollens très isolés.

Cette analyse a confirmé que c'est un miel de Harmal.

e) Echantillon Ech5

L'analyse pollinique de l'échantillon Ech5, montre la présence de 12 taxons différents de pollen nectarifère avec un total de 4850 grain (Figure 48).

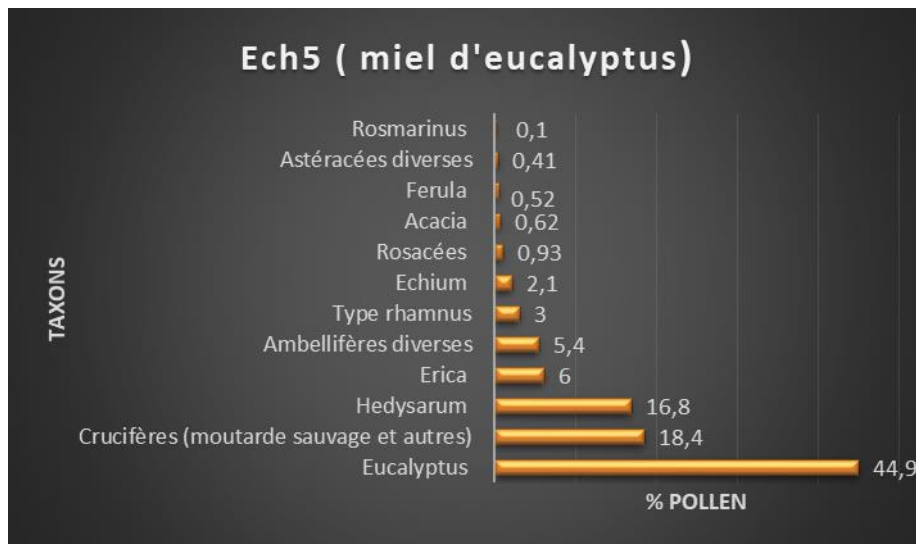


Figure 48: Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech5.

La lame observé est très riche en pollen, elle ne présente aucun film protéique ni d'indicateurs de miellat, ni de résidus minéraux. Le miel ne présente aucun signe de fermentation.

Selon les pourcentages des familles de pollen, ce miel est un multifloral contenant de l'eucalyptus, car habituellement les miels d'eucalyptus sont surreprésentés et ne peuvent porter la mention « miel d'eucalyptus » qu'à partir de 90% de pollen d'eucalyptus.

f) Echantillon Ech 6

Pour cet échantillon, il n'y a pas de dominance au niveau des pollens (Figure 49).

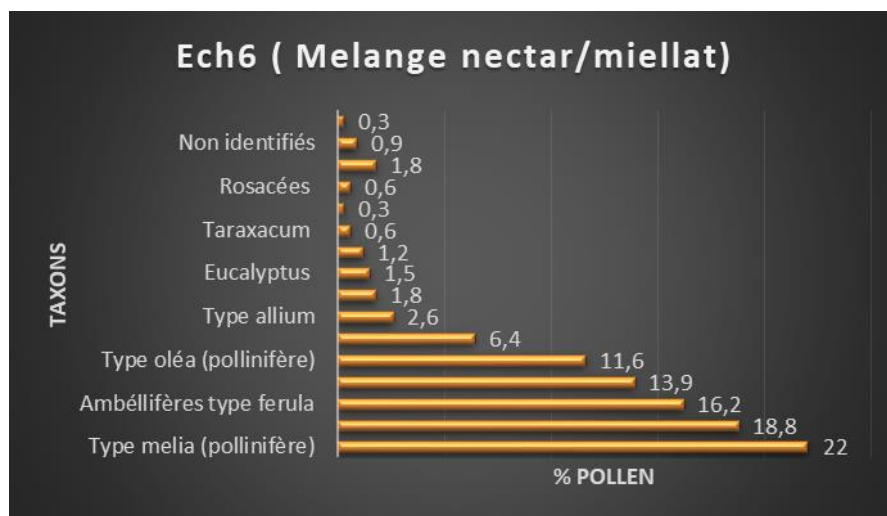


Figure 49: Résultat d'analyses pollinique de l'échantillon Ech6.

La Lame observée de l'échantillon Ech6 est très riche en pollen, elle présente un épais film protéique avec un résidu minéral rappelant du sable. Le miel ne présente aucun signe de fermentation.

Selon les pourcentages et les familles de pollen présentes, ce miel présente les caractéristiques d'un mélange nectar/miellat.

2-1-Confirmation de l'origine florale

Les résultats de l'analyse pollinique nous permet d'identifier les différent types de pollen pour confirmer ou infirmer l'origine florale des échantillons de miel étudiés (Tableau 7).

Tableau 7: Origine forale confirmée

Echantillons	Origine supposé	Origine confirmé
Ech1	Jujubier	Mono florale Jujubier
Ech2	Euphorbe	Euphorbe
Ech3	Foret	Toutes fleurs
Ech4	Harmal	Harmal
Ech5	Eucalyptus	Eucalyptus
Ech6	Toutes fleurs	Mélange nectar/miellat

Contrairement à ce qu'il a été déjà signalé par les apiculteurs, les résultats des analyses polliniques obtenus montrent que l'échantillon Ech3 un miel multifloral (toutes fleurs) et non miel de forêt (absence d'indicateur de miellat), l'échantillon Ech6 est un mélange nectar/miellat et pas un miel toute fleurs. Par contre pour le miel Ech1, Ech2, Ech4 et Ech5 nous avons confirmés leurs origines données au départ par les apiculteurs.

Chapitre III : effet thérapeutique et antimicrobien du miel

L'objectif principal était (après l'analyse de nos six différents types de miels) d'évaluer l'effet thérapeutique et antimicrobien du miel en cas de mammite, ce travail n'a pas eu lieu vu les conditions exceptionnelles du COVID19.

Dans la partie bibliographique un chapitre a été consacré aux mécanismes d'action du miel en cas d'infection il en ressort :

Auteur : Nahed Mohamad Wahba

Titre : Activité antibactérienne du miel pour le traitement de la mammite bovine subclinique : 2-Infusion intramammaire comme outil de gestion des cas qui présentent une résistance aux antibiotiques

Vingt-six vaches Holstein peu productrices souffrant de mammite subclinique et de non-réponse aux antibiotiques ont été incluses dans la présente étude. La production laitière (PL) a été estimée, et des échantillons de lait ont été examinés pour le California Mastitis Test (CMT), la numération bactérienne totale (NBT) avant et après le traitement. Les vaches laitières atteintes ont été soumises à une infusion intramammaire de miel de fenouil dilué. La dose initiale était de 10 ml de 20%, suivie de 30% et 40% pour la 2ème et la 3ème dose. Ensuite, trois doses successives de 50 % ont été effectuées jour après jour. La présente étude a révélé que l'infusion intramammaire de miel de fenouil a entraîné une diminution significative de la NBT ($P > 0,05$) et une augmentation très significative de l'PL ($P > 0,001$). Le CMT après traitement a montré des réactions extrêmement positives. Les résultats obtenus ont été discutés.

Auteurs : Marcela Klimešová, Irena Němečková, Eva Vondrušková, Ludmila Nejšlechbová(2018)

Titre : Effet antibactérien du miel Tchèque et du miel Mānuka sur certains pathogènes de la mammite

Le travail est axé sur l'effet antibactérien de quatre types de miel de fleurs, un de miellat et deux de miel Mānuka (MAN100+ et MAN400+) sur certains microorganismes pathogènes isolés du lait de vache (*Staphylococcus aureus* 51 et *S. aureus* 428), de lait de brebis (*S. aureus* 627) et de la collection tchèque de micro-organismes (*Streptococcus uberis* CCM 4617, *Streptococcus agalactiae* CCM 6187, *Enterococcus faecalis* CCM 4224 et *Escherichia coli* CCM 4787). Les concentrations des échantillons de miel étaient de 20 % et 30 %. Les résultats obtenus ont montré un effet inhibiteur de 100 % de MAN400+ sur toutes les souches bactériennes testées, même à une concentration de 20 %, ainsi qu'un effet inhibiteur comparable du miel Mānuka avec le miellat tchèque. Les résultats indiquent que le miel a eu un effet inhibiteur contre les espèces bactériennes testées qui peuvent provoquer des mammites.

Auteurs : K. L. Allen & P. C. Molan (1997)

Titre : La sensibilité des bactéries responsables de la mammite à l'activité antibactérienne du miel.

L'utilisation du miel comme pansement est bien établie dans la médecine traditionnelle et moderne. Il existe de nombreux rapports sur son efficacité pour éliminer les infections bactériennes dans les ulcères et les abcès, ce qui laisse supposer qu'il peut être adapté pour le traitement intramammaire de la mammite. À l'adresse suivante : évaluer cette possibilité, les espèces de bactéries qui provoquent couramment des mammites chez les vaches laitières sont testées pour leur sensibilité à l'activité antibactérienne de miel. La croissance des sept espèces testées a été complètement inhibée par un miel typique (avec l'activité antibactérienne attribuée à son contenu de peroxyde d'hydrogène) à une concentration de 10 % (v/v) dans les plaques d'agar, et deux par 5% de miel. Six des espèces ont été complètement inhibées par un miel de manuka (avec activité antibactérienne attribuée à sa teneur en un composant non peroxydique) à une concentration de 5% (v/v). Une seule espèce était inhibée par 10 % (v/v) de miel artificiel (sucres et acide gluconique comme dans le miel). Comme le miel est inoffensif pour et ne laisserait aucun résidu indésirable dans les tissus le lait, il serait intéressant de l'évaluer maintenant thérapeutique dans les cas de mammites cliniques.

Conclusion

Les mammites bovines sont considérées parmi les maladies les plus récurrentes qui touche les vaches laitières, en dehors des dégâts économiques qu'elles causent, elles présentent un véritable danger de santé public soit par le passage des germes ou les résidus antibiotiques dans le lait, d'où la recherche d'une alternative naturelle qui possède une activité antimicrobienne.

Le miel n'est pas seulement un aliment sucré mais également un produit médicinal car il possède plusieurs propriétés biologiques qui sont dues essentiellement à sa composition chimique notamment les polyphénols et les flavonoïdes.

La présente étude est menée dans le cadre de l'évaluation de la qualité de 6 échantillons de miel, récoltés de différentes régions de territoire algérien en se basant sur l'analyse de quelques paramètres physico-chimiques, pollinique.

Les différents paramètres étudiés montrent que tous les échantillons de miel sont conformes aux normes proposées par la commission du *Codex Alimentarius*, que la plupart d'entre eux sont des miels frais, d'après leurs teneurs en HMF. Mais aussi qu'ils ne sont pas falsifiés suite aux résultats de l'analyse pollinique.

Pour ce qui est de l'activité antibactérienne, les analyses nécessaires n'ont pas été faites à cause de la crise sanitaire encourue (COVID-19).

En perspective, il convient de poursuivre ces recherches par :

- L'évaluation de l'activité antibactérienne sur les germes pathogènes des mammites bovines.
- Il sera intéressant aussi de réaliser des tests *in vivo* afin d'évaluer les différents effets thérapeutiques du miel.

Référence bibliographique

Bibliographie

- ✚ **ABD EL-HADY F., HEGAZI A (1994).** Composition chimique du miel, Centre National de Recherche, Dokki, Giza, Egypte.
- ✚ **Adam G, (2011).** La biologie de l'abeille. COURS École d'apiculture Sud-Luxembourg. 26 p.
En ligne : <http://ekldata.com/QPHGzNqBPBpKwpdho6j-krOSMLc.pdf>
- ✚ **Adam G, (2011).** Botanique apicole, production de nectar et de pollen.
COURS école d'apiculture Ruchers du Sud-Luxembourg, 11 p.
En ligne : <http://ekldata.com/ViQw1ofEliaHI2KAwpYI47zYG08.pdf>
- ✚ **Abdoulkarim ISSA IBRAHIM (2015).** Bilan bactériologique des mammites dans les troupeaux Zébu Azawak à la station expérimentale sahélienne de Toukounous (Niger) et épidémiologie moléculaire des *Staphylococcus aureus* isolés entre 2009 et 2012 p42, Thèse présentée en vue de l'obtention du grade de docteur en sciences vétérinaires année académique 2014-2015, Université de Liège .
- ✚ **Ahmed AK, Hoekstra MJ, Hage JJ, Karim RB (2003 Feb):** Honey-medicated dressing: transformation of an ancient remedy into modern therapy. *Ann Plast Surg.*; 50(2):143-7; discussion 147-8.
- ✚ **Alexandra ROSSANT, (2011).** LE MIEL, UN COMPOSE COMPLEXE AUX PROPRIETES ; pour l'obtention du Diplôme D'état de Docteur en Pharmacie.
- ✚ **ALPHANDERY R (2002).** La route du miel – Le Grand Livre des Abeilles et de L'apiculture, Paris, Nathan, 288p.
- ✚ **Amri Assia, (2016).** La Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique ; Présentée en vue de l'obtention du diplôme de Doctorat ; Option : Biochimie appliquée en agroalimentaire et santé.
- ✚ **Anonyme, (2014) :** Mastitis Pathogen Factsheet #2 University of Minnesota College of Veterinary Medicine
<https://www.vdl.umn.edu/sites/vdl.umn.edu/files/klebsiella-mastitis.pdf>

- ✚ **ANSELME S (2007)** : Diagnostic des mammites cliniques et subcliniques en élevage bovin laitier intensif (cas de la ferme Wayembam) , Thèse Présentée et soutenue publiquement le 14 Novembre 2007 devant la Faculté de Médecine, Pharmacie et d’Odonto-Stomatologie de Dakar pour obtenir le grade de docteur vétérinaire (diplôme d’état), Université Cheikhanta Diop de Dakar.
- ✚ **ARVANITOYANNIS IS, CHALHOUB C, et al., (2005)**. Novel quality control methods in conjunction with chemometrics (multivariate analysis) for detecting honey authenticity, Crit Rev Food Sci Nutr,
- ✚ **Assie, (2004)**. Le miel comme agent cicatrisant. Thèse pour l’obtention de diplôme d’état de Docteur en Médecine. Université Toulouse III – Paul Sabatier – Faculté de médecine, 117p
- ✚ **Badren, (2016)**. La situation de l’apiculture en Algérie et les perspectives de développement. Mémoire présenté pour l’obtention Du diplôme de Master Académique. Université de Tlemcen. p 26.
- ✚ **BAHBOUH Amina et BOURZAK Kahramana, (2010)**. Contrôle de la qualité physico-chimique et microbiologique de quelques miels de la Mitidja. Ingénieur d’état en Contrôle de Qualité et Analyse.
- ✚ **Baltrušaitytė et al., (2007)**. Radical scavenging activity of different floral origin honey and beebread phenolic extracts. Food Chemistry, 101, 502-514.
- ✚ **BIRI M, (2002)**. Le grande livre des abeilles cours d’apiculture moderne. nouvelle Edition mise à jour - Editions de Vecchi s.a. - Paris imprime en Italie.
- ✚ **BECKER D, (1988)**.Thérapeutique et miel, L’abeille de France n°727, p.241-243.
- ✚ **Blanc Mickael, (2010)**. Propriétés et usage médical des produits de la ruche thèse pour le diplôme d’état de Docteur en Pharmacie de l’Université de Limoges
- ✚ **Blassa M, Candracci M, Accorsi A, Piacentini MP, Albertini M C, Piatti E(2006)**: Raw millefiori honey is packed full of antioxidants. Food Chem.;97:217–222
- ✚ **Bogdanov S, Ruoff K, Oddo ,P.L.(2004)**. Physicochemical Methods for the Characterisation of Unifloral Honeys .Apidologie .35:17p.
- ✚ **Bogdanov, (2006)**. Produits apicoles et santé. ALP forum, N° 41f. P. 52.
- ✚ **Bogdanov, (1997)**. Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensmittel-Wissenschaft and Technologie, 30, 748-753.
- ✚ **Bogdanov, (1999)**. Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel. Centre Suisse de recherche apicoles. 05

- ✚ **Bogdanov, (2009).** The Book of Honey. Bee Product Science.pp:6
- ✚ **Bradbear, (2010).** Le rôle des abeilles dans le développement rural. Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. Rome, 2010. 238 p.
- ✚ **BRUNEAU E, (2002).** Les produits de la ruche. In Le traité *rustica* de l'apiculture. Paris, *Rustica*.
- ✚ **Burvenich, C., Van Merris, V., Merhzad, J., Diez-Fraile, A. and Duchateau, L. (2003).** Severity of *E. coli* mastitis is mainly determined by cow factors. Vet. Res. 34:521-564.
- ✚ **CAILLAS A (1947).** Les produits de la ruche : le miel, la cire, le pollen, 3^{ème} Edition, Chez l'auteur, Bois d'Arcy, 1947.
- ✚ **Catays, (2016).** Contribution à la caractérisation de la diversité génétique de l'abeille domestique *Apis mellifera* en France : cas du locus *csd* de détermination du sexe. Thèse d'exercice, Médecine vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire de Toulouse - ENVT. p 314
- ✚ **CEYHAN N., UGUR A (2001).** Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey, Riv Biol, 2001
- ✚ **Chataway, H. D.(1932).** Canadian J. Res. 6, 532-547.
- ✚ **Chouia,(2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire en vue de l'obtention du diplôme de magistère en Biologie. Université Mohamed Khider- Biskra. p 62.
- ✚ **CLEMENT H (2002).** Guide des miels - 40 miels à découvrir, Editions *Rustica*.
- ✚ **CLEMENT H. (2006).** Le Traité *Rustica* de l'Apiculture, 2^o Edition, Paris, Editions Rustica, 2006, 528p.
- ✚ **Codex Alimentarius. (1985).** Normes générales pour l'étiquetage de denrées alimentaires préemballées, (CODEX STAN 1-1985 Rév. 1-1991)
- ✚ **Codex Alimentarius Commission. (2001).** Revised codex standard for honey. Revue, 12:1-7.
- ✚ **Codex Alimentarius. (1993).** Standard for Honey, Ref. Nr. CL 1993/14-SH, FAO and WHO, Rome,
- ✚ **Conseil de l'Union européenne, (2001).** DIRECTIVE 2001/110/CE DU CONSEIL du 20 décembre 2001 relative au miel.

- ✚ **Daniel SOTODONOU, (2014).** In CARACTERISATION PHYSICO-CHIMIQUE DES MIELS DE QUATRE COMMUNES DU BENIN ; Rapport pour l'obtention de la Licence professionnelle ; Hygiène et Contrôle de Qualité.
- ✚ **Delahais, (2012).** L'apiculture, une activité vectrice de développement rural durable : Quels obstacles à son développement ? Etude de cas à Madagascar : district de Manjakandriana, région d'Analamanga. Mémoire présenté en vue de l'obtention de la Licence professionnelle « Chargé(e) de projet dans la solidarité internationale et le développement durable ». Université Michel de Montaigne - Bordeaux 3. 33607 PESSAC, France. p 65.
- ✚ **DOMEREGO R.** Ces abeilles qui nous guérissent [en ligne], Page consultée le 20 Juin 2020 à partir de www.apiculture.com
- ✚ **DONADIEU Y (1978).** Le miel thérapeutique naturel, 2^{ème} Edition, Paris, Maloine édit.1978, 36p.
- ✚ **DONADIEU Y (1984).** Pollen : thérapeutique naturelles. 5^{ème} Edition Maloine S.A paris. 31p
- ✚ **DONADIEU Y (1987).** Le pollen thérapeutique naturel, 7^{ème} Edition, Paris, Maloine edit. 1987, 62p.
- ✚ **DONADIEU Y. (2005).** LE MIEL ; Chapitre 1; Qu'est-ce que le Miel ? ;
- ✚ **DORVAULT F (1979).** L'officine, 20^e Edition, Editions Vigot, Paris.
- ✚ **Dunford C, Cooper R, Molan P (2000 Apr):** Using honey as a dressing for infected skin lesions. Nurs Times. 6-12; 96(14 Suppl):7-9.
- ✚ **Élodie, (2013).** Le miel : composition et technique de production. Mémoire de master de traduction italien-français .Université Sorbonne Nouvelle – Paris 3. p 8-14- 103.
- ✚ **Ertürk et al., (2014).** Antioxidant and antimicrobial activity of East Black Sea Region honeys. Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem], 39 (1); 99–106
- ✚ **FAO, (2011).** Le rôle des abeilles dans le développement rural ; Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles ; par Nicola Bradbear ; p : 102.
- ✚ **Gharbi, (2011).** Les produits de la ruche : origines- fonctions naturelles composition- propriétés thérapeutiques. Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire.Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude-Bernard-Lyon I, 247 p.

- ✚ **Gheldof et al., (2002).** Identification and quantification of antioxidant components of honeys from various floral sources. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 5870-5877.
- ✚ **Gomes Susana, Luis G. Dias, Leandro L. Moreara, Paula Rodrigues, Leticia Estevinho (2010).** Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and chemical Toxicology*, Volume 48, Issues 2, pages 544-548.
- ✚ **Gonnet M., (1982).** Le miel ; composition, propriétés, conservation. INRA station expérimentale d'apiculture. Pp : 1-18
- ✚ **Gonnet M; G. Vache, (1985).** Le goût du Miel. Analyse sensorielle et les applications diverses d'une méthode d'évaluation de la qualité des miels ; Paris [FRA] : UNAF ;
- ✚ **GOUT J, (1991).** Le miel et les hommes, Thionville, Gerard Klopp, 1991, 249p.
- ✚ **GUERZOU Mokhtar, (2014).** In Etude comparative de la qualité de quelque miels algériens et ceux importés ; en vue de l'obtention du diplôme de Magister en Sciences Agronomiques.
- ✚ **Haddad, M-F., Morin, D.E., Smith, G.W. and Constable, P.D. (2001):** Comparison of clinical, hematologic, and serum biochemical values in cows with naturally-occurring or experimentally – induced coliform mastitis. *Compendium, 2nd international symposium on mastitis and milk quality.* Vancouver. BC. Canada. 18-22.
- ✚ **Haderbache, L. and Kabli, N. (2019)** Les miels de jujubier d'Algérie. *Mayazine* 35, 32-33.
- ✚ **Haderbache, L., Bousdira, M. and Mohammedi, A. (2013)** *Ziziphus Lotus* and *Euphorbia bupleuroides* Algerian Honeys. *World Applied Sciences Journal* (24), 1536-1543.
- ✚ **Hanzen CH. (2015-2016)** Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. *Approches individuelles et de troupeau des mammites, Université de Liège Faculté de Médecine Vétérinaire Service de Thériogenologie des animaux de production*
- ✚ **Hill, A.W. (1986)** Mastitis, the non-antibiotic approach to control. *Journal of Applied Bacteriology Symposium Supplement* 1986:93S-103S.
- ✚ **Hirvonen, J., Eklund, K., Teppo, A.M., Huszenicza, G., Kulcsar, M., Saloniemi, H. and Pyörälä, S. (1999)** Acute phase response in dairy cows with experimentally induced *Escherichia coli* mastitis.

- ✚ **Hoeben, D. (1999)** *Escherichia coli mastitis* in postpartum cows: role of endotoxin and neutrophils with regard to the cows' metabolic and endocrine status and the use of drugs. Ph.D.Diss., Gent Univ., Merelbeke, Belgium.
- ✚ **HUCHET E., COUSTEL J., GUINOT L. (1996)** Les constituants du miel [en ligne]. Disponible sur : www.beekeeping.com/articles/fr/chimie_miel.htm.
- ✚ **ITISAP, (2017)**. Institut de l'abeille ; L'expertise technique et scientifique au service de l'apiculture ; Les différents types de fraudes sur le miel.
Disponible sur : http://itsap.asso.fr/pages_thematiques/produits-de-la-ruche/differents-types-de-fraudes-miel/
- ✚ **Jean-Prost, (2005)**. 7 e éditions revue et complétée par LE CONTE Y. Apiculture : Connaître l'abeille. Conduire le rucher. 698 p.
- ✚ **JORF, (1977)**. Arrêté du 15 février 1977 relatif aux méthodes officielles d'analyse de miel.
- ✚ **KARABOURNIOTI S et ZERVALAK P, (2001)** . les effets du chauffage sur l'HMF et l'invertase des miels. Laboratory of quality centrale APIACTA. 36(4), 178-181p.
- ✚ **Khalil et al., (2010)**. High 5-hydroxymethylfurfural concentrations are found in Malaysian honey samples stored for more than one year. Food and Chemical Toxicology, 48, 2388-2392.
- ✚ **Lachman et al., (2010)**. Evaluation of antioxidant activity and total phenolics of selected Czech honeys. Food Science and Technology, 43 : 52-58.
- ✚ **Louveaux, (1970)**. Annexes microphotographiques à méthodes officielles d'analyse, tome III, atlas photographique d'analyses polliniques des miels. p.1-5.
- ✚ **Louveaux, j.(1985)**. Les abeilles et leur élevage. Edition opida. P: 165-181
- ✚ **Louveaux, j. (1968)** L'analyse pollinique des miels, et traité biologique de l'abeille, tome 3. Edition Masson de Cie, Paris. Pp 324-361.
- ✚ **Louveaux, J. (1968)**. L'analyse pollinique des miels, et traité biologique de l'abeille, tome 3. Edition masson de cie, paris. Pp 324-361.
- ✚ **MAZROU Keltouma, (2008)**. In Effet de la température sur l'évolution de l'HMF dans les miels Algériens ; En vue de l'obtention du diplôme d'étude supérieures ; En biologie Spécialité : Biochimie.
Disponible sur : <https://www.memoireonline.com/07/08/1309/effet-temperature-evolution-HMF-miels-algeriens.html>

- ✚ **MINH-HA PHAM-DELEGUE (1999)**. Connaître et découvrir les abeilles, Genève, Minerva, 1999, 206p.
- ✚ **MOLAN PC (1999)**. Why honey is effective as a medicine, Bee World, 1999.
- ✚ **Moussaoui, (2011)**. Analyse sensorielle de quelques miels du sud Algérien. Mémoire de fin d'étude en vue de l'obtention du diplôme d'ingénieur d'Etat: Université Kasdi-Merbah Ouargla. p 81.
- ✚ **NADJI N. et GUERZOV MN (2020)** Analyse du miel - Etude comparative entre quelques miels locaux et autres importés [en ligne], Université Ziane Achour de Djelfa, Algérie, page consultée le 20 Juin 2020 à partir de www.memoireonline.com
- ✚ **Nair Samira, (2006)**. In Biodiversité végétale et qualité du miel dans la région nord-ouest Algérienne. Mémoire de magister d'écologie.
- ✚ **Nair Samira, (2014)**. Identification des plantes mellifères et analyses physico-chimiques des miels Algériens ; pour l'obtention du diplôme de Doctorat en Biologie ; Spécialité : Biochimie.
- ✚ **Natarajan S, Williamson D, Grey J, Harding KG, Cooper RA J(2001 Mar)**: Healing of an MRSA-colonized, hydroxyurea-induced leg ulcer with honey. Dermatolog Treat.; 12(1):33-6.
- ✚ **Nolan V.C, Harrison J, Jonathan A. G. Cox (décembre 2019)**: Dissecting the Antimicrobial Composition of Honey. Antibiotics (Basel, Switzerland), vol. 8, no 4,. PubMed, doi: 10.3390/antibiotics8040251.
- ✚ **Norme Algérienne NA 15304 (2016) Miel** : Critères de qualité des miels d'Algérie CTN 49 « Productions Animales, Aliments des Animaux et Zootechnie ». (ed), IANOR, Alger.
- ✚ **Norme Algérienne NA 19410 (2018) Miel** : Méthodes d'échantillonnage et d'analyse. CTN 49 « Productions Animales, Aliments des Animaux et Zootechnie ».
- ✚ **Oudjet, (2012)**. Le miel une denrée à promouvoir. Etudes et Enquêtes. p 3.
- ✚ **Philpot, W.N. et Dodd, F.H (1978)** : Mastitis. chapitre 23 In Wilcox, C.J. et al.. 1978. Large dairy herd management. University of Florida, Gainesville, Floride. 1046 pages.
- ✚ **PROST, P.J. (2005)**. Apiculture, connaître l'abeille –conduire le rucher. Lavoisier, Paris, p : 382.
- ✚ **RAVAZZI G. ELEVAGE** ; Abeilles et apiculture, Editions de Vecchi **21/10/2003**.
- ✚ **Rémy D (2010)** : Les mammites. France Agricole Editions 2010

- ✚ **Riccardelli d'albore, G. (1997)** Text book of Mediterranean melissopalynology, Università degli Studi di Perugia.
- ✚ **SEEGERS H , MENARD J.L. , FOURICHON C.(1997)** Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention, INRA - Ecole Vétérinaire de Nantes, BP 40706, 44307 Nantes Cedex 03, Institut de l'Élevage, 14, avenue Joxé, BP 646, 49006 Angers Cedex 01.
- ✚ **Segeren et al., (2004).** L'apiculture dans les zones tropicales. Sixième édition. 93p.
- ✚ **Silici et al., (2010).** Total phenolic content, antiradical, antioxidant and antimicrobial activities of Rhododendron honeys. Food Chemistry, 121, 238-243.
- ✚ **Sylvie Cardon-Nomblot (16/06/2016).** Disponible sur : <https://www.futura-sciences.com/planete/dossiers/zoologie-abeilles-accueillir-ruche-chez-soi-976/page/10/>
- ✚ **Szweda, P (mars 2017):** Antimicrobial Activity of Honey . Honey Analysis, www.intechopen.com, doi:10.5772/67117.
- ✚ **THERON L, PLUVINAGE P, SERIEYS F, HANZEN CH (2010) :** Mammites bovines à pathogènes inhabituels. Service de Thériogénologie, Département clinique des animaux de production Faculté vétérinaire, Université de Liège, Belgique. 2. Université Catholique de Louvain, Belgique. 3. Filière Blanche - Rennes, France
- ✚ **Toullec, (2008).** Abeille noire, *Apis mellifera mellifera*, historique et sauvegarde. Thèse de doctorat vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, p162.
- ✚ **Ulloa, (2012).** Studies on honey from the Algarve in view of its valorization. Thesis submitted to the Universidade do Algarve to attain the degree of PhD in Chemistry. 277p
- ✚ **Von der Ohe, W., Persano Oddo, L., Piana, M.L., Morlot, M. and Martin, P. (2004)** Harmonized methods of melissopalynology. Apidologie 35, S 18-S 25.
- ✚ **White, (1956).** The composition of Honey. Tenth International Congress of Entomology, Montreal, Canada, 57-66.
- ✚ **White, J. W. (1979).** Spectrophotometric Method for Hydroxymethylfurfural in Honey, J. Ass. Off. Anal. Chem. 62, 509 (1979).
- ✚ **Winston, (1993).** La biologie de l'abeille. Paris : Editions Frison-Roche, 276p
- ✚ **Young et al (August 1998).** A summary of the reasons why farmers cull cows. J Dairy Sci. 81(8) : 2299-305

Webgraphie

- ✚ **Site 1** : <https://www.syngenta.fr/agriculture-durable/bonnes-pratiques-agricoles/article/organisation-des-insectes-sociaux>
- ✚ **Site 2** : <https://ruche.ooreka.fr/comprendre/abeille-a-miel>
- ✚ **Site 3** : <https://www.apiculture.net/blog/mieux-comprendre-pollinisation-abeilles-n115>
- ✚ **Site 4** : <https://veteriankey.com/udder-and-teat-disorders/>
- ✚ **Site5** : https://www.researchgate.net/publication/273776184_Antibacterial_Activity_of_Honey_for_Treatment_of_Subclinical_Bovine_Mastitis_2-Intramammary_Infusion_as_a_Tool_to_Manage_Non_Responding_Antibiotic_Cases
- ✚ **Site6** : https://www.researchgate.net/publication/330432628_Antibacterial_effect_of_Czech_and_Manuka_honey_on_selected_mastitis_pathogens
- ✚ **Site 7** : <https://www.tandfonline.com/doi/pdf/10.1080/00288233.1997.9513276>

Annexes

Annexe 1 : Technique d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique

Technique d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique



Recommandations :

- 1- Préparez à l'avance tout le matériel requis : bain de trayon, gants, serviettes propres, tampons alcoolisés, tubes d'échantillonnage, support pour les tubes, crayon marqueur indélébile, glace et glacière.
- 2- Procédez avec précaution et de façon stérile.
- 3- Prélevez toujours un échantillon avant un traitement antibiotique. Si vous choisissez de ne pas le faire, analysez immédiatement, conservez-le au congélateur. Cet échantillon pourrait être précieux dans le cas où des informations sont requises pour le traitement. Il est toujours possible de le jeter plus tard.



1.

Après avoir essuyé des pastas et lavé les trayons avec une seriette propre, tirez quelques jets de lait dans une tasse-filtre pour réduire le nombre de bactéries dans le canal du trayon.



2.

Désinfectez tout le trayon à l'aide d'un tampon imbibé d'alcool.



3.

Nettoyez à fond l'extrémité du trayon avec un nouveau tampon propre imbibé d'alcool. Répétez, si nécessaire, jusqu'à ce que le tampon reste propre.



4.

Désinfectez les trayons selon l'ordre indiqué : le plus près de vous en dernier pour éviter de les contaminer avec le poignet ou la manche.



5.

Enlevez le bouchon du tube en le tirant avec l'autre main. Le bouchon doit être tenu pour que l'intérieur soit tourné vers le sol.

www.reseauamamite.org

➤ Technique d'échantillonnage du lait pour l'analyse bactériologique



6. Sans toucher au trayon avec le tube, prélevez du lait dans le tube incliné presque horizontalement pour éviter une contamination par des particules de foin ou de litière.



7. Pour un échantillon composite, prélevez une quantité égale de lait de chacun des quatre trayons. Après avoir rempli le tube (maximum au 3/4), remettez le bouchon en place.



8. Faire tremper tout le trayon dans un désinfectant approuvé par Santé Canada.



9. Inscrivez sur le tabo : la date, le nr de la vache, le quartier échantillonné et la raison de l'échantillonnage. Utilisez un marqueur indélébile. Déposez les tubes dans un support s'il y a plusieurs échantillons.



10. Rafraîchissez rapidement l'échantillon en le déposant sur de la glace ou fond d'une glacière ou au réfrigérateur. L'envoi au laboratoire doit être fait rapidement. Soivez, congélez l'échantillon immédiatement.



11. Le médecin vétérinaire doit autoriser la demande d'analyse faite au laboratoire. Un formulaire complété doit accompagner les échantillons.

Droits photos : SCMR, l'Institut de santé animale (Université de Montréal). Texte et icones : Ministère canadien de Santé (© Santé Canada, 2009). Adapté par le Programme des producteurs de lait du Québec.



Conservation de l'échantillon :

Congélation* : P < -20 °C maximum 1 mois | Réfrigération : P < 4 °C maximum 24 h
* Analyser pour les mycoplasmes après 48 h de non-congél.

Annexe 2 : matériels utilisé dans la récolte du miel



Un cadre d'abeille



L'enfumoir



Couteau à désoperculer



L'extracteur manuel

Annexe 3: Matériel non biologique

Matériels	Solvants et réactifs	Milieu de culture
<ul style="list-style-type: none"> -Verreries (bécher, tubes à essais, pipettes, entonnoir, poire d'aspiration, fioles, éprouvettes graduées, pipette pasteur) ; -Spectrophotomètre ; -Bain-marie ; -Refractomètre ; -Papier filtre ; -Balance ; -pH mètre ; -Agitateur magnétique ; 	<ul style="list-style-type: none"> -Solution NaOH (1N) ; -Gélatine glycinée ; -Solution Carrez I ; -Solution de Carrez II ; -Solution de ninhydrine ; - Eau physiologique ; -Eau acidulée à 5 %. 	<ul style="list-style-type: none"> -Milieu Mueller-Hinton ; -Bouillon nutritive.

<ul style="list-style-type: none"> -Centrifugeuse ; -Flacons à fermeture hermétiques ; -Boites pétri ; -Conductimètre ; -Burette ; -Microscope optique ; -spatule ; -Etuve ; Autoclave ; -Bec benzen. 		
---	--	--

Annexe 4 : Préparation des solutions

➤ **Solutions utilisées pour la détermination du taux d'HMF**

✓ **Solution Carrez I**

- Dissoudre 15g d'hexacyanoferrate de potassium, $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ dans l'eau et ajuster à 100 ml.

✓ **Solution Carrez II**

- Dissoudre 30g d'acétate de zinc dans 100 ml d'eau distillée.

✓ **Solution de bisulfite (0.2g /100 ml)**

- Dissoudre 0.2g de sulfite d'hydrogène de sodium $NaHSO_3$ dans 100 ml d'eau distillée.

➤ **Solutions utilisées pour l'analyse pollinique**

✓ **Eau acidulée à 5%**

- Mettre 5 ml d'acide sulfurique dans 1 L d'eau distillée.

✓ **Gélatine glycinée**

- Placer 7 g de la gélatine dans 42 ml d'eau distillée pendant 2 heures pour permettre le

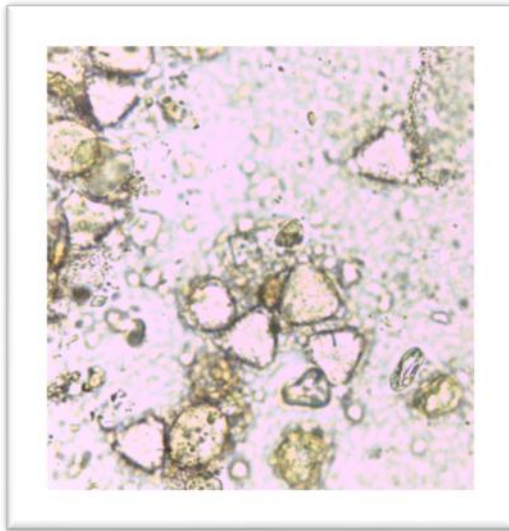
Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)

gonflement ;

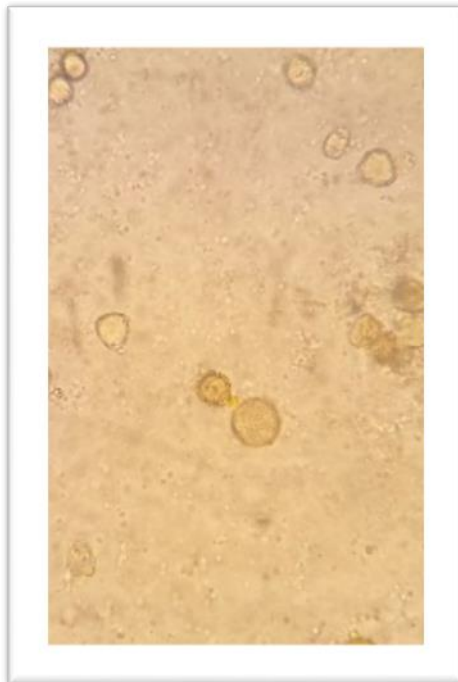
- Agiter constamment et ajouter 50 g de glycérine pure et 0,5 g d'acide phénique cristallisé ;
- Chauffer pendant 15 min.

1,5044	13,0	1,4935	17,2	1,4835	21,2
1,5038	13,2	1,4930	17,4	1,4830	21,4
1,5033	13,4	1,4925	17,6	1,4825	21,6
1,5028	13,6	1,4920	17,8	1,4820	21,8
1,5023	13,8	1,4915	18,0	1,4815	22,0
1,5018	14,0	1,4910	18,2	1,4810	22,2
1,5012	14,2	1,4905	18,4	1,4805	22,4
1,5007	14,4	1,4900	18,6	1,4800	22,6
1,5002	14,6	1,4895	18,8	1,4795	22,8
1,4997	14,8	1,4890	19,0	1,4790	23,0
1,4992	15,0	1,4885	19,2	1,4785	23,2
1,4987	15,2	1,4880	19,4	1,4780	23,4
1,4982	15,4	1,4875	19,6	1,4775	23,6
1,4976	15,6	1,4870	19,8	1,4770	23,8
1,4971	15,8	1,4865	20,0	1,4765	24,0
1,4966	16,0	1,4860	20,2	1,4760	24,2
1,4961	16,2	1,4855	20,4	1,4755	24,4
1,4956	16,4	1,4850	20,6	1,4750	24,6
1,4951	16,6	1,4845	20,8	1,4745	24,8
1,4946	16,8	1,4840	21,0	1,4740	25,0
1,4940	17,0				

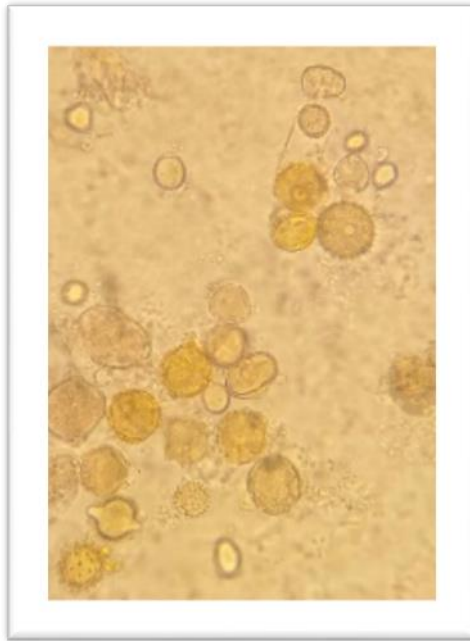
Annexe 6: Résultat de l'analyse pollinique des 06 échantillons de miels



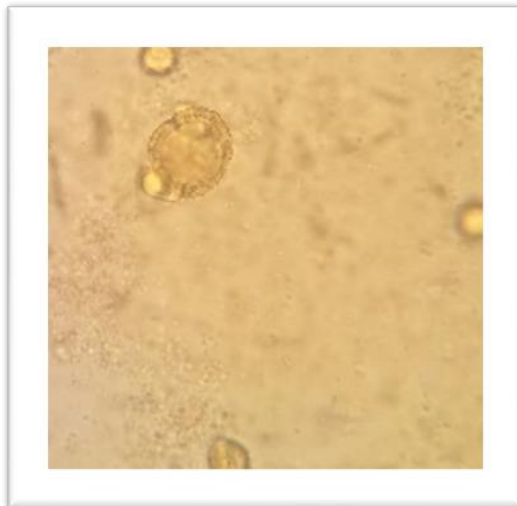
Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 1 (g×40)



Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 2 (g×40)



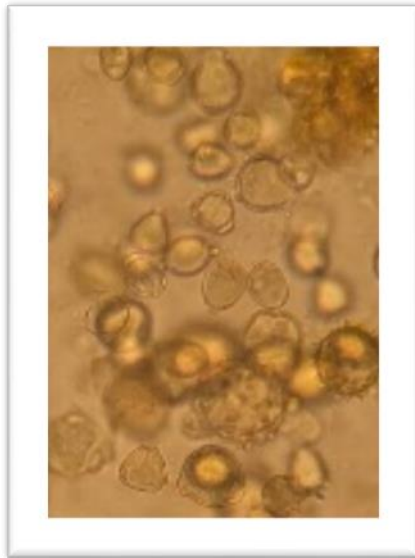
Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 3 (g×40)



Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 4 (g×40)



Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 5 (g×40)



Vue microscopique des grains de pollen du miel Ech 6 (g×40)