

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de biologie



Mémoire de fin d'étude
En vue de l'obtention du diplôme de Master
Option : Microbiologie
Thème :

**Activité antibactérienne de quelques
miels mono et poly floraux produits en
Algérie**

Réalisées par :

ALLEL Cherifa

ALLAG Louiza

Soutenu le 26/06/2022 devant le jury composé de :

Mme Hamaidi F	Présidente	Professeur	U.Blida1
Mme Lounaci L	Examinatrice	MCB	U.Blida1
Mme Mohamed Mahmoud F	Promotrice	MCA	U.Blida1
Mme. Mekious Sch	Co-Promotrice	Professeur	U.DJELFA

Année universitaire : 2022/2023

REMERCIEMENTS

Ce travail est l'aboutissement d'un dur labeur et de nombreux sacrifices.
Nos remerciements vont d'abord au Créateur de l'univers, qui a éclairé notre chemin et nous a guidés jusqu'à la réussite de notre étude.

Nous tenons à exprimer nos sincères remerciements :

À notre promotrice, Mme Mohamed Mahmoud F, d'avoir accepté de diriger ce travail, pour sa patience et ses encouragements tout au long de ce processus.

À notre Co-promotrice, Mme Mekious Sch, pour tous ses précieux conseils, son écoute active et sa disponibilité à tout moment.

Nous souhaitons également exprimer notre gratitude envers tous les membres de notre jury de mémoire :

Mme Hamaidi F, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant de présider le jury.

Mme Lounaci L, pour avoir gracieusement accepté d'examiner ce travail.

Nous tenons à adresser nos remerciements à l'ensemble de nos professeurs de la faculté S.N.V. de l'Université BLIDA1 pour leur dévouement et leur soutien tout au long de notre parcours universitaire.

Nous souhaitons également exprimer notre profonde gratitude :

A Monsieur Saidji S. pour sa précieuse aide pour les analyses physico-chimiques au laboratoire ANAP-CASSA de la Chiffa, wilaya de Blida. Sa contribution a été d'une importance capitale pour notre travail.

A M^{me} Zegar F, médecin biologiste qui nous a honoré en nous acceptant au sein de son laboratoire, Cette opportunité nous a permis d'acquérir une expérience précieuse et d'apprendre énormément.

A M^{me} Kebbas H, Docteur en pharmacie et A Mme Djenadi L, Docteur en pharmacie ainsi qu'à toute l'équipe du Laboratoire de l'hôpital mère-enfant de Tipaza pour leur confiance et leur soutien inestimable.

Nous sommes extrêmement reconnaissants envers nos meilleurs amis qui ont toujours été là pour nous soutenir et nous aider.

Enfin, nous exprimons nos remerciements à toutes les personnes qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Je dédie ce travail

À mes très chers parents, pour leur amour sans limite et leur irremplaçable soutien inconditionnel, je vous suis éternellement reconnaissante pour tout ce que vous avez fait et continuez de faire pour moi. Je veux que vous sachiez à quel point je vous aime et à quel point je suis reconnaissante d'avoir des parents comme vous.

À mes deux grandes sœurs Meriem et Amina, vous avez été mes confidentes, et mes protectrice, Votre présence dans ma vie a été une source inestimable d'inspiration. Vous m'avez montré l'importance de l'ambition, du travail acharné et de la persévérance. Vos encouragements constants et votre soutien indéfectible ont été essentiels pour me guider sur le chemin de la réussite. Vous m'avez montré comment surmonter les obstacles et comment tirer le meilleur de moi-même.

À mon cher beau-frère Abdrahmane, Un grand merci pour ta précieuse aide et ton soutien inconditionnel. Tu as su être là lorsque j'avais besoin de toi, et je te suis profondément reconnaissante. Ta générosité et ton amitié sont des trésors que je chéris chaque jour.

À l'ange de la famille mon unique neveu Adam.

À mon binôme Louiza notre collaboration a été une expérience incroyablement enrichissante et je suis profondément reconnaissante de t'avoir eu comme partenaire tout au long de notre parcours universitaire.

À toute ma famille.

À tous mes amis et mes collègues d'études ainsi qu'à tous mes enseignants qui ont contribué à mon succès,

Et à tous ceux que j'aime et ceux qui m'aiment.

CHERIFA

Dédicace

Je dédie cet humble travail avec un grand amour, une sincérité profonde et une fierté immense.

À la femme qui a souffert sans me laisser souffrir, qui s'est sacrifiée pour mon bonheur et ma réussite, ta bénédiction m'a été d'un grand secours pour mener à bien mes études :
Mon adorable mère.

À l'homme, mon précieux offre du dieu, ma source de réconfort et ma boussole lorsque j'en avais besoin, qui doit ma vie, ma réussite et tout mon respect : mon cher père.

À mes chers frères Mohamed et Ishak, qui m'ont toujours soutenu et encouragé durant ces années d'études, vous êtes les piliers sur lesquels je peux toujours m'appuyer. Votre présence dans ma vie est un cadeau inestimable.

À mes chères cousines, qui me rendent toujours heureuse, je chéris chacune de ces instants passés avec vous, que notre lien familial continu à se renforcer et à s'épanouir.

À toute ma famille, et en particulier mes deux chères tantes Scherazad et Kenza, pour leurs encouragements, leur soutien depuis mon enfance et tout au long de mon parcours.
Je leur dois énormément.

À mon binôme Chérifa, je tiens à exprimer ma profonde gratitude pour son soutien moral, sa patience et sa compréhension tout au long de ce travail. Sans toi, cette tâche aurait été bien plus ardue. Ta présence et ton appui ont été inestimables.

À tous mes amis, mes camarades et mes enseignantes, pour tout ce que vous avez fait.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible.

LOUIZA

Résumé

Cette étude a pour objectif de déterminer quelques paramètres physico-chimiques et antibactériens de cinq types de miels mono et poly floraux produits en Algérie. Les paramètres physico-chimiques étudiés sont : le pH, l'acidité libre, la teneur en eau et la conductivité électrique, ces analyses ont été réalisées selon les protocoles indiqués par la commission internationale du miel.

Le pouvoir antibactérien des miels a été évalué contre sept souches pathogènes (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*), par l'utilisation de deux méthodes différentes : la méthode de diffusion par disques et la méthode de diffusion par puits. Les résultats des paramètres physico-chimiques obtenus ont révélé des variations d'un échantillon de miel à l'autre, ainsi tous les miels étudiés sont conformes aux normes internationales de qualité exigées par le codex. Tous les échantillons de miel ont montré une capacité inhibitrice sur la croissance bactérienne, avec des variations en fonction des souches et du type de miel. Trois catégories de germes ont été identifiées selon leur degré de sensibilité : souches très sensibles, moyennement sensibles et résistantes. Nos résultats montrent que la sensibilité des bactéries diminuait en fonction des concentrations de miels. Les concentrations les plus élevées de miel (100%, 75%) étaient associées à une plus grande sensibilité des bactéries, tandis que les concentrations plus faibles (50%, 25%) étaient liées à une sensibilité réduite. Les analyses effectués nous ont permis d'identifier la qualité, la stabilité du miel dans le temps et aussi de révéler certaines propriétés antibactériennes des miels analysés.

Mots clés : Activité antibactérienne, Miel, Paramètres physicochimiques, Qualité.

Abstract

This study aims to determine some physico-chemical and antibacterial parameters of five types of mono and poly floral honeys produced in Algeria. The physico-chemical analyses were carried out at the ANAP-CASSA laboratory located in Sidi Madani, the Chiffa wilaya de Blida and the antibacterial activities were carried out at the medical analysis laboratory «Fairouz» and the mother and child hospital located in the wilaya of Tipaza. The physico-chemical parameters studied are: pH, free acidity, water content and electrical conductivity, these analyses were carried out according to the protocols indicated by the International Honey Commission. antibacterial efficacy of honeys was evaluated against seven pathogenic strains (*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* and *Staphylococcus aureus*) by using two different methods: the disc diffusion method and the well diffusion method. The results of the physico-chemical parameters obtained revealed variations from one honey sample to another, so that all the honey studied complies with the international quality standards required by the codex. All honey samples showed an inhibitory ability on bacterial growth, with variations depending on strains and type of honey. Three categories of germs were identified according to their degree of sensitivity: highly sensitive, moderately sensitive and resistant strains. Our results show that the susceptibility of bacteria decreased with honey concentrations. The highest concentrations of honey (100%, 75%) were associated with increased bacterial sensitivity, while the lower concentrations (50%, 25%) were associated with reduced sensitivity. The analyses carried out allowed us to identify the quality, the stability of honey over time and also to reveal certain antibacterial properties of the honey analyzed.

Keywords: Antibacterial activity, Honey, physicochemical parameters, Quality.

ملخص

تهدف هذه الدراسة إلى تحديد بعض المعايير الفيزيو-كيميائية ومضادات البكتيريا لخمسة أنواع من العسل احادي الزهرة ومتعدد الازهار المنتجة في الجزائر وأجريت التحليلات الفيزيو-كيميائية في مختبر الواقع. في سيدي مدني ولاية شيفة البليدة، ونفذت الأنشطة المضادة للبكتيريا في مختبر التحليل الطبي «فيروز» ومستشفى الأم والطفل الواقع في ولاية تيبازة. المعايير الفيزيائية الكيميائية التي تمت دراستها هي درجة الحموضة والحموضة الحرة ومحتوى الماء والتوصيل الكهربائي تم إجراء هذه التحليلات وفقاً للبروتوكولات التي أشارت إليها اللجنة الدولية للعسل. تم تقييم القوة المضادة للبكتيريا للعسل مقابل سبع سلالات ممرضة

(*Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia*

liquefaciens, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* et al., *Staphylococcus aureus*).

باستخدام طريقتان مختلفتين طريقة الانتشار باستخدام أقراص وطريقة الانتشار في الأبار. أظهرت نتائج التحاليل الفيزيو-كيميائية التي تم الحصول عليها اختلافات بين عينة العسل وأخرى وبالتالي جميع العسل المدروس يتوافق مع المعايير الدولية للجودة المطلوبة من قبل اللجنة الدولية للعسل. أظهرت جميع عينات العسل قدرة على تثبيط نمو البكتيريا مع اختلافات تبعاً للسلالات ونوع العسل. تم تحديد ثلاث فئات من الجراثيم وفقاً لدرجة حساسياتها سلالات حساسة جداً وسلالات حساسة إلى حد ما وسلالات مقاومة. تظهر نتائجنا أن قابلية البكتيريا انخفضت مع تراكيز العسل. ارتبطت أعلى تراكيز العسل (100%، 75%) بزيادة حساسية البكتيريا بينما ارتبطت التراكيز المنخفضة (50%، 25%) بانخفاض الحساسية. سمحت لنا التحليلات التي أجريت بتحديد الجودة واستقرار العسل بمرور الوقت وكذلك الكشف عن بعض الخصائص المضادة للبكتيريا للعسل الذي تم تحليله.

الكلمات المفتاحية: عسل؛ جودة؛ نشاط مضاد للبكتيريا؛ المعايير الفيزيو-كيميائية.

Table des matières

Remerciement.

Dédicaces.

Résumé.

Liste des tableaux.

Liste des figures.

Liste des abréviations.

Introduction 1

CHAPITRE I : PARTIE BIBLIOGRAPHIQUE

I.1.1.Définition du miel 3

I.1.1.1.Elaboration du miel 3

I.1.1.2.Origine du miel 3

I.1.1.3.Composition des miels 4

I.2.Les propriétés des miels 5

I.2.1 Propriétés physico-chimiques 5

I.2.1.1.Teneur en eau 5

I.2.1.2. Conductivité électrique 5

I.2.1.3.PH..... 6

I.2.1.4.Acidité libre..... 6

I.2.2.Propriétés antimicrobienne 6

I.2.2.1.Activité antibactérienne des miels 7

I.3.Description des souches testées 8

CHAPITRE II: MATERIELS ET METHODES

II.1. Matériel..... 11

II.1.1.Matériel non biologique..... 11

II.1.2.Matériel biologique..... 11

II.1.2.1.Les échantillons de Miel 11

II.1.2.2.Les souches bactériennes utilisées 12

II.2.Méthodes.....	12
II.2.1.Analyse physico-chimiques des miels	12
II.2.1.1.Détermination de la teneur en eau	12
II.2.1.2.Détermination du pH et de l'acidité libre par titrage de pH au point équivalent..	13
II.2.2.3.Conductivité électrique	13
II.2.2.Evaluation de l'activité antibactérienne	14
II.2.2.1.La mise en culture des bactéries	14
II.2.2.2.Examen macroscopique des colonies	14
II.2.2.3.Coloration de Gram des bactéries isolées	14
II.2.2.4.Caractérisation biochimique des bactéries.....	15
II.2.2.5.Antibiogramme	16
II.2.2.6.Evaluation de l'activité antibactérienne des miels.....	18

CHAPITRE III: RESULTATS ET DISCUSSION

III.1.Analyse physico-chimiques des miels	21
III.1.1.Détermination de la teneur en eau	21
III.1.2.Détermination de pH et de l'acidité libre par titrage de pH au point équivalent....	22
III.1.3.Conductivité électrique.....	24
III.2.Evaluation de l'activité antibactérienne	25
III.2.1.Identification des souches bactériennes.....	25
III.2.1.1.Caractérisation macroscopique et coloration de Gram.....	25
III.2.1.2. Identification biochimique.....	30
III.2.1.3.L'antibiogramme	33
III.3. L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel	37
III.3.1.Méthode de diffusion par disques	36
III.3.2. Méthode de diffusion par puits.....	42
Conclusion et perspective.....	52
Références bibliographiques.	
Annexes.	

Liste des figures

Figure 1 : Production de peroxyde d'hydrogène (H ₂ O ₂).....	8
Figure 2 : Les échantillons de miel.	12
Figure 3 : Préparation des dilutions du miel.....	19
Figure 4 : Teneur en eau des miels analysés	21
Figure 5 : Le pH des miels analysés.....	22
Figure 6 : Acidité libre des miels analysés.....	23
Figure 7 : Conductivité électrique des miels analysés.	24
Figure 8 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Chrom-Agar.	27
Figure 9 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu gélose au sang	28
Figure 10 : Aspect macroscopique de <i>Staphylococcus aureus</i> sur le milieu Chapman.	28
Figure 11 : Aspect macroscopique de <i>Serratia liquefaciens</i> et <i>klebsiella pneumoniae</i> sur le milieu Hektoen.	28
Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Proteus mirabilis</i> et <i>Enterobacter cloacae</i> sur le milieu Hektoen.	29
Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies de <i>Salmonella enteritidis</i> sur le milieu XLD.....	29
Figure 14 : Observation microscopique après coloration de Gram les sept souches isolées (x 100).	30
Figure 15 : Résultats du test d'oxydase pour l'identification des bactéries.	31
Figure 16 : Résultats du test de Catalase pour l'identification des bactéries.	31
Figure 17 : Présence d'enzyme coagulase chez <i>Staphylococcus aureus</i>	32
Figure 18 : Résultats de la galerie API 20 NE pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	32
Figure 19 : Résultat de la galerie API 20E pour les cinq souches.....	33
Figure 20 : Résultat de l'antibiogramme chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
Figure 21 : Résultat de l'antibiogramme chez <i>S. aureus</i>	35
Figure 22 : Résultat de l'antibiogramme des cinq souches.	37
Figure 23 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>P. aeruginosa</i>	39
Figure 24 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>S. aureus</i>	40
Figure 25 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Salmonella enteritidis</i>	40
Figure 26 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Enterobacter cloacae</i>	41
Figure 27 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Serratia liquefaciens</i>	42

Figure 28 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Proteus mirabilis</i>	42
Figure 29 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>klebsiella pneumonie</i>	43
Figure 30 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>P. aeruginosa</i>	45
Figure 31 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>S. aureus</i>	46
Figure 32 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Salmonella enteritidis</i>	46
Figure 33 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Serratia liquefaciens</i>	47
Figure 34 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Enterobacter cloacae</i>	48
Figure 35 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>Proteus mirabilis</i>	48
Figure 36 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur <i>klebsiella pneumonie</i>	49

Liste des tableaux

Tableau I : Les caractéristiques et la taxonomie de sept souches bactériennes testées.	9
Tableau II : Description des différents échantillons du miel utilisés.....	11
Tableau III : les antibiotiques testés pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	17
Tableau IV : les antibiotiques testés pour <i>Staphylococcus aureus</i>	18
Tableau V : les antibiotiques testés pour <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>klebsiella pneumonie</i>	18
Tableau VI : les résultats de l'identification des souches de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> et <i>Staphylococcus aureus</i>	26
Tableau VII : Les résultats de l'identification des autres souches.....	27
Tableau VIII : Résultat de l'antibiogramme pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	34
Tableau IX: Résultat de l'antibiogramme de <i>S. aureus</i>	34
Tableau X : Résultat de l'antibiogramme des cinq souches, <i>Salmonella enteritidis</i> , <i>Serratia liquefaciens</i> , <i>Enterobacter cloacae</i> , <i>Proteus mirabilis</i> , <i>klebsiella pneumonie</i> . ..	36
Tableau XI : La Sensibilité du <i>P.aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> et les autre cinq souches aux différentes dilutions de cinq échantillons de miel déterminée par Méthode de diffusion par disque.....	38
Tableau XII: La Sensibilité du <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i> et cinq souches des Entérobactéries aux différentes dilutions de cinq échantillons de miel déterminée par Méthode de diffusion par puits.....	44

Liste des abréviations

ADH :	Arginine dihydrolase
ADI :	Acide adipique
AK :	Amikacine
AL :	Acidité libre
AM :	Ampicilline
AMY :	Amygdaline
API20E	Analytical profile index 20E (E= Entérobactéries)
API20NE:	Analytical profile index 20 Non Entérobactéries
ARA :	L-arabinose
AZM :	Azithromycine
CAP :	Acide caprique
CAZ :	Céftazidime
CEE :	Communauté Économique Européenne
CIP :	Ciprofloxacine
CIT :	Citrate de sodium
ESC :	Esculine citrate de fer
FC :	Acide fusidique
FF :	Fosfomycine
Fox :	Cefoxitine
GEL :	Gelatine
GLU :	D-glucose
GN :	Gentamicine
GNT :	Potassium gluconate
H2O2 :	peroxyde d'hydrogène
H2S :	Sulfure d'hydrogène
IMP :	Imipénem
IND :	Indole
INO :	Inositol
IR :	Indice de réfraction
K30 :	Kanamycin
LDS :	Lysine décarboxylase

MAL :	D-maltose
MAN :	D-mannitol
MEL :	D-mélibiose
Meq :	Milliéquivalent
MF :	McFarland
MH :	Muller Hinton
MLT :	Acide malique
MNE :	D-mannose
Mv :	Masse volumique
NA :	Acide Nalidixique
NAG :	N-acétylglucosamine
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NO3 :	Nitrate
ODS :	Ornithine décarboxylase
OPNG :	Ortho-Nitrophényl- β -galactoside
PAC :	Acide phénylacétique
pH :	potentiel hydrogène
PIT :	Pipéracilline
PNPG :	4-Nitrophenyl β -D-glucopyranoside
RHA :	L- rhamnose
SAC :	D-saccharose
SOR :	D-sorbitol
TCC :	Tétracycline
TDA :	Tryptophane déaminase
TOB :	Tobramycine
TRP :	L-Tryptophane
URE :	Urease
VA :	Vancomycine
VP :	Voges-Proskauer
XLD :	Gélose xylose-lysine-désoxychola

Introduction

Introduction

Le miel est un produit naturel sucré sursaturé et savoureux d'une grande valeur nutritionnelle. Il est également utilisé dans la thérapie traditionnelle, en particulier pour ses propriétés anti oxydantes, anti-inflammatoires et antimicrobiennes (**Cheepa et al., 2022**). Le retour à la nature s'avère très nécessaire tant sur le plan de la médication que sur le plan de l'alimentation. Le miel, substance naturelle produite par les abeilles (*Apis mellifera*) à forte intensité énergétique, ainsi il est produit avec des couleurs, des arômes et des consistances très divers selon son origine botanique (**Almasaudi, 2021**).

L'Algérie dispose d'une richesse floristique intéressante pour produire divers types de miels mono et poly floraux. Ces miels varient considérablement dans leurs propriétés physico-chimiques, organoleptiques et pollinique de sorte que la composition du miel est plutôt variable, en fonction de son origine florale géographique (**El Sohaimy et al., 2015**).

Les maladies infectieuses ont un impact croissant à l'échelle mondiale. Ceci s'explique généralement par le phénomène de l'antibiorésistance. C'est la raison pour laquelle de récentes études se sont concentrées sur les propriétés thérapeutiques de certains produits naturels. Sachant que ceux-ci n'ont généralement pas d'effets indésirables. Le miel compte parmi les produits les plus convoités. Il est bien connu pour son activité antibactérienne, depuis l'antiquité, il est utilisé pour le traitement et la prévention des infections des plaies. Avec l'avènement des antibiotiques, l'application clinique du miel a été abandonnée dans la médecine occidentale moderne, bien que dans de nombreuses cultures, il soit encore utilisé (**Kwakman, 2012**). Pour toutes les classes d'antibiotiques, y compris les principaux médicaments de dernier recours, la résistance augmente dans le monde et, plus alarmant encore, très peu de nouveaux antibiotiques sont en cours de développement. La puissante activité du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques a suscité un regain d'intérêt pour son application (**Mandal, 2011**). L'efficacité et la puissance du miel contre les micro-organismes dépendent du type de miel produit, qui dépend de son origine botanique, de la santé de l'abeille, de son origine et de la méthode de traitement (**Almasaudi, 2021**).

Dans ce contexte, le présent travail s'intéresse à étudier quelques caractéristiques physico-chimiques notamment le pH, l'acidité libre, la teneur en eau et la conductivité électrique et identifier le pouvoir antibactérien de cinq types de miels mono et poly floraux produits en Algérie contre certaines bactéries pathogènes pour l'homme. Les analyses effectuées permettent d'identifier la qualité, la stabilité du miel dans le temps et aussi d'évaluer la propriété antibactérienne des miels choisie pour cette étude.

Introduction

Ce document est divisé en deux parties, une partie bibliographique qui a porté sur l'élaboration du miel, la description de ses différents composés et les propriétés des miels, et une partie expérimentale, rassemblant les méthodologies utilisées pour les analyses physico-chimiques et antibactériennes, les résultats obtenus et leurs discussions.

Chapitre I :
Partie bibliographique

I.1.Elaboration du miel et description de ses différents composés

I.1.1.Définition du miel

Le miel est une substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (**Codex Alimentarius, 2001**).

I.1.1.1.Elaboration du miel

Le miel est un produit élaboré par les abeilles selon un processus de transformation. Les abeilles ouvrières prélèvent le nectar ou le miellat qu'elles emmagasinent dans leurs jabots. A ce niveau, le saccharose est transformé en fructose et en glucose (sucres simples), sous l'action de la gluco-invertase contenue dans leurs salives (**Gonnet, 1982**).

I.1.1.2.Origine du miel

Le miel provient des plantes, notamment de leur sève. Il est extrait de deux façons des vaisseaux qui la contiennent et on parle de miels de nectar et miel de miellat. Bien que les miels de miellat et les miels de nectar puissent être différenciés par l'analyse physico-chimiques ; puisque les miels de miellat ont un pH, une acidité, une conductivité électrique plus élevés et une couleur plus foncée (**Schweitzer, 2004**).

Le miel de miellat est principalement produit à partir des sécrétions des parties vivantes des plantes ou des excréments laissés par les insectes suceurs tels que les pucerons. (**Marchenay, 1988**).

Le miel de nectar est une substance sucrée naturelle produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes (**Directive, 2001**). Le nectar est une substance sucrée produite par les nectaires floraux ou extra-floraux, qui se forme à partir de la sève élaborée des plantes (**Marchenay, 1988**).

Les miels mono floraux sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant majoritairement d'une seule espèce végétale. Pour qu'un miel soit considéré comme uni floral, il doit être composé à 80% de la même espèce végétale (**Gonnet, 1982**).

Les miels multi floraux, également connus sous le nom de miels toutes fleurs, sont généralement catégorisés en fonction des zones ou des périodes de récolte ainsi que en fonction de leur lieu ou de leur saison de production (**Donadieu, 1984**).

Les analyses polliniques peuvent être utilisées pour différencier entre le miel monofloral et le miel polyfloral. L'analyse consiste à examiner les grains de pollen présents dans le miel pour identifier les sources florales utilisées par les abeilles (**Marchenay, 1988**).

I.1.1.3. Composition des miels

La composition du miel dépend principalement des sources de butinage. Il varie en fonction de l'origine florale. Signalent que plusieurs facteurs peuvent influencer la composition chimique du miel tel que la nature du sol, les conditions climatiques, les conditions de stockage et la compétence des apiculteurs (**Shin et Ustunol, 2005**). La race d'abeille peut aussi influencer la composition chimique du miel. La composition du miel varie d'un échantillon à l'autre, généralement, le miel contient des éléments majeurs et des éléments mineurs (**Domerego et al., 2009**).

Le miel est principalement composé de glucides et d'eau. Les glucides représentent de 95 à 99% de la matière sèche des miels. Chaque miel susceptible de contenir une bonne dizaine de sucres ce sont des mono, di ou tri-saccharides représentaient les 80% du poids total de miel. Deux types de sucres, le glucose et le fructose, représentent 80% du miel, mais leurs proportions varient en fonction de la flore butinée (**Gleiter et al., 2006**). D'autres sucres tels que le maltose 7,2%, le saccharose 1,5% et quelque oligosaccharide 4,2% sont présents dans le miel (**Shin et Ustunol, 2005**).

L'eau est présente en quantité non négligeable puisque sa teneur moyenne est de 17.2%, cette valeur peut varier. Les abeilles sont capables de détecter la teneur en eau du miel et d'operculé les alvéoles lorsque celle-ci approche les 18%, assurant ainsi la protection et la maturation du miel (**Bogdanov S, 2003**). Le miel contient en petites quantités les composants suivants :

-Les acides organiques

La plupart des acides organiques du miel proviennent des nectars des fleurs ou des transformations opérées par l'abeille. On y trouve également une vingtaine d'acides organiques comme l'acide acétique, l'acide citrique, l'acide lactique, l'acide malique, fixés d'origine végétale, responsables de la perception de l'arôme naturel des miels (**Gonnet et Vache, 1984**).

-Les enzymes

Le miel contient un certain nombre d'enzymes, dont le glucose oxydase, l'invertase et l'amylase, qui semblent provenir des abeilles. Le glucose oxydase joue un rôle essentiel dans l'activité antibactérienne des miels ainsi que dans la génération d'acide gluconique. L'enzyme invertase catalyse la conversion du saccharose obtenu à partir du nectar (**Saranraj et Sivasakthi, 2018**).

-Les composés aromatiques

Le miel contient de nombreuses substances aromatiques à l'état de traces et qui lui donnent sa saveur. L'arôme de miel dépend de la composition de fraction volatile, qui est sous l'influence de la composition de nectar et d'origine florale (**Cuevas-Glory et al., 2007**).

-Les vitamines

Le miel est un aliment pauvre en vitamine. Toutes les vitamines identifiées sont hydrosolubles, la plus importante étant la vitamine C avec une teneur variant de 0 à 30% selon l'origine du miel. Les autres vitamines détectées sont la riboflavine, la biotine et la thiamine ainsi que d'autres vitamines du groupe B (**Ciulu et al., 2011**).

I.2. Les propriétés des miels

I.2.1 Propriétés physico-chimiques

Les propriétés physico-chimiques du miel sont d'une grande importance et leur interprétation permet non seulement de déduire la fraîcheur du miel, mais aussi les conditions optimales de stockage du miel et sa qualité (**Bogdanov, 2011**).

I.2.1.1. Teneur en eau

La teneur en eau est un paramètre de qualité important qui doit être déterminé afin d'éviter le pourrissement du miel dû à la fermentation. Elle n'est pas comme d'autres paramètres qui sont facultativement acceptés, car elle affecte à la fois la qualité et la durée de conservation du miel (**Bogdanov et al., 2004**). La commission internationale du miel (IHC) est fixée une limite maximale de 20 ml d'eau/100 g de miel pour tout échantillon de miel accepté pour le commerce du miel. La teneur en humidité du miel est évaluée par indice de réfraction (**Sanchez et al., 2010**).

I.2.1.2. Conductivité électrique

La conductivité électrique est une mesure de la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique. Dans le cas du miel, cette conductivité dépend de sa

teneur en minéraux et de son niveau d'acidité, et elle tend à être plus élevée lorsque ces facteurs sont plus importants (**Bognanov, 2011**). La conductivité électrique varie considérablement selon l'origine florale du miel, et elle est considérée comme l'un des meilleurs indicateurs pour différencier les miels provenant de différentes sources florales (**Terrab et al., 2004**).

I.2.1.3.PH

Le pH de miel est relativement acide variant entre 3,5 et 5,5 ; en raison de la présence d'acides organiques qui contribuent à la saveur de miel et sa stabilité contre les microbes (**Bogdanov et al., 2004**). Le nectar, qui est l'élément de base du miel, a un pH compris entre 3,5 et 4,5, tandis que le miel de miellat présente un pH légèrement plus élevé, variant de 4,5 à 5,5 (**Gonnet, 1986**).

I.2.1.4.Acidité libre

L'acidité du miel est due à la présence des acides organiques, en particulier de l'acide gluconique, (**Al-khalifa et Al-arify, 1999**). Certains de ces acides proviennent du nectar et d'autres de miellat, mais leur origine principale est recherchée du côté des sécrétions salivaires de l'abeille (**Bogdanov et al., 2004**). L'acidité libre c'est un paramètre légal et indice de fermentation de miel qui est un critère important de la qualité. Selon le Codex Alimentarius, la valeur moyenne de l'acidité autorisée ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents d'acide par kilogramme (**Codex Alimentarius, 2001**).

I.2.2.Propriétés antimicrobienne

Plusieurs études ont mis en évidence l'activité antimicrobienne *in vitro* du miel, qui peut inhiber la croissance de micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les virus. Il a été démontré que le miel possède des activités bactériostatiques et bactéricides sur de nombreuses souches, y compris certaines qui sont résistantes aux antibiotiques (**Zumla et Lulat, 1989**).

Le miel peut être efficace contre un large éventail d'espèces fongiques, l'activité antifongique du miel est attribuée à sa capacité à perturber la membrane cellulaire des champignons et à interférer avec leurs processus métaboliques. Il peut être utilisé par voie topique pour traiter les infections fongiques de la peau et des ongles telles que le pied d'athlète et la teigne (**Kwakman et al., 2010**).

Il a été démontré que le miel possède une activité antivirale contre une variété de virus en laboratoire. On pense que l'activité antivirale du miel est due à sa capacité à

interférer avec l'entrée du virus dans les cellules hôtes, ainsi que sa capacité à perturber la réplication et l'agrégation virales (Al-Waili, 2011).

I.2.2.1. Activité antibactérienne des miels

Le miel présente une activité antibactérienne contre de nombreuses bactéries dans différents environnements. Les composants naturels du miel ont diverses activités contre différents micro-organismes. Il a été clairement démontré que plusieurs mécanismes sont impliqués dans les propriétés antibactériennes du miel et agissent en synergie, notamment l'osmolarité, le pH acide, le système peroxyde d'hydrogène (inhibine) et de défensine-1 (Cavelier, 2013). La teneur en substances antibactériennes dans le miel peut varier en fonction de nombreux facteurs, tels que la variété de la plante à partir de laquelle le miel est produit, le lieu et les conditions climatiques où la plante a été cultivée, la saison de la récolte et de stockage du miel (Alvarez-Suarez et al., 2014).

-L'osmolarité

En raison de la forte teneur en sucre du miel, la pression osmotique du miel est généralement élevée, ce qui entraîne une faible activité de l'eau (a_w) avec un intervalle signalé de 0,562 à 0,62 (Bogdanov et al., 1997), ce qui confère à l'osmolarité un rôle essentiel dans l'activité antimicrobienne des miels non dilués. En effet, la croissance de nombreuses espèces bactériennes est complètement inhibée lorsque l'activité de l'eau est dans l'intervalle de 0,94 à 0,99 (Molan, 1992).

-Le pH

Le pH du miel est relativement acide qui peut ralentir ou prévenir la croissance de plusieurs espèces bactériennes (Cavelier, 2013). Cette acidité, qui se situe entre pH 3,2 et 4,5, est causée par la présence d'acides organiques, notamment l'acide gluconique, qui confère au miel sa forte efficacité antibactérienne. Bien que le pH acide du miel pur non dilué contribue grandement à son potentiel antimicrobien, il ne suffit pas à inhiber la croissance de plusieurs types de bactéries lorsqu'il est dilué dans des liquides corporels ou des aliments (Molan, 1992).

-Le peroxyde d'hydrogène

Le peroxyde d'hydrogène, également connu sous le nom d'eau oxygénée (H_2O_2), est considéré comme l'un des principaux inhibiteurs présents dans le miel. L'eau oxygénée et l'acide gluconique contribuent à l'acidité du miel, ce qui rend l'environnement peu propice au développement de colonies bactériennes (Cavelier, 2013). Ces deux substances sont produites suite à l'oxydation du glucose et de l'eau, provoquée par la glucose-oxydase.

Cependant, la catalase, qui agit comme antagoniste de la glucose-oxydase, réduit la concentration d'eau oxygénée. (Bogdanov et Blumer, 2001) (Figure 1).

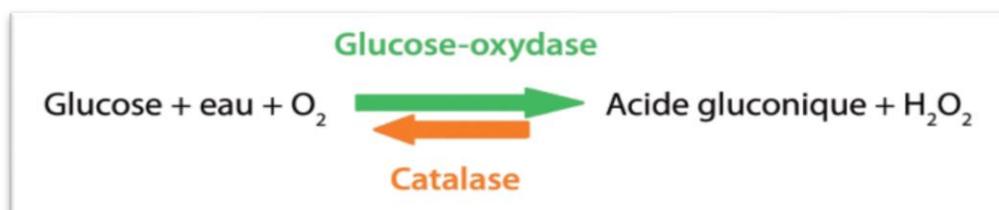


Figure 1: Production de peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) (Cavelier, 2013).

-La défensine-1

La défensine est une protéine fabriquée par la glande hypopharyngienne des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale. Il a été récemment démontré que la plupart des propriétés antibactériennes du miel sont dues à cette protéine. La défensine agit en ciblant spécifiquement les bactéries, en perturbant leur membrane cellulaire et en interférant avec leur fonctionnement. Il interagit avec les lipides présents dans les membranes bactériennes, ce qui entraîne leur rupture et la fuite des composants cellulaires essentiels. Cela conduit finalement à la destruction de la bactérie. La présence de défensine dans le miel peut varier en fonction de différents facteurs, tels que l'espèce d'abeille, le régime alimentaire et les conditions environnementales (Kwakman et al., 2010).

I.3.Description des souches testées

Le tableau I présente les caractéristiques générales et la taxonomie de sept souches bactériennes, à savoir *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Staphylococcus aureus*.

Partie bibliographique

Tableau I : Les caractéristiques et la taxonomie de sept souches bactériennes testées.

les souches testées	Généralités
S. aureus	<p><i>Staphylococcus aureus</i> est une bactérie à Gram positif de forme cocci, disposée en amas, en diplocoques, en courtes chaînettes ou en grappes de raisin. Cette bactérie est immobile, asporulée et peut parfois être encapsulée (Jean-Loup et al., 2000)</p> <p><i>Staphylococcus aureus</i> est une espèce faisant partie du <i>Bacillota</i>, la Classe <i>Bacilli</i>, Ordre <i>Bacillales</i> et la Famille <i>Staphylococcaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>
P. aeruginosa	<p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> est une bactérie à Gram négatif qui se présente sous la forme de bâtonnets droits ou légèrement incurvés. Elle possède un unique flagelle polaire, ce qui lui permet de se déplacer (Denis et al., 2007).</p> <p><i>Pseudomonas aeruginosa</i> est une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, classe <i>Gammaproteobacteria</i>, de l'ordre <i>Pseudomonadales</i> et de la famille <i>Pseudomonadaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>
S. enteritidis	<p><i>Salmonella enteritidis</i> est une bactérie à Gram négatif, de forme bacille. Elle est souvent mobile grâce à la présence de flagelles qui lui permettent de se déplacer , C'est une bactérie facultativement anaérobie (Korsak et al., 2004).</p> <p><i>Salmonella enterica</i> est une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, la Classe <i>Gammaproteobacteria</i>, Ordre <i>Enterobacterales</i> et la Famille <i>Enterobacteriaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>
P. mirabilis	<p><i>Proteus mirabilis</i> est une bactérie à Gram négatif, forme bacilles polymorphes, ce qui signifie qu'elle peut avoir différentes tailles et formes. Elle est hautement mobile grâce à ses flagelles et ne produit pas de spores (Nakahara et al., 1996).</p> <p><i>Proteus mirabilis</i> est une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, Classe <i>Gammaproteobacteria</i>, Ordre <i>Enterobacterales</i> et la Famille <i>Morganellaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>

Tableau II : Les caractéristiques et la taxonomie de sept souches bactériennes testées
(suite).

S. <i>liquefaciens</i>	<p><i>Serratia liquefaciens</i> est une bactérie à Gram négatif, de forme bacille. Elle a une structure de bâtonnet. Mobile grâce à la présence de flagelles péri-trichiques. Elle est facultativement anaérobie, mais elle préfère généralement un environnement aérobie (Givskov et al., 2006).</p> <p><i>Serratia liquefaciens</i> est une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, Classe <i>Gammaproteobacteria</i>, Ordre <i>Enterobacterales</i> et la Famille <i>Yersiniaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>
E. <i>cloacae</i>	<p><i>Enterobacter cloacae</i> est une bactérie à Gram négatif, de forme bacille, qui est mobile, non sporulée et aéro-anaérobie (John et al., 1982).</p> <p><i>Enterobacter cloacae</i> une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, Classe <i>Gammaproteobacteria</i>, Ordre <i>Enterobacterales</i> et la Famille <i>Enterobacteriaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>
K. <i>pneumoniae</i>	<p><i>Klebsiella pneumoniae</i> est une bactérie à Gram négatif, non mobile et de forme en bâtonnet. Elle possède une capsule qui lui confère une protection supplémentaire (Paczosa et Mecsas, 2016).</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> une espèce faisant partie du phylum <i>Pseudomonadota</i>, Classe <i>Gammaproteobacteria</i>, Ordre <i>Enterobacterales</i> et la Famille <i>Enterobacteriaceae</i> (Schoch et al., 2020).</p>

Chapitre II

Matériel et méthodes

II. Matériel et méthodes

— Notre étude expérimentale consiste à réaliser quelques analyses physico-chimiques, et tester l'effet antibactérien de 5 échantillons de miels mono et poly floraux produits en Algérie. Les paramètres physicochimiques analysés sont : la teneur en eau, le pH, l'acidité libre et la conductivité électrique. L'évaluation du pouvoir antibactérien a été testé contre sept souches bactériennes pathogènes : *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae*. La partie expérimentale s'est étalée sur une période allant du mois de février jusqu'au mois de mai de l'année 2023. Les analyses physico-chimiques ont été réalisées au niveau du laboratoire ANAP-CASSA situé à sidi Madani, la Chiffa wilaya de Blida. Les activités antibactériennes ont été réalisées au niveau du laboratoire d'analyses médicales « Fairouz » et à l'hôpital mère et enfant situées dans la wilaya de Tipaza.

II.1. Matériel

II.1.1. Matériel non biologique

L'ensemble des équipements, verreries et les consommables utilisés dans notre étude physicochimiques et microbiologiques sont illustrés au niveau des **Annexes I et II**.

II.1.2. Matériel biologique

II.1.2.1. Les échantillons de Miel

Cette étude a porté sur cinq échantillons de miel mono floraux et poly floraux, collectées par les apiculteurs. Les miels sont classés selon leurs origines florales et leurs provenances telle que déclaré par l'apiculteur (**Tableau I**). Les échantillons sont conditionnés dans des bocaux hermétiques, et conservés à 4°C de l'abri de la lumière pour des analyses ultérieurs (**Figure 2**).

Tableau III : Description des différents échantillons du miel utilisés.

N° d'échantillon	Type de miel (Appellation)	Lieu de récolte	Année de récolte	
1	Mono-floral	Miel de Jujubier	Djelfa	2022
2		Miel d'agrumes	La Mitidja	2022
3		Miel d'eucalyptus	Tipaza	2022
4	Poly-floral	Miel de toutes fleurs de montagne	Tipaza	2022
5		Miel de toutes fleurs de steppe	Djelfa	2022



Figure 2: Les échantillons de miel.

II.1.2.2. Les souches bactériennes utilisées

Nous avons utilisé sept souches bactériennes. Une souche à Gram positif, *Staphylococcus aureus*, et d'autres à Gram négatif, à savoir *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, et *Klebsiella pneumoniae* ont été préalablement isolées dans des milieux sélectifs. Les bactéries *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été isolées à partir de prélèvements de pus, conformément aux protocoles suivis à l'hôpital. Les autres souches proviennent de la collection du laboratoire de microbiologie de l'hôpital mère et enfant, situé dans la wilaya de Tipaza, Ces souches ont été repiquées et identifiées.

II.2. Méthodes

II.2.1. Analyse physico-chimiques des miels

La détermination des paramètres physico-chimiques permet de vérifier leur qualité selon les normes internationales du codex alimentaire (**Codex Alimentarius, 2001**) et celles de la commission européenne (**Directive, 2001**). Les analyses physico-chimiques des échantillons de miels sont réalisées selon les techniques d'analyses recommandées par la commission internationale du miel (IHC) publiées par (**Bogdanov et al., 1997**) et actualisées par (**Bogdanov et al., 2001**). Les paramètres analysés sont : la teneur en eau, la conductivité électrique, le pH, teneur en acidité libre. Lors de l'analyse, chaque échantillon est traité à part, après chaque prélèvement, un nettoyage de la spatule avec l'eau distillée est nécessaire pour que chaque miel garde ses propriétés.

II.2.1.1. Détermination de la teneur en eau

La détermination de la teneur en eau est obtenue par la mesure optique des indices de réfraction des miels. Les indices de réfractons sont convertis en teneur en eau selon la table de CHATAWAY cité par (**Bogdanov et al., 1997**). La détermination de la teneur en eau de nos échantillons de miel est réalisée au moyen d'un réfractomètre digital (**Annexe I**). La détermination de la teneur en eau s'effectue par la mesure optique de l'indice de

réfraction (IR) du miel à 20°C. Il s'agit du rapport de la vitesse de la lumière dans le vide sur la vitesse de la lumière dans la substance. La méthode consiste à prendre une petite quantité de miel dans un tube hermétiquement fermé qui est placé dans un bain marie (**Annexe I**), à une température qui ne dépasse pas 50°C et cela afin de supprimer la cristallisation. Laisser revenir le miel à température ambiante, puis au moyen d'une baguette en verre, répartir une goutte de miel est déposée sur la surface du prisme au fond de la cavité. Les résultats affichés sur l'appareil de refractomètre seront convertis à l'aide de la table de **CHATAWAY**, qui indique la teneur en eau correspondante. Les résultats obtenus sont enregistrés dans un fichier Excel.

II.2.1.2. Détermination du pH et de l'acidité libre par titrage de pH au point équivalent

La détermination du pH et le dosage de l'acidité libre des échantillons de miels sont réalisés grâce à un pH mètre de type Hanna (**Annexe I**) que nous avons étalonné à pH 7 et pH 4. La mesure du pH est réalisée sur une solution de miel 10% mv. Ainsi 10 g de miel sont dilués dans 75 ml d'eau distillée, bien agité à l'aide d'un agitateur mécanique. Lorsqu'on prolonge l'électrode dans la solution de miel, la mesure du pH s'affiche directement sur l'écran de l'appareil et la valeur est enregistrée avec deux décimales.

Pour déterminer l'acidité libre dans un échantillon de miel, dans un bécher nous avons dissous 10 g de miel dans 75 ml d'eau distillée, puis agité la solution à l'aide d'un agitateur magnétique. Le pH initial est mesuré à l'aide d'un pH-mètre, et la solution de miel est titrée avec une solution de soude à 0,1 M jusqu'à ce que le pH atteigne 8,3. Après avoir noté le volume de la solution de soude utilisée lors de la titration, l'acidité libre est calculée en milliéquivalents par kilogramme de miel à partir de la formule suivante :

$$AL \text{ (meq/kg)} = V_{NaOH} \text{ (volume de titrage en ml)} \times 10$$

10 : Le facteur de conversion pour exprimer l'AL par kg de miel.

V_{NaOH} : Volume de la soude en (ml) nécessaire à la neutralisation de la solution de miel.

II.2.2.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique d'une solution de miel à 20% de masse volumique a été mesurée à 20°C en utilisant un conductimètre (**Annexe I**). Cette mesure permet de déterminer la quantité de particules chargées présentes dans la solution et leur mobilité, exprimée en milli siemens par centimètre (ms.cm⁻¹). Le conductimètre utilisé pour effectuer cette mesure est de type basic qui a été calibré à 1413µs.cm⁻¹ puis à 500 µs.cm⁻¹.

Pour réaliser cette méthode, il faut d'abord prendre une quantité de 10g de miel et la placer dans un bécher de 50ml. Ensuite, le miel est dissous en ajoutant de l'eau distillée jusqu'à atteindre un volume total de 50ml. Cette solution est ensuite transférée dans un autre bécher qui est ensuite placé dans un bain marie (**Annexe I**), à une température de 20°C. Une fois que la température souhaitée est atteinte, l'électrode du conductimètre est immergée dans le bécher afin de mesurer la conductivité électrique.

II.2.2. Evaluation de l'activité antibactérienne

II.2.2.1. La mise en culture des bactéries

Les souches isolées ont étéensemencées en surface sur des milieux non sélectifs Chrom-Agar et gélose au sang, ainsi que sur les milieux sélectif Chapman, Hektoen et le milieu différentiel modérément sélectif XLD (xylose-lysine-désoxycholate). Les boîtesensemencées ont été incubées dans une étuve pendant 24 à 48 heures à une température de 37°C.

II.2.2.2. Examen macroscopique des colonies

L'aspect des colonies bactériennes peut varier en fonction de divers facteurs, tels que la bactérie, le milieu de culture et les conditions de croissance. Cependant, il est possible de décrire certaines caractéristiques générales des colonies bactériennes (taille, forme, couleur, texture, transparence, bordure et odeur) (**Hart et Shears, 1997**).

II.2.2.3. Coloration de Gram des bactéries isolées

La coloration de Gram est une technique de coloration différentielle (**Annexe IV**) utilisée en microbiologie pour distinguer les bactéries Gram-positives et Gram-négatives en fonction de la structure de la paroi cellulaire (**Astier-Théfenne et al., 2014**).

La coloration de Gram est réalisée comme suite :

- Préparer la lame de microscope pour étaler le frottis bactérien en une fine couche.
- Fixer le frottis bactérien à la chaleur du bec Bunsen.
- Recouvrir la lame par le violet de Gentiane (cristal violet) pendant 1min. Eliminer l'excès par l'eau courante.
- Ajouter du Lugol et appliquer pendant 1min, jeter l'excès par l'eau courante.
- Traiter à l'alcool pendant quelques secondes (10-15 secondes), puis rincer à l'eau
- Recolorer à la Fuschine pendant 60 à 75 secondes, rincer à l'eau puis. Puis sécher
- Observer au microscope optique la lame colorée en ajoutant une goutte de l'huile à immersion (objectif×100).

II.2.2.4. Caractérisation biochimique des bactéries

Il existe de nombreux tests pour caractériser les bactéries sur le plan biochimique, nutritionnel et physiologique.

-Test d'oxydase

Le test d'oxydase est utilisé pour identifier la présence d'enzyme oxydase chez les bactéries. Le principe de ce test est de détecter la capacité d'une bactérie à produire de l'oxydase. La méthode consiste à déposer un disque oxydase sur une lame, puis à gratter une colonie de bactérie isolée sur le disque à l'aide d'une pipette Pasteur. Ensuite, après quelques secondes, s'il prend une teinte bleue ou violette, cela indique une oxydase positive, tandis que s'il reste incolore, cela indique une oxydase négative (**Denis et al., 2007**).

-Test de catalase

Le test de catalase est utilisé pour déterminer la présence de l'enzyme catalase dans une bactérie. Cette enzyme est responsable de la conversion du peroxyde d'hydrogène en eau et en oxygène. Le test consiste à ajouter une goutte de peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) sur une culture bactérienne et à observer la réaction. Une réaction positive, telle que la formation de bulles d'oxygène, indique la présence de catalase dans l'échantillon. Ce test est couramment utilisé en microbiologie pour différencier les bactéries Gram positifs qui produisent de la catalase de celles qui n'en produisent pas (**Hart et Shears, 1997**).

-Le test de coagulase

Le test de coagulase est utilisé pour différencier les souches de *Staphylococcus aureus*, une bactérie pathogène, des autres staphylocoques à coagulase négatifs. La coagulase est une enzyme produite par *S. aureus* qui permet à la bactérie de coaguler le fibrinogène présent dans le sang. Le test de coagulase se réalise en inoculant une souche bactérienne à tester dans un tube contenant du plasma humain. Si la bactérie produit de la coagulase, elle va agir sur le fibrinogène du plasma, entraînant une coagulation visible sous la forme d'un caillot dans le tube. Un résultat positif indique la présence de *S. aureus*, tandis qu'un résultat négatif indique qu'il s'agit probablement d'un staphylocoque coagulase négatif (**Jean-Loup et al., 2000**).

-Galerie d'identification API20NE et API20E :

L'API 20 NE est un système standardisé utilisé pour l'identification des bacilles à Gram négatif non fermentaires et non fastidieux tels que *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Flavobacterium*, *Moraxella*, *Vibrio*, *Aeromonas*, etc. Ce système combine 8 tests

conventionnels, 12 tests d'assimilation et une base de données pour faciliter l'identification précise des bactéries (**Bosshard et al., 2006**) (**Dance et al., 1989**).

La technique des galeries API 20E est une méthode miniaturisée et standardisée utilisée pour l'identification des bactéries à Gram négatif, notamment les entérobactéries. Elle se compose de 20 micro tubes contenant des substrats déshydratés (**Popovic et al., 2007**).

Le mode opératoire comprend les étapes suivantes :

- Préparez une suspension bactérienne en diluant une colonie bactérienne fraîche dans 5 ml d'eau distillée stérile jusqu'à obtenir une opacité équivalente à 0,5 unité de McFarland.
- Placez la galerie API dans une boîte d'incubation.
- Remplissez les tubes et les cupules des tests requis avec la suspension bactérienne. Pour les autres tests, remplissez uniquement les tubes.
- Pour les tests nécessitant une anaérobiose (uniquement pour le kit API 20E), remplissez la cupule correspondante avec de l'huile de vaseline stérile.
- Refermez la boîte d'incubation et incubez à 37°C pendant 18 à 24 heures.
- Après l'incubation, examinez les résultats de chaque test en notant les changements de couleur et les réactions biochimiques observés.
- Utilisez la table de résultats fournie avec le kit API pour interpréter les réactions et identifier la bactérie testée.

II.2.2.5. Antibiogramme

Selon **Jehl et Cattoen (2016)**, l'antibiogramme est une technique utilisée pour tester la sensibilité d'une bactérie à différents antibiotiques. Cette méthode consiste à cultiver la bactérie en présence de différents antibiotiques, puis à observer sa croissance ou son absence de croissance pour déterminer l'efficacité de chaque antibiotique. Les résultats obtenus permettent de choisir le traitement antibiotique le plus approprié pour traiter l'infection bactérienne.

Une suspension bactérienne a été préparée pour chaque souche testée, dans des conditions aseptiques. Pour ce faire, nous avons prélevé avec une anse de platine quelques colonies bien isolées et identiques d'une culture pure de 18 à 24 heures. Ensuite, nous avons déchargé soigneusement l'anse dans 5 à 10 ml d'eau distillée stérile. Bien homogénéiser la suspension bactérienne jusqu'à ce que son opacité soit équivalente à 0,5

II. Matériel et méthodes

MF. Enfin, il est important de réaliser l'ensemencement dans les 15 minutes qui suivent la préparation d'inoculum (**Collaboration de l'OMS, 2020**).

L'ensemencement consiste à tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne, puis à l'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube pour éliminer le maximum de liquide. Ensuite, l'écouvillon est utilisé pour frotter toute la surface du milieu gélosé de Muller Hinton dans des boîtes de Pétri. Cette opération doit être répétée trois fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois et en faisant pivoter l'écouvillon sur lui-même. Enfin, l'ensemencement est terminé en passant l'écouvillon sur la périphérie de la surface gélosée (**Collaboration de l'OMS, 2020**).

-Application des disques

Les disques choisis sont posés à l'aide d'une paire de pinces stériles. Ils doivent être appliqués à plat sans glissement et laissez un espace de 15 mm entre le bord de la boîte et les disques périphériques, et assurez-vous que les centres de deux disques sont espacés d'au moins 30 mm pour éviter que les zones d'inhibition se chevauchent (**Jehl et Cattoen, 2016**).

-Le choix des antibiotiques :

Selon la table de lecture établie par l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS), Le choix des antibiotiques s'effectue en fonction de la bactérie identifiée. Dans notre cas, les antibiotiques testés pour *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *klebsiella pneumonie*, sont cités dans les tableaux suivants (**Collaboration de l'OMS, 2020**).

Tableau IV : les antibiotiques testés pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Familles	Antibiotiques testées	Abréviations
Bêtalactamines	Pipéracilline	PIT
Bêtalactamines	Tétracycline	TCC
Bêtalactamines	Céftazidime	CAZ
Aminoside	Tobramycine	TOB
Aminoside	Amikacine	AK
Macrolide	Azithromycine	AZM

II. Matériel et méthodes

Tableau V : les antibiotiques testés pour *Staphylococcus aureus*.

Familles	Antibiotiques testées	Abréviations
Bêtalactamines	Cefoxitine	Fox
Bêtalactamines	Céftazidime	CAZ
Aminoside	Amikacine	AK
Aminoside	Gentamicine	GN
Aminoside	Kanamycin	K30
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP
Glycopeptide	Vancomycine	VA
Macrolide	Azithromycine	AZM
Autre	Acide fusidique	FC

Tableau VI : les antibiotiques testés pour *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *klebsiella pneumonie*.

Familles	Antibiotiques Testées	Abréviations
Bêtalactamines	Ampicilline	AM
Bêtalactamines	Imipénem	IMP
Aminoside	Gentamicine	GM
Quinolones	Ciprofloxacine	CIP
Quinolones	Acide Nalidixique	NA
Autre	Fosfomycine	FF

-La lecture :

Après incubation des échantillons à 37°C pendant 18 à 24 heures, des zones claires d'un diamètre variable apparaissent autour des disques. Ces zones correspondent à des zones d'inhibition ou de sensibilité, et leur lecture consiste à mesurer leur diamètre à l'aide d'un pied à coulisse pour chaque disque d'antibiotique testé. Les valeurs mesurées sont ensuite comparées aux valeurs critiques figurant dans une table de lecture, afin de classer les bactéries dans l'une des catégories suivantes : Sensible, Intermédiaire ou Résistante, en fonction de la zone d'inhibition observée. Il convient de noter que cette étape permet d'évaluer l'efficacité de l'antibiotique contre la bactérie testée (Jehl et Cattoen, 2016).

II.2.2.6. Evaluation de l'activité antibactérienne des miels

Afin de mesurer l'activité antibactérienne des souches bactériennes identifiées, deux méthodes ont été utilisées : la méthode de diffusion par disques et la méthode de diffusion par puits.

II. Matériel et méthodes

-Préparation des différentes dilutions du miel

Les cinq échantillons de miel (miel de Jujubier, miel d'agrumes, miel de toutes fleurs de montagne, miel de toutes fleurs de steppe) ont été dilués à différentes concentrations (25%, 50%, 75% et 100%) en utilisant de l'eau distillée stérile.



Figure 3 : Préparation des dilutions du miel

-Méthode de diffusion par disque

La méthode de diffusion par disque, également appelée méthode de Kirby-Bauer, est couramment utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de miel. Selon **Cooper et al. (2000)**, la méthode consiste à :

- Ensemencer des boîtes contenant du milieu MH en utilisant la méthode d'écouvillonnage.
- Déposer des disques de papier buvard d'un diamètre de 6 mm imbibés au préalable de différentes dilutions de miel et les disques témoins seront imprégnés dans l'eau distillée stérile représentant les témoins négatifs.
- Laisser les boîtes de Pétri sur la paillasse pendant 30 minutes pour un pré diffusion, puis les incubent à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour des disques imbibés de miel en utilisant un pied à coulisse.

-Méthode de diffusion par puits

La méthode de puits, également, est une autre méthode couramment utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de miel. Cette méthode est similaire à la méthode de diffusion par disque, à l'exception que des puits sont faits dans la gélose plutôt que des disques de papier buvard (**BELHAJ et al., 2016**). Il faut alors procéder à :

II. Matériel et méthodes

- Faire des puits en 6 mm dans la gélose avec une pipette Pasteur flambée et refroidie.
- Remplir chaque puits avec une dilution différente de miel à l'aide d'une micropipette en ajoutant environ 100 µl et les disques témoins seront rempli par l'eau distillée représentant les témoins négatifs.

Après incubation, mesurer le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne autour de chaque puits en utilisant un régllet calibré.

-Lecture

Vu l'absence d'une référence de lecture, le seuil de sensibilité utiliser pour interpréter les résultats est le suivant (**Merah et al., 2010**) :

- Germe résistant (R) si le diamètre est inférieur à 10 mm.
- Germe sensible (S) si le diamètre est supérieur à 10 mm.
- Germe de sensibilité intermédiaire (I) si le diamètre est égal à 10 mm.

Chapitre III

Résultats et discussion

III. Résultats et discussion

III.1. Analyse physico-chimiques des miels

III.1.1. Détermination de la teneur en eau

La teneur en eau est un paramètre important pour l'évaluation du degré de maturité de miel, sa durée de vie, conditionne sa conservation et sa stabilité dans le temps. La figure 4, représente les valeurs de la teneur en eau obtenues pour les échantillons de miels analysés.

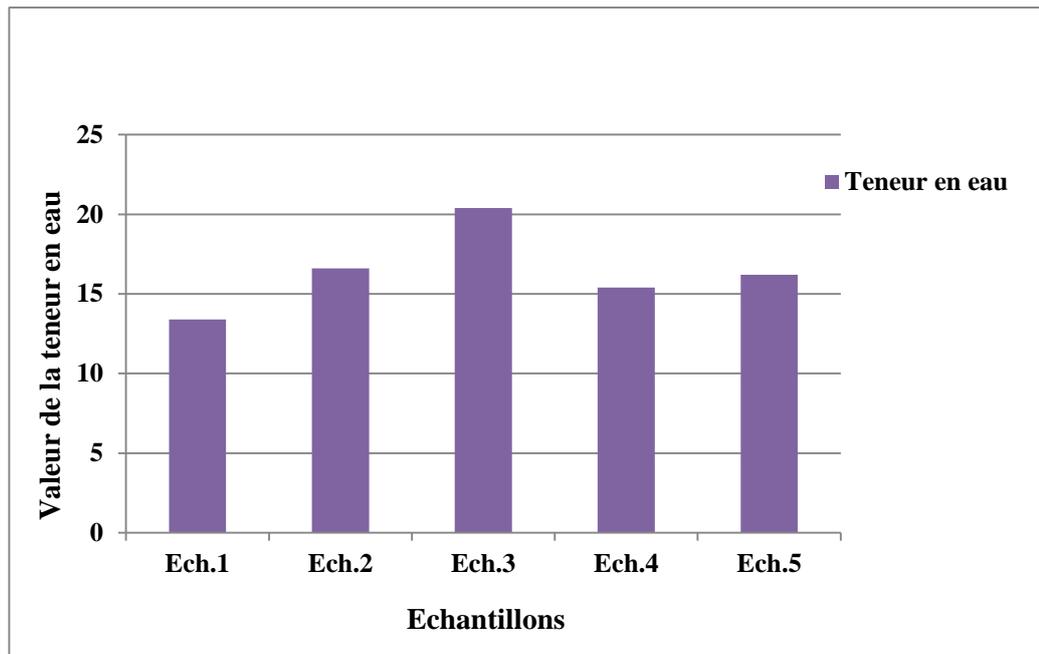


Figure 4 : Teneur en eau des miels analysés

Nous constatons que les échantillons de miel étudiés ont une teneur en eau qui varie entre 13,4 % et 20,4 %. Ces valeurs se situent dans les normes internationales de Codex Alimentarius 2001, et de la directive de miel, qui fixées cette teneur à moins de 20%. Il convient de noter que l'échantillon 3, provenant du miel d'eucalyptus, présente une teneur en eau légèrement plus élevée que les autres échantillons.

Les résultats des différentes études menées sur les miels de plusieurs pays, dont le Bénin, l'Algérie et le Maroc, ont montré des variations significatives de la teneur en eau. Selon **Azonwade et al. (2018)**, la teneur en eau du miel béninois est comprise entre 12,1% et 13,2%. De même, l'étude menée par **ACHOUR et KHALI (2014)** sur les miels algériens a révélé des valeurs comprises entre 13% et 15%, tandis que les miels de la wilaya de Laghouat, située dans le Sahara algérien, analysés par **Bakchiche et al. (2018)** ont montré une variation de 14,1% à 18,5%. Enfin, les miels marocains étudiés par **Belhaj et al. (2015)** ont montré une teneur en eau comprise entre 18,5% et 21,5%.

III. Résultats et discussion

Ces variations peuvent être attribuées à plusieurs facteurs environnementaux, telles que le climat, l'origine florale des échantillons de miel, la teneur en eau des nectars et les techniques de traitement ainsi que les conditions de stockage telle que la température, l'humidité et la lumière (Bogdanov *et al.*, 2004).

III.1.2. Détermination de pH et de l'acidité libre par titrage de pH au point équivalent

Les valeurs du pH de nos échantillons de miel oscillent entre 3,83 à 4,93 (Figure 5). Tandis que les valeurs d'acidité libre varient de 16 à 37 méq/kg (Figure 6). Le codex alimentaire et la directive européenne 2001/110/CE ne citent aucune valeur de référence pour le pH; alors que pour l'acidité libre, ils prescrivent une limite maximale de 50 méq/kg pour les miels de qualités.

Ces valeurs sont très proches à celles rapportées par Ouchemoukh *et al.* (2007), sur les miels algériens qui auraient un pH entre 3,49 et 4,73, ainsi que par Makhloufi *et al.* (2010), qui ont trouvé des valeurs variant entre 3,40 et 6,23. D'autres études, comme celle effectuée par Belhaj *et al.* (2015) sur les miels marocains, montrent que le pH oscille entre 3,39 et 4,19. Enfin, les miels indiens étudiés par Saxena *et al.* (2010), ont montré un pH compris entre 3,7 et 4,4. Selon Gonnet (1982), la variation du pH serait due à la flore butinée et au climat, à la sécrétion salivaire de l'abeille ainsi qu'aux processus enzymatiques.

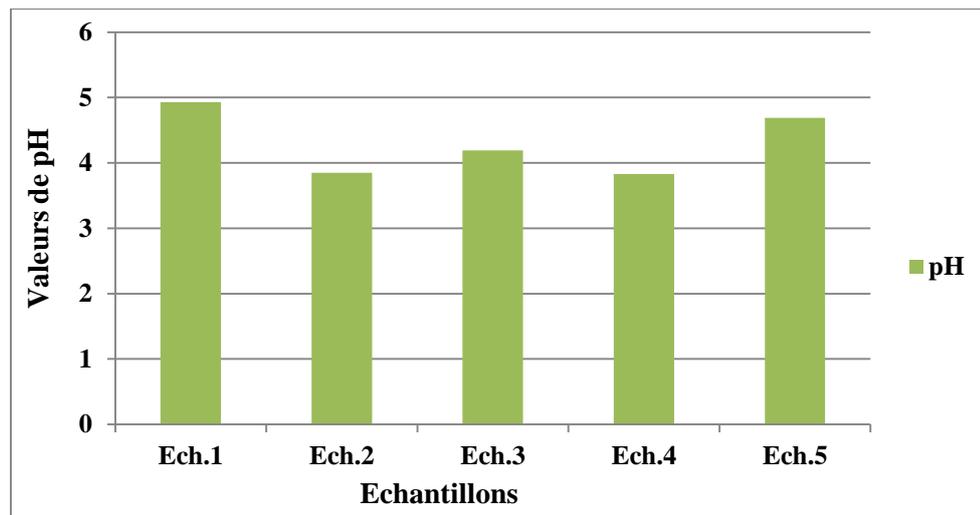


Figure 5 : Le pH des miels analysés.

III. Résultats et discussion

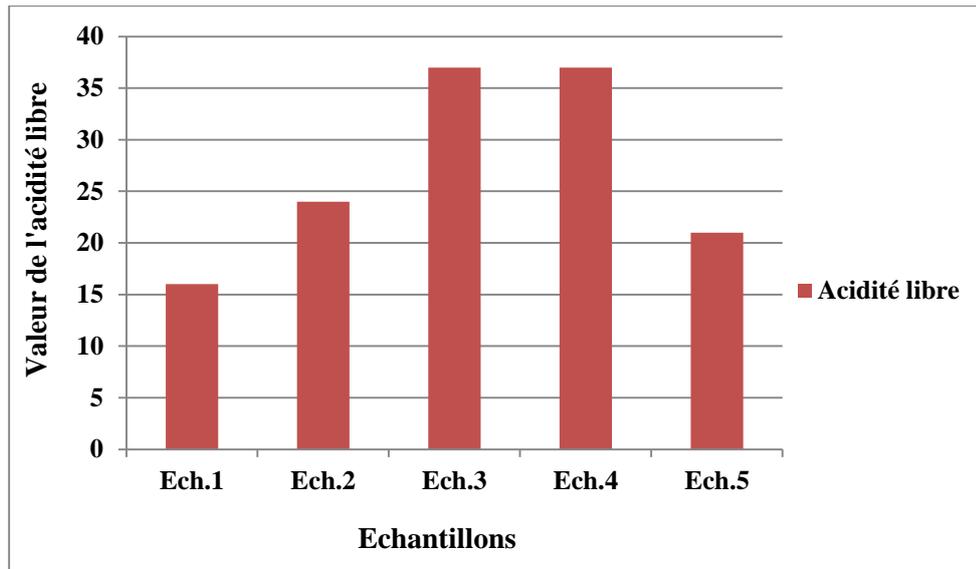


Figure 6 : Acidité libre des miels analysés.

L'acidité des miels est due à la présence de l'acide gluconique issu de la transformation du glucose, qui peut être favorisée par des teneurs élevées en eau. Dans notre étude, nous constatons que les valeurs de l'acidité libre des miels analysés varient de 16 à 37 méq/kg.

Nous avons constaté que les échantillons de miel 1, 2 et 5, récoltés dans la région de Djelfa, présentaient une acidité libre plus faible. En revanche, les échantillons de miel 3 et 4, récoltés dans la région de Tipaza, présentaient une acidité libre plus élevée.

Ces résultats concordent avec plusieurs études, parmi lesquelles l'étude réalisée par **Doukani et al. (2014)**, sur les miels algériens, qui ont trouvé des valeurs variant entre 19,56 et 38,91 méq/kg. D'après les travaux de **Kivrak et al. (2017)** en Turquie, l'acidité libre du miel est comprise entre 16,05 meq.kg-1 et 34,10 meq.kg-1. Une autre étude réalisée par **Gonnet et al. (1964)** ont trouvé des valeurs comprises entre 15,75 et 37 méq/kg.

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à les régions géographique, l'origine florale ou à des variations en raison de la saison de la récolte (**Pérez-Arquillué et al., 1995**). Les faibles valeurs d'acide libre sont un bon indicateur de conservation, car une forte acidité favorise la dégradation des hexoses en hydroxyméthylfurfural (**Finola et al., 2007**).

III. Résultats et discussion

III.1.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel. Ce paramètre est très utilisé pour la classification des miels mono floraux (**Bogdanov et al., 2004**).

Nos résultats montrent des valeurs de conductivité électrique variables comprises entre 0,27 et 1,34 mS/cm (**figure 7**).

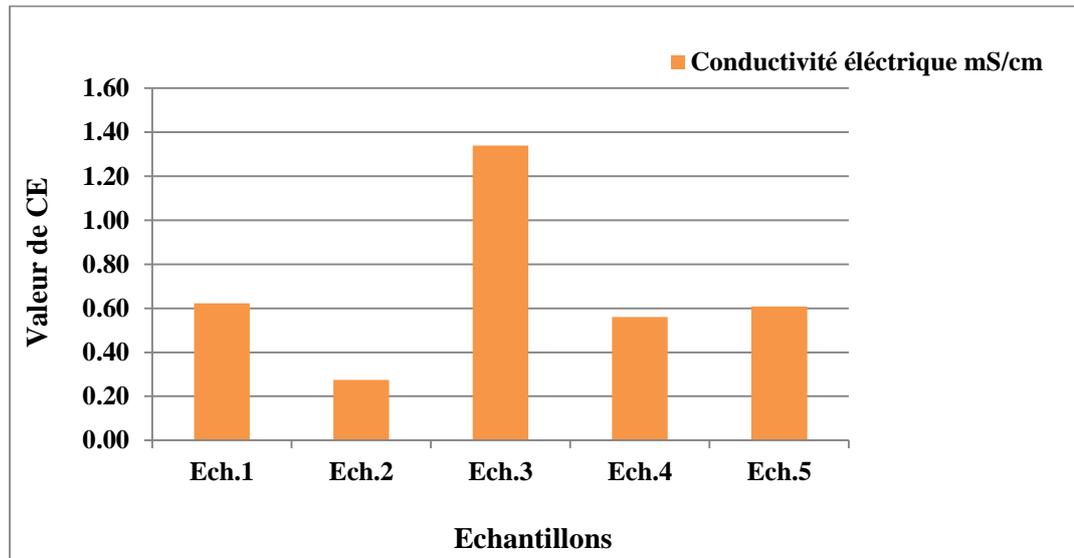


Figure 7 : Conductivité électrique des miels analysés.

Les normes de la qualité préconisée par le Codex Alimentarius et celle de la commission européenne indiquent que la conductivité électrique doit être inférieure à 0,80 mS/cm pour les miels de nectar. Les miellats ou les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat est supérieure à 0,80mS/cm. Nous pouvons ainsi dire que les échantillons de 1, 2, 4 et 5 sont des miels de nectar. L'échantillon 3 indiqué comme miel d'eucalyptus pourrait contenir une fraction de miellat et il se trouve en éléments minéraux avec une conductivité supérieure à 0,80 mS/cm.

Différentes études ont mesuré la conductivité électrique de différents échantillons de miel provenant de différents pays. Selon **Silva et al. (2009)**, les échantillons de miel étudiés au Portugal ont montré une conductivité électrique allant de 0,11 à 0,63 mS/cm, tandis que **Amir et al. (2010)**, ont mesuré une conductivité électrique allant de 0,3 à 1,2 mS/cm pour le miel algérien. Une étude turque menée par **Can et al. (2015)**, qui ont trouvé des valeurs variant entre 0,30 à 1,50 mS/cm et **Belhaj et al. (2015)**, ont révélé

III. Résultats et discussion

des valeurs comprises entre 0,19 et 0,41 mS/cm pour les échantillons de miel étudiés au Maroc.

La variabilité observée dans les résultats des différentes études peut être due à plusieurs facteurs, tels que les types de fleurs butinées par les abeilles, les conditions météorologiques, les pratiques apicoles et la région géographique. Les différences dans la composition minérale du sol et dans la teneur en humidité du miel peuvent également affecter la conductivité électrique (**Can et al., 2015**). En outre, les méthodes d'analyses utilisées peuvent également contribuer à certaines variations observées dans les résultats. Cependant, malgré cette variabilité, la conductivité électrique reste un paramètre important pour différencier les miels d'origines florales différentes (**Terrab et al., 2002**).

III.2.Evaluation de l'activité antibactérienne

III.2.1.Identification des souches bactériennes

III.2.1.1.Caractérisation macroscopique et coloration de Gram

Ci-dessous les tableaux VetVI, les résultats de l'identification des bactéries isolées.

III. Résultats et discussion

Tableau VII : les résultats de l'identification des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>		
	Milieu Chrom-Agar	Gélose du sang	Milieu Chrom-Agar	Gélose au sang	Milieu Chapman
Aspect macroscopique des colonies observées	Colonies rondes, avec des bords lisses et réguliers ayant une taille variant de 1 à 3 mm de diamètre et une couleur bleu-vert (Figure 8) .	Des colonies incolores sous forme circulaires, lisses et convexes. (Figure 9) .	Des petites colonies, rondes de couleur jaune (Figure 8) .	Colonies rondes ; taille moyennes de couleur jaune crème avec une zone hémolyse complète caractérisé par une zone transparente et nette autour des colonies (Figure 9) .	Petites colonies de couleur doré, rondes, et lisses à contour régulier (Figure 10) .
Examen microscopique après coloration de Gram	Des bacilles colorés en rose (Gram négative), certains sont isolés, d'autres sont regroupés en amas et ont une longueur variable.		Des cocci de couleur violette (Gram positif), disposés en amas ayant la forme de grappes de raisin, ainsi des cocci en courtes chaînettes.		

III. Résultats et discussion

Tableau VIII : Les résultats de l'identification des autres souches.

Les souches	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>klebsiella pneumoniae</i>	<i>Salmonella enteritidis</i>
Les Milieux de cultures	Milieu Hektoen				Milieu XLD
Aspect macroscopique des colonies observées	Des colonies légèrement convexe avec une surface lisse et une coloration verte avec des zones de précipitation noires. (Figure 11).	Des colonies rondes. légèrement plate, muqueuses, et de coloration orangé lactose positive. (Figure12).	Des Colonies ronds et régulier de coloration vertes. (Figure 12).	Des colonies bombées, muqueuses, et de coloration jaune à saumon lactose positive. (Figure11).	Des colonies rouges sans centre noir sont légèrement convexes et présenter une surface lisse. (Figure13).
Examen microscopique après coloration de Gram	Ces bactéries apparaissent sous forme des bacilles colorées en rose, isolées, et certaines sont regroupées en amas et de longueur variable. (Figure 14).				

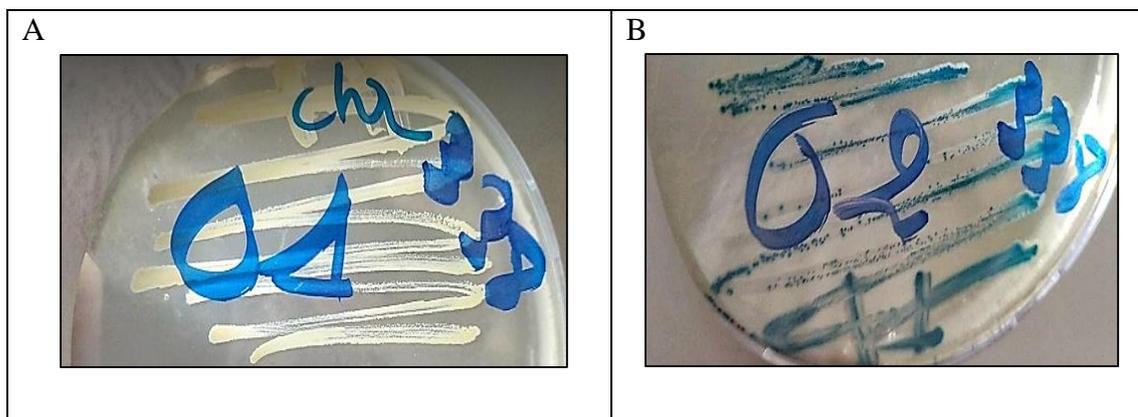


Figure 8: Aspect macroscopique des colonies sur le milieu Chrom-Agar.

A : *Staphylococcus aureus*. B : *Pseudomonas aeruginosa*.

III. Résultats et discussion

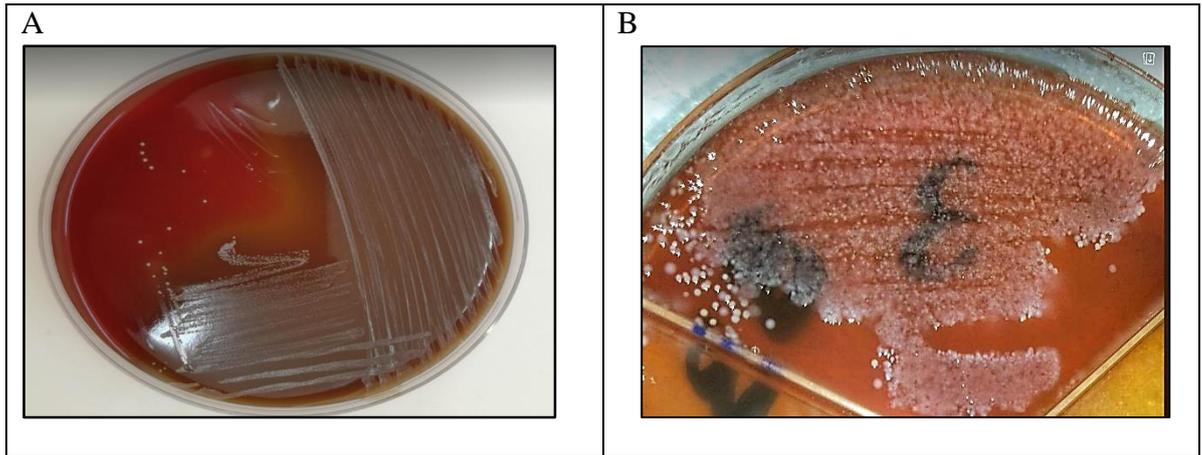


Figure 9 : Aspect macroscopique des colonies sur le milieu gélose au sang
A : *Staphylococcus aureus*. B : *Pseudomonas aeruginosa*



Figure 10 : Aspect macroscopique de *Staphylococcus aureus* sur le milieu Chapman.

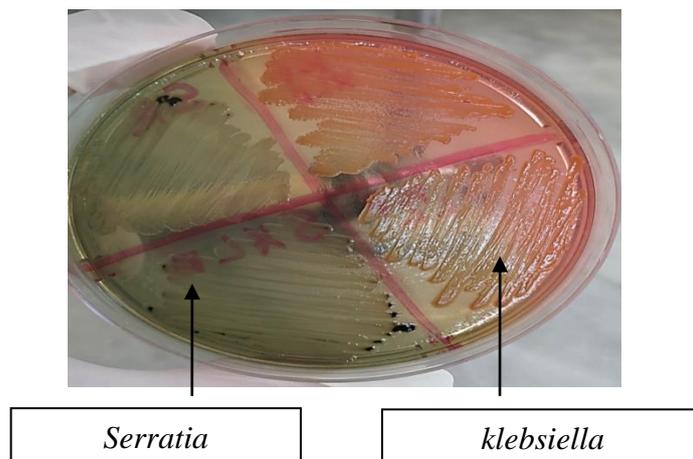


Figure 11 : Aspect macroscopique de *Serratia liquefaciens* et *klebsiella pneumoniae* sur le milieu Hektoen.

III. Résultats et discussion

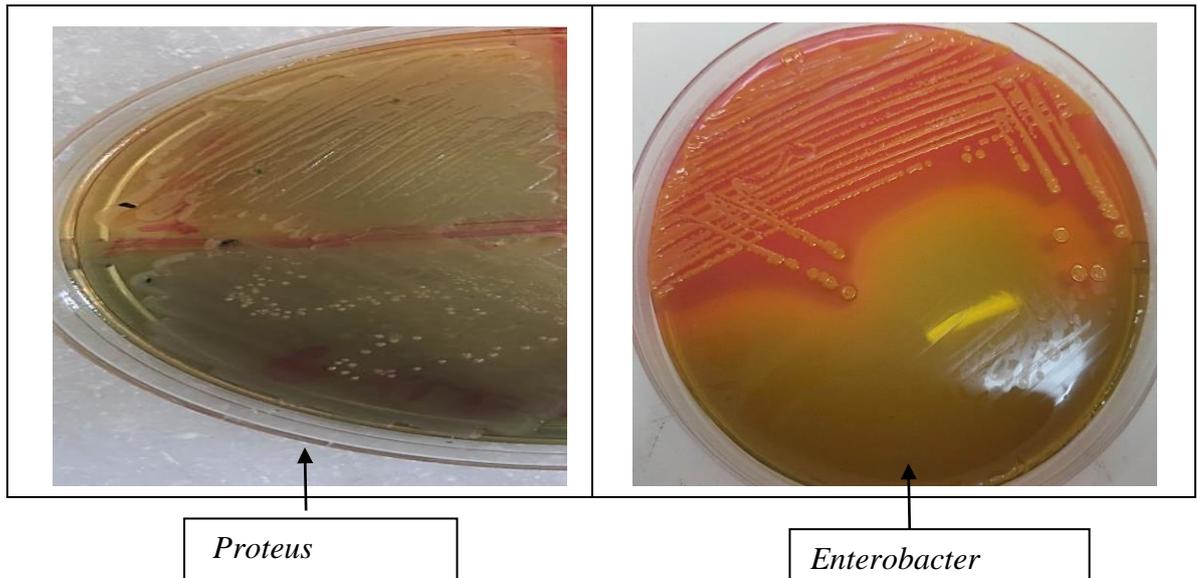


Figure 12 : Aspect macroscopique des colonies de *Proteus mirabilis* et *Enterobacter cloacae* sur le milieu Hektoen.

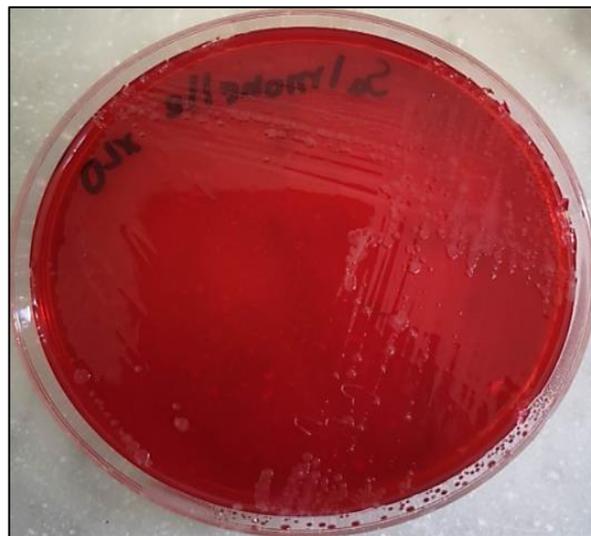


Figure 13 : Aspect macroscopique des colonies de *Salmonella enteritidis* sur le milieu XLD.

Les résultats de la coloration de Gram pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa* et de *Staphylococcus aureus*, ainsi que *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enteritidis* et *klebsiella pneumoniae*, sont présentés dans les figures ci-dessous.

III. Résultats et discussion

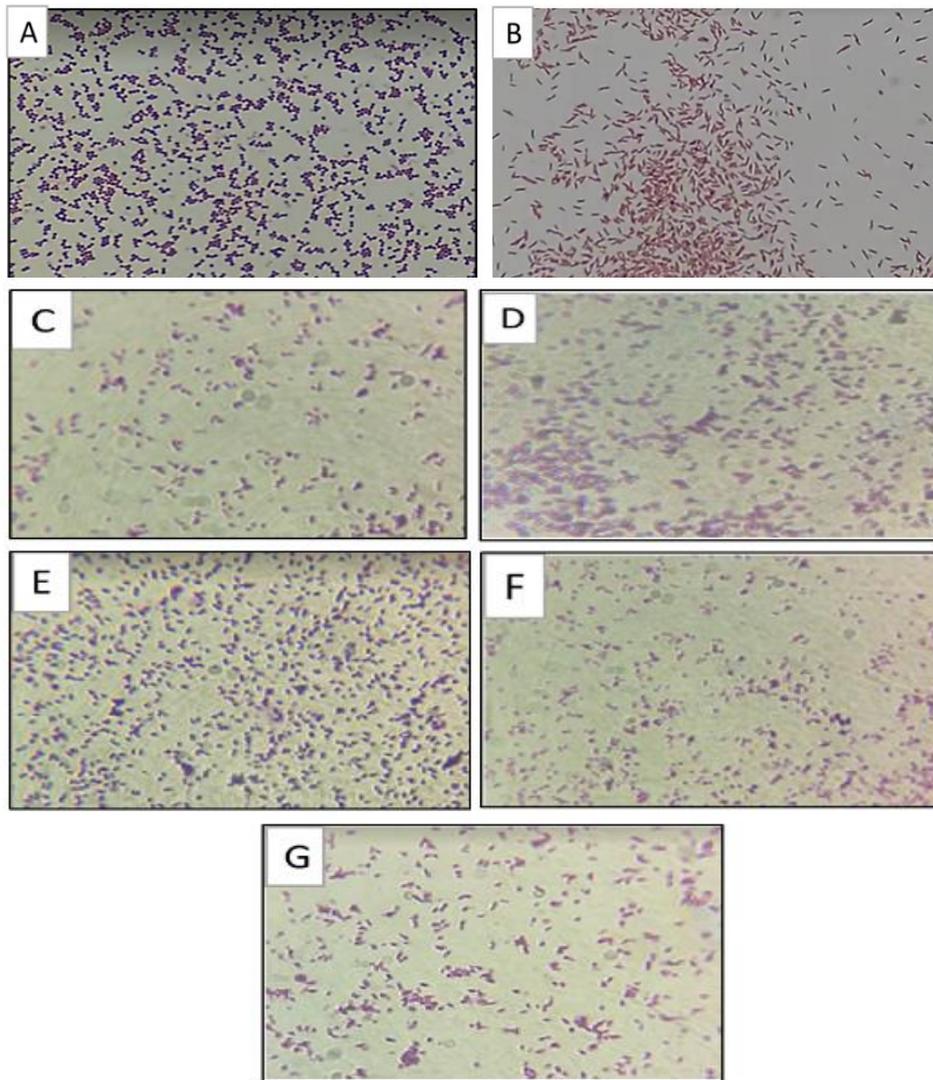


Figure 14 : Observation microscopique après coloration de Gram les sept souches isolées (x 100).

A : *Staphylococcus aureus*. **B** : *Pseudomonas aeruginosa*. **C** : *Serratia liquefaciens*.

D : *Enterobacter cloacae*. **E** : *Proteus mirabilis*. **F** : *Klebsiella pneumoniae*.

G : *Salmonella enteritidis*.

III.2.1.2. Identification biochimique

Les résultats de l'identification biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* ont été obtenus en utilisant le test d'oxydase et la galerie API 20NE. Tandis que la souche de *Staphylococcus aureus*, elle a été identifiée à l'aide des tests de catalase et de coagulase. Les autres souches ont été ré-identifiées en utilisant la galerie API 20E et le test de catalase.

III. Résultats et discussion

-Test d'oxydase

Le disque oxydase montre une coloration bleu-violet, indiquant ainsi la présence de cytochrome oxydase pour la souche *P. aeruginosa*. En revanche, les souches *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* sont à oxydase négatif ; aucun changement de couleur n'est observé sur le disque. Comme illustré dans la **figure 15**.

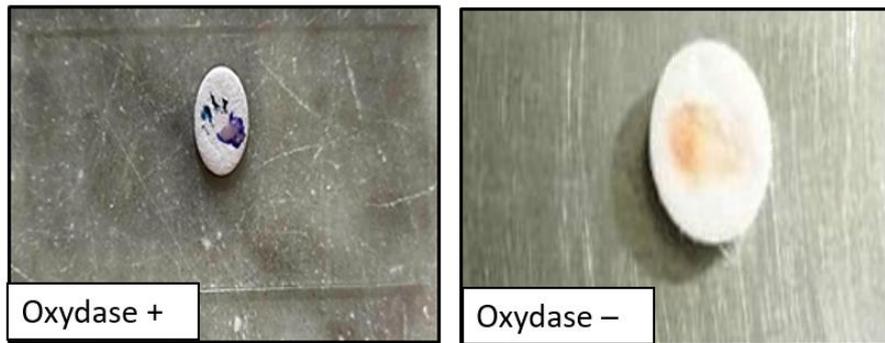


Figure 15 : Résultats du test d'oxydase pour l'identification des bactéries.

-Test de catalase

La production de l'enzyme catalase est indiquée par le dégagement de bulles de gaz en présence de *Staphylococcus aureus*, comme le montre le résultat présenté dans la (**figure16**). De plus, les cinq souches testées, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, sont toutes positives pour la catalase, à l'exception de *Salmonella enteritidis* qui présente une activité catalase négative, comme illustré dans la **figure16**.

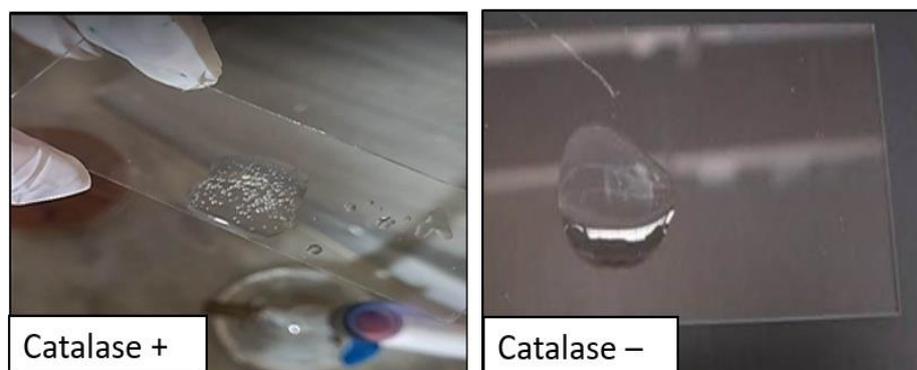


Figure 16 : Résultats du test de Catalase pour l'identification des bactéries.

III. Résultats et discussion

-Test de Coagulase

Une coagulation visible sous la forme d'un caillot dans le tube signifie que la souche *Staphylococcus aureus* excrète une protéine qui provoque la coagulation du plasma humaine, Comme montre le résultat présenté dans la **figure 17**.



Figure 17: Présence d'enzyme coagulase chez *Staphylococcus aureus*.

-Identification par la galerie API 20 NE et API 20E:

L'identification de *Pseudomonas aeruginosa* réalisée par galerie API 20 NE et de la galerie API20E pour les autres souches *Salmonella enteritidis*, *klebsiella pneumonie*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis*. Cette approche a permis de mettre en évidence les caractéristiques biochimiques les plus significatives. Les résultats obtenus après incubation sont présentés dans les tableaux (**AnnexeIII**) et les **figures 18** et **19**.

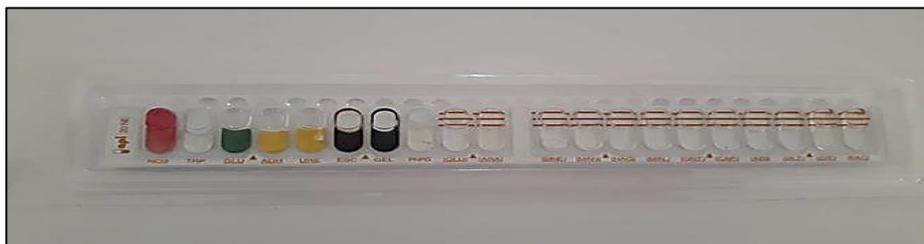


Figure 18 : Résultats de la galerie API 20 NE pour *Pseudomonas aeruginosa*.



III. Résultats et discussion

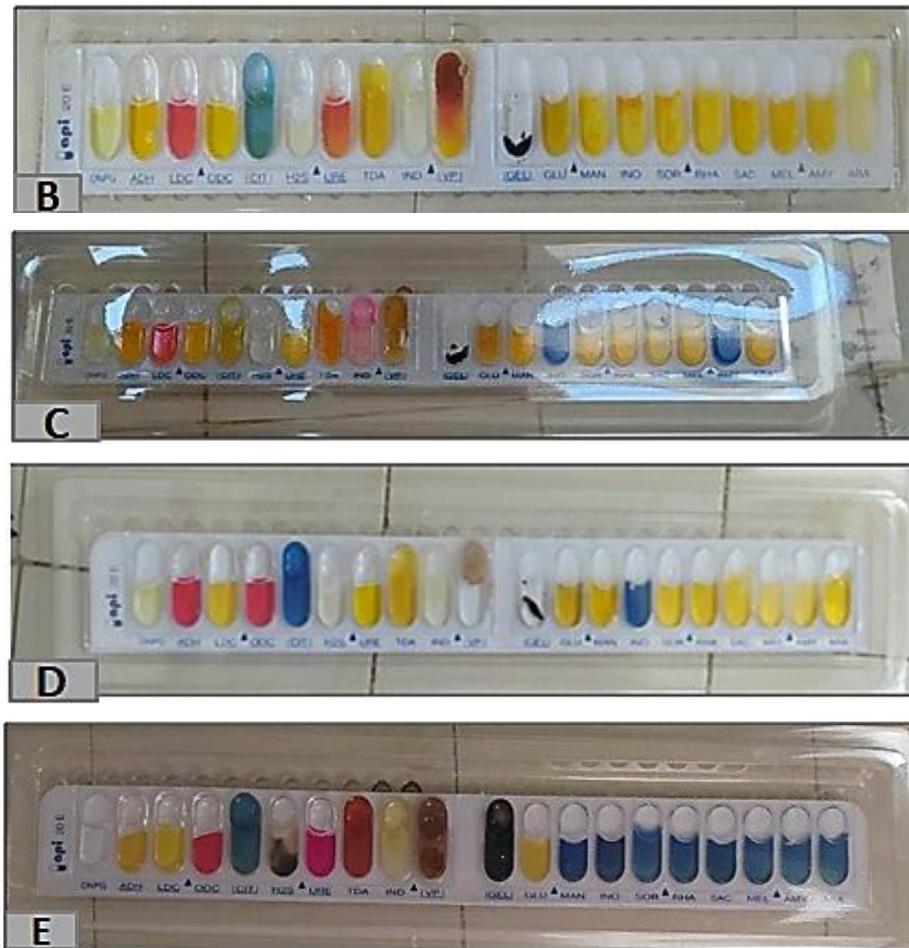


Figure 19 : Résultat de la galerie API 20E pour les cinq souches.

A : *Salmonella enteritidis* **B :** *klebsiella pneumonie* **C :** *Serratia liquefaciens*
D : *Enterobacter cloacae* **E :** *Proteus mirabilis*

III.2.1.3.L'antibiogramme

D'après les résultats obtenus, la souche *Pseudomonas aeruginosa* a montré une sensibilité élevée à la plupart des antibiotiques testés, tels que la céftazidime, la pipéracilline, la tobramycine et l'amikacine, Cependant, une résistance intermédiaire a été observée pour les deux antibiotiques tétracyclines et azithromycine (**Tableau VII**) (**Figure 20**).

III. Résultats et discussion

Tableau IX : Résultat de l'antibiogramme pour *Pseudomonas aeruginosa*.

Antibiotique	Zone d'inhibition (en mm)	Catégorie Clinique
PIT	27	S
TCC	23	I
CAZ	21	S
TOB	22	S
AK	23	S
AZM	20	I

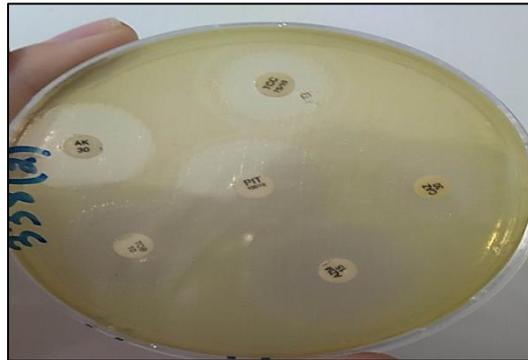


Figure 20: Résultat de l'antibiogramme chez *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de l'antibiogramme montrent que la souche de *Staphylococcus aureus* a présenté une sensibilité élevée à l'amikacine et à la ciprofloxacine, et Azithromycin mais elle est résistante à tous les autres antibiotiques testés (**Tableau VIII**), (**Figure21**).

Tableau X: Résultat de l'antibiogramme de *S. aureus*.

Antibiotique	Zone d'inhibition en mm	Catégorie clinique
Fox	17	R
CAZ	0	R
AK	21	S
GN	0	R
K30	13	S
CIP	26	S
VA	0	R
AZM	25	S
FC	0	R

III. Résultats et discussion

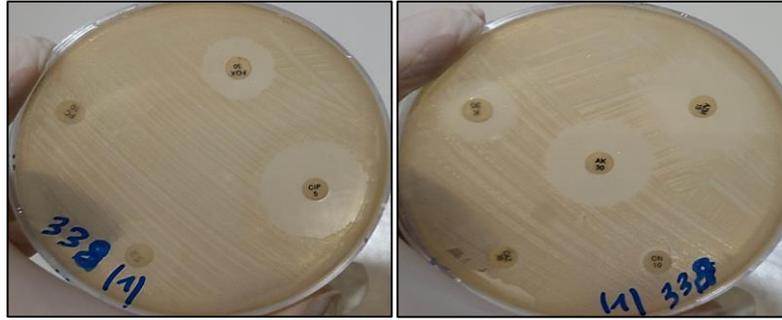


Figure 21 : Résultat de l'antibiogramme chez *S. aureus*.

Les résultats de l'antibiogramme révèlent que la souche *Salmonella enteritidis* est sensible à l'Ampicilline, à l'Imipénem, à la Gentamicine, à l'Acide Nalidixique et à la Fosfomycine. Cependant, une résistance intermédiaire a été observée pour la Ciprofloxacine. D'autre part, La souche *Serratia liquefaciens* démontre une sensibilité élevée à la plupart des antibiotiques mentionnés précédemment, à l'exception de l'ampicilline pour laquelle elle présente une résistance. En ce qui concerne la souche *Enterobacter cloacae*, elle est sensible à la Gentamicine et à l'Acide Nalidixique, mais présente une résistance intermédiaire à l'Imipénem et à la Ciprofloxacine. De plus, elle est résistante à la Cefoxitine et à l'Ampicilline. Pour la souche *Proteus mirabilis*, on observe une sensibilité à l'Imipénem, à la Gentamicine, à la Ciprofloxacine, à l'Acide Nalidixique, mais une résistance à l'Ampicilline et à la Cefoxitine. Enfin, la souche *Klebsiella pneumoniae* présente une résistance à la plupart des antibiotiques testés tels que l'Ampicilline, l'Imipénem, la Gentamicine, la Ciprofloxacine et la Cefoxitine. Cependant, une sensibilité à la Fosfomycine a été observée (**Figure22**).

III. Résultats et discussion

Tableau XI : Résultat de l'antibiogramme des cinq souches, *Salmonella enteritidis*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *klebsiella pneumonie*.

Les bactéries	Antibiotique	Zone d'inhibition en mm	Catégorie Clinique
<i>Salmonella enteritidis</i>	CIP	30	I
	GM	29	S
	FF	35	S
	AM	23	S
	IMP	29	S
	FOX	23	S
<i>Serratia liquefaciens</i>	CIP	28	S
	GM	23	S
	FF	27	S
	AM	0	R
	IMP	26	S
	FOX	21	S
<i>Enterobacter cloacae</i>	CIP	25	I
	GM	24	S
	NA	23	S
	AM	0	R
	IMP	21	I
	FOX	0	R
<i>Proteus mirabilis</i>	CIP	26	S
	GM	25	S
	NA	24	S
	AM	0	R
	IMP	23	S
	FOX	14	R
<i>klebsiella pneumonie</i>	CIP	2	R
	GM	0	R
	FF	16	S
	AM	0	R
	IMP	13	R
	FOX	0	R

III. Résultats et discussion

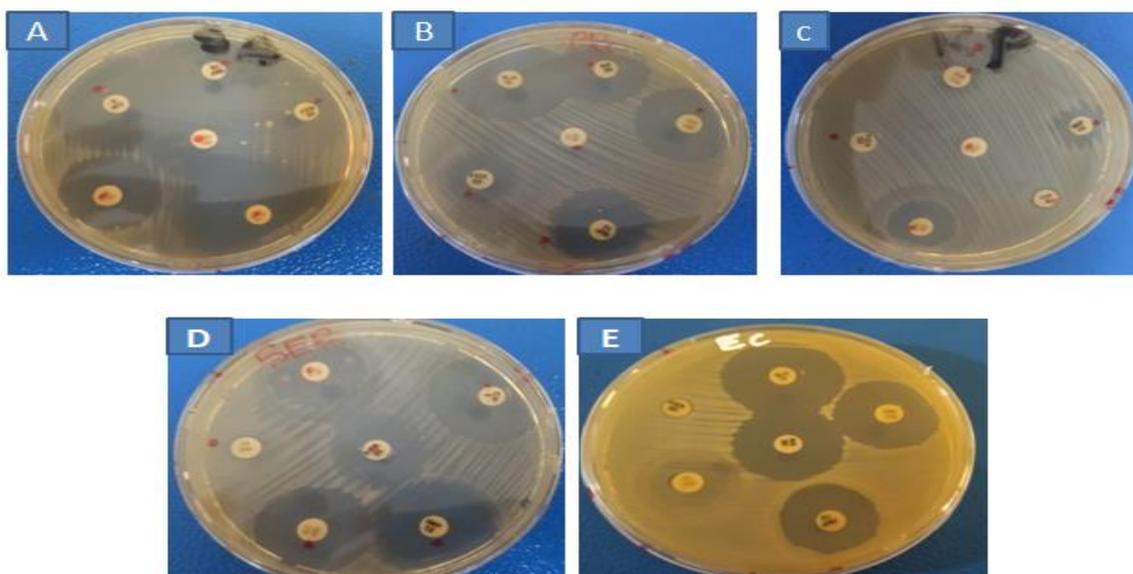


Figure 22 : Résultat de l'antibiogramme des cinq souches.

A : *Salmonella enteritidis* **B :** *Proteus mirabilis* **C :** *Klebsiella pneumoniae*
D : *Serratia liquefaciens* **E :** *Enterobacter cloacae*

III.3. L'évaluation de l'activité antibactérienne des échantillons de miel

La sensibilité des bactéries à différentes concentrations de miel est déterminée selon le diamètre de l'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose, à l'aide des disques et des puits.

III.3.1. Méthode de diffusion par disques

Le tableau X et les figures (23 à 29), représentent les résultats des diamètres d'inhibition obtenus en utilisant la méthode de diffusion par disques pour les sept souches bactériennes étudiées, confrontées à cinq types de miels.

III. Résultats et discussion

Tableau XII : La Sensibilité du *P.aeruginosa*, *S. aureus* et les autre cinq souches aux différentes dilutions de cinq échantillons de miel déterminée par Méthode de diffusion par disque.

Les types de miel	Dilutions des échantillons testés	Les Diamètre d'inhibition en millimètre chez						
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>k. pneumonie</i>
Miel de Jujubier	100%	21	20	26	10	22	15	20
	75%	0	0	0	3	0	3	8
	50%	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel d'agrume	100%	20	8	14	16	24	15	20
	75%	0	0	0	11	10	0	12
	50%	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel d'eucalyptus	100%	23	10	20	17	22	23	23
	75%	16	8	0	12	10	8	11
	50%	0	0	0	6	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel de toutes fleurs de montagne	100%	22	11	18	18	26	20	21
	75%	16	0	0	15	15	15	9
	50%	0	0	0	0	8	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel de toutes fleurs de steppe	100%	12	12	17	16	23	11	21
	75%	0	0	11	11	16	9	0
	50%	0	0	9	0	8	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0

III. Résultats et discussion

Les résultats obtenus montrent que *Pseudomonas aeruginosa* a été sensible aux miels de jujubier, d'agrume et de toutes fleurs de steppes sur leur état pur avec des diamètres de zone d'inhibition respectives de 21, 20 et 12 mm. Cependant, cette bactérie a montré une résistance à ces mêmes miels aux concentrations de 75%, 50% et 25%. D'autre part, les miels d'eucalyptus et de toutes fleurs de montagne ont montré une sensibilité particulière à *Pseudomonas aeruginosa* lorsqu'ils sont utilisés dans leur forme pure, avec des diamètres de zone d'inhibition de 23 mm et 22 mm, respectivement. Cependant, l'activité antibactérienne de ces miels a été moins efficace lorsque la concentration est de 75%, avec une zone d'inhibition de 16 mm, tandis que les autres concentrations de miel testées ont été inefficaces contre cette bactérie, (Figure 23).

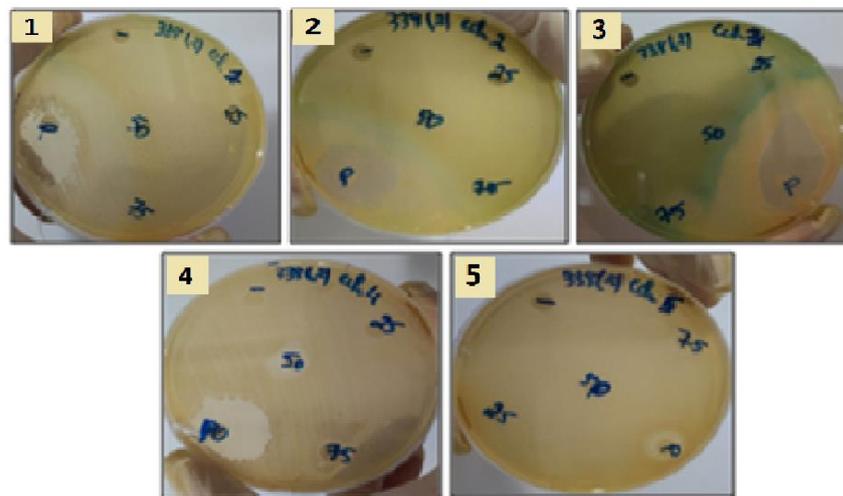


Figure 23 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *P. aeruginosa*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Pour *S. aureus*, nous avons observé des zones d'inhibition plus importantes avec des diamètres compris entre 12 et 20 mm pour les concentrations pures (100%) ; Le miel de Jujubier semble le plus efficace, avec une zone d'inhibition de 20 mm, suivi du miel de toutes fleurs de steppes, qui présente une zone d'inhibition de 12 mm ainsi le miel toutes fleurs de montagne avec une zone d'inhibition de 11 mm. Le miel d'eucalyptus montre une sensibilité intermédiaire, avec un diamètre de 10 mm pour la concentration pure. Alors que, le miel d'agrume ne montre aucune activité antibactérienne pour les concentrations de 75%, 50% et 25%. Par conséquent, *S. aureus* présente une résistance face aux cinq échantillons de miel pour les mêmes concentrations de 75%, 50% et 25%. (Figure 24).

III. Résultats et discussion

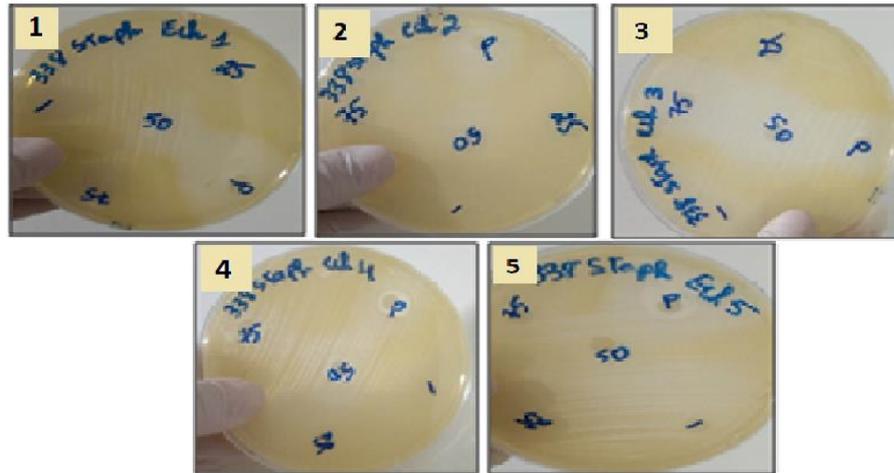


Figure 24 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *S. aureus*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Les autres souches ont montré des réponses différentes aux différents échantillons de miel lors de l'utilisation de la méthode des disques.

Salmonella enteritidis s'est révélée sensible à tous les types de miel testés à l'état pur, avec des zones d'inhibition de diamètre variant de 26 mm à 14 mm. Cependant, elle a été résistante aux concentrations de 75%, 50% et 25% de miel, à l'exception du miel de toutes fleurs de steppe qui a montré une zone d'inhibition de 11 mm et 9 mm pour les concentrations de 75% et 50% respectivement (**Figure 25**).

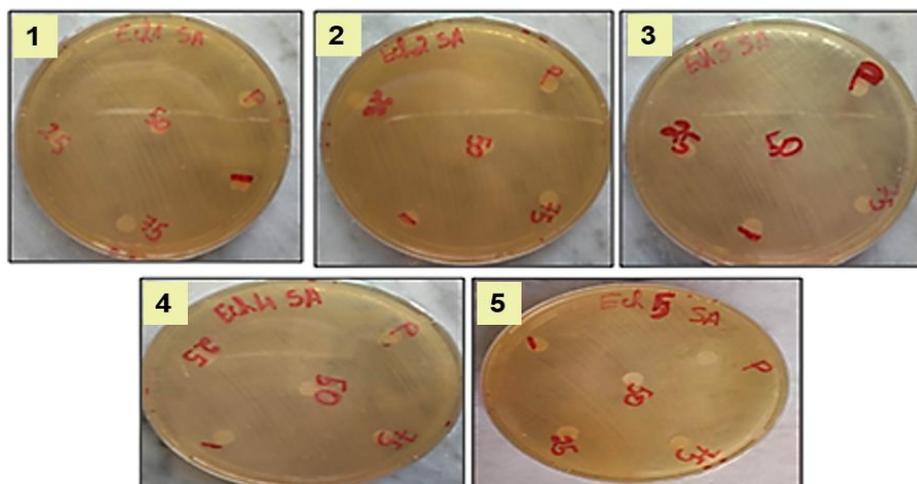


Figure 25 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Salmonella enteritidis*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

III. Résultats et discussion

Enterobacter cloacae a démontré une sensibilité aux miels testés à des concentrations de 100% et 75%, à l'exception du miel de jujubier à 100% qui a montré une sensibilité intermédiaire avec un diamètre d'inhibition de 10 mm. Cependant, à une concentration de 75%, ce miel s'est révélé inefficace contre cette bactérie. En revanche, cette souche bactérienne a présenté une résistance à tous les miels testés à des concentrations de 50% et 25%, (**Figure 26**).

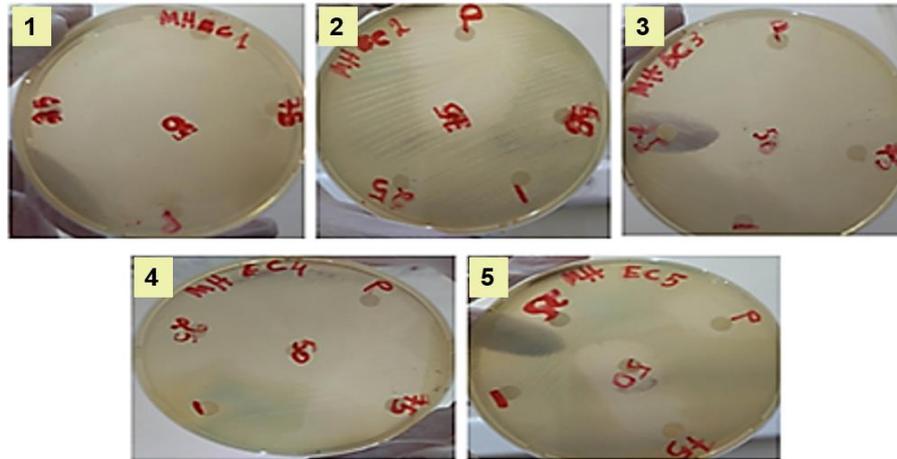


Figure 26 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Enterobacter cloacae*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Serratia liquefaciens a montré une grande sensibilité à tous les échantillons de miel à l'état pur, avec des zones d'inhibition de diamètre compris entre 26 mm et 22 mm. À une concentration de 75%, le miel de montagne et le miel de toutes fleurs de steppe ont montré une sensibilité avec des diamètres d'inhibition de 15 mm et 16 mm respectivement, tandis que le miel d'agrume et d'eucalyptus ont présenté une sensibilité intermédiaire avec une zone d'inhibition de 10 mm. En revanche, la souche s'est révélée résistante au miel de jujubier. Elle s'est également révélée inefficace à des concentrations de 50% et 25% pour tous les échantillons testés, (**Figure 27**).

III. Résultats et discussion

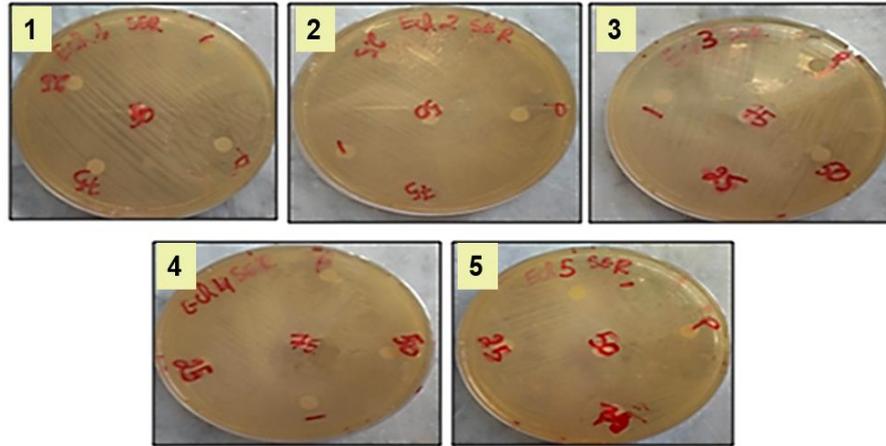


Figure 27 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Serratia liquefaciens* .

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrumes 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Proteus mirabilis a montré une sensibilité élevée au miel d'eucalyptus et au miel de montagne à l'état pur, avec des diamètres d'inhibition de 23 mm et 20 mm respectivement. En revanche, elle a montré une sensibilité moindre au miel de jujubier, au miel d'agrumes et au miel de steppe (100%), avec des diamètres d'inhibition compris entre 11 mm et 15 mm. Pour les autres concentrations de miel testées, cette souche bactérienne s'est révélée résistante à tous les échantillons (**Figure 28**).

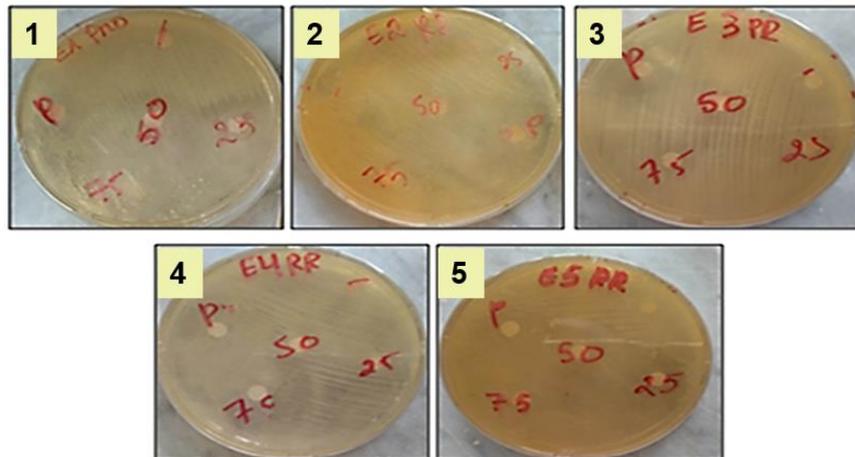


Figure 28 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Proteus mirabilis*

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrumes 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

III. Résultats et discussion

Klebsiella pneumoniae a montré une grande sensibilité, avec des zones d'inhibition variant de 20 mm à 23 mm pour les miels purs. Cependant, elle a été moins sensible aux concentrations de 75% de miel d'agrume et d'eucalyptus, et elle a été résistante aux échantillons de miel de jujubier, de montagne et de steppe. De plus, aucune zone d'inhibition n'a été observée pour les dilutions de 50% et 25%, (Figure 29).

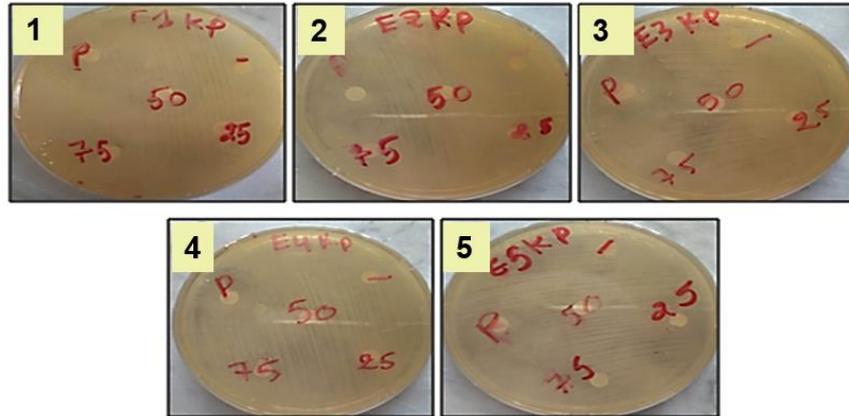


Figure 29 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *klebsiella pneumoniae*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

III.3.2. Méthode de diffusion par puits

Le tableau XI et les figures (30 à 36) présentent les résultats des diamètres d'inhibition obtenus en utilisant la méthode de diffusion par puits pour les sept souches bactériennes étudiées, en utilisant les cinq types de miels.

III. Résultats et discussion

Tableau XIII: La Sensibilité du *P. aeruginosa* , *S. aureus* et cinq souches des Entérobactéries aux différentes dilutions de cinq échantillons de miel déterminée par Méthode de diffusion par puits.

Type de miel	dilutions des échantillons testés	Les Diamètre d'inhibition en millimètre chez :						
		<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. aureus</i>	<i>S. Enteritidis</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>S. liquefaciens</i>	<i>P. mirabilis</i>	<i>k. pneumonie</i>
Miel de Jujubier	100%	19	20	26	19	22	21	16
	75%	14	0	19	8	15	4	8
	50%	0	0	17	0	4	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel d'agrumes	100%	24	11	19	14	26	20	24
	75%	0	0	5	0	15	3	12
	50%	0	0	0	0	0	0	0
	25%	0	0	0	0	0	0	0
Miel d'eucalyptus	100%	14	14	20	20	21	17	28
	75%	11	0	6	15	11	12	10
	50%	0	0	2	10	5	0	0
	25%	0	0	0	2	0	0	0
Miel de toutes fleurs de montagne	100%	17	17	23	21	22	17	22
	75%	11	8	0	17	0	12	4
	50%	1	0	0	12	0	0	0
	25%	0	0	0	8	0	0	0
Miel de toutes fleurs de steppe	100%	19	8	17	16	23	20	17
	75%	13	0	11	12	17	15	10
	50%	11	0	9	8	9	11	3
	25%	0	0	0	3	0	7	0

III. Résultats et discussion

Les résultats obtenus montrent que *Pseudomonas aeruginosa* présente une grande sensibilité au miel d'agrumes pur, avec un diamètre de zone d'inhibition de 24 mm, ce qui est assez élevé. Cette bactérie est également sensible aux miels de jujubier, d'eucalyptus et toutes fleurs de montagne aux concentrations de 100% et 75%, mais résistante à des concentrations de 50% et 25%. Pour le miel toutes fleurs de steppes, les zones d'inhibition variaient entre 19 mm, 13 mm et 11 mm pour les concentrations de 100%, 75% et 50%, respectivement. Cependant, la bactérie est résistante à une concentration de 25% (figure 30).

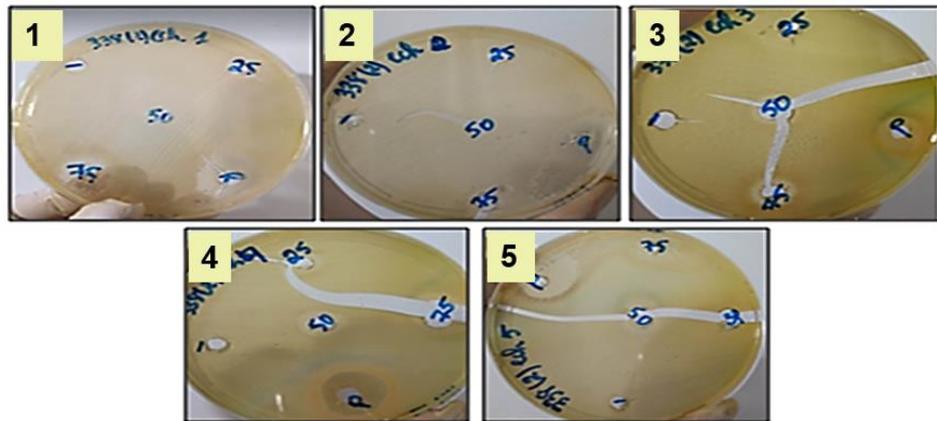


Figure 30: Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *P. aeruginosa*

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrumes 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Par ailleurs la souche *Staphylococcus aureus* a été sensible vis-à-vis le miel de jujubier, d'agrumes, d'eucalyptus et le miel toutes fleurs de montagne avec des diamètres compris entre 11 et 20 mm à l'état pur, Néanmoins, la valeur maximale a été observé pour le miel de jujubier. En revanche, le miel de toutes fleurs de steppes a été inefficace contre *S. aureus* lorsqu'il a été utilisé dans sa forme pure. De plus, *S. aureus* s'est révélée résistante aux concentrations (75%, 50% et 25%) pour tous les types de miels (Figure 31).

III. Résultats et discussion

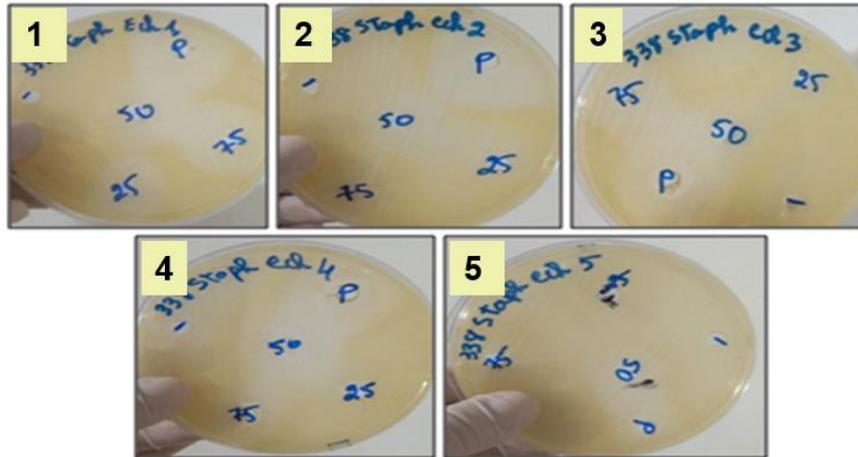


Figure 31 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *S. aureus*.

1: miel de jujubier 2: miel d'agrumes 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Les autres souches ont montré des réponses différentes aux différents échantillons de miel lors de l'utilisation de la méthode des puits.

Salmonella enteritidis était très sensible à l'échantillon de miel de jujubier, avec des zones d'inhibition de diamètre de 26 mm, 19 mm et 17 mm pour les concentrations de 100%, 75% et 50% respectivement. Elle s'est également révélée sensible au miel d'agrumes, d'eucalyptus et de montagne à l'état pur, mais elle a montré une résistance aux autres concentrations. Pour le miel de steppe, elle a donné une zone d'inhibition de diamètre de 17 mm, 11 mm pour les concentrations de 100% et 75% respectivement, mais elle s'est révélée inefficace pour les autres dilutions de miel testées (**Figure 32**).

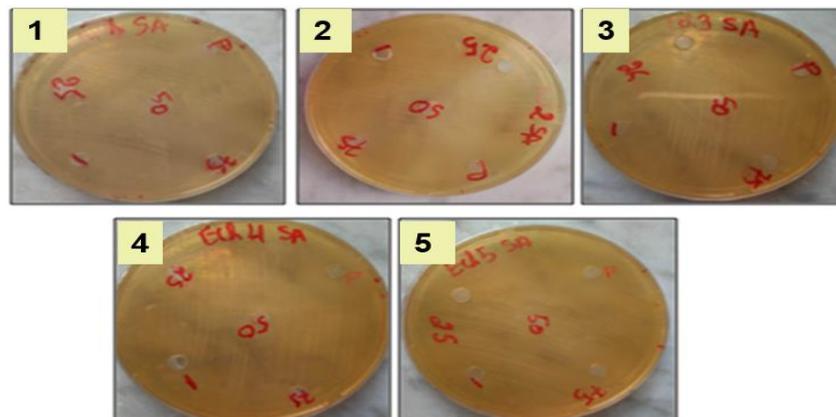


Figure 32 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Salmonella enteritidis*

1: miel de jujubier 2: miel d'agrumes 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

III. Résultats et discussion

Serratia liquefaciens s'est révélée sensible aux concentrations de 100% et 75% pour tous les échantillons de miel, à l'exception du miel de montagne où aucune zone d'inhibition n'a été observée à une dilution de 75%. Cependant, elle s'est révélée inefficace aux concentrations de 50% et 25% pour tous les échantillons de miel testés, (**Figure 33**).

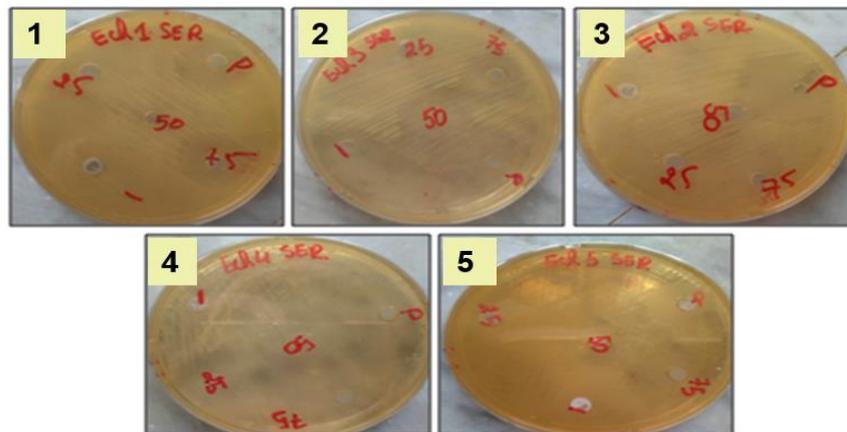


Figure 33: Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Serratia liquefaciens*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Entérobacter cloacae a montré une grande sensibilité au miel de montagne et d'eucalyptus dans toutes les concentrations testées, à l'exception du miel d'eucalyptus à 25% où elle a présenté une sensibilité intermédiaire pour le miel de montagne et une résistance pour le miel d'eucalyptus. En ce qui concerne les échantillons de miel de jujubier et d'agrume, la bactérie s'est révélée sensible uniquement à l'état pur, c'est-à-dire sans dilution. De plus, elle a montré une sensibilité aux concentrations de 100% et 75% du miel de steppe, (**Figure 34**).

III. Résultats et discussion

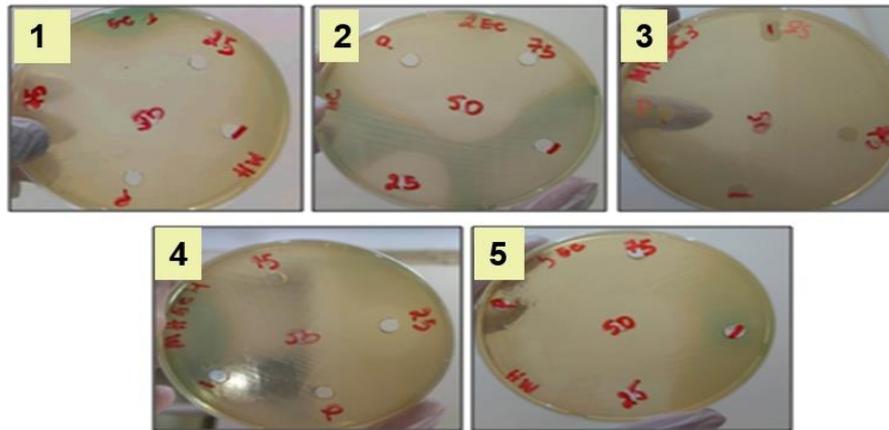


Figure 34: Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Enterobacter cloacae*

1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Proteus mirabilis s'est révélé sensible à l'état pur pour le miel de jujubier et d'agrume, mais résistant pour les autres dilutions de miel. Pour les échantillons de miel d'eucalyptus et de montagne, des résultats similaires ont été observés avec des diamètres d'inhibition de 17 mm et 12 mm pour les concentrations de 100% et 75% respectivement. De plus, il a été noté que le miel de steppe était efficace pour toutes les concentrations, à l'exception de 25% (**Figure 35**).

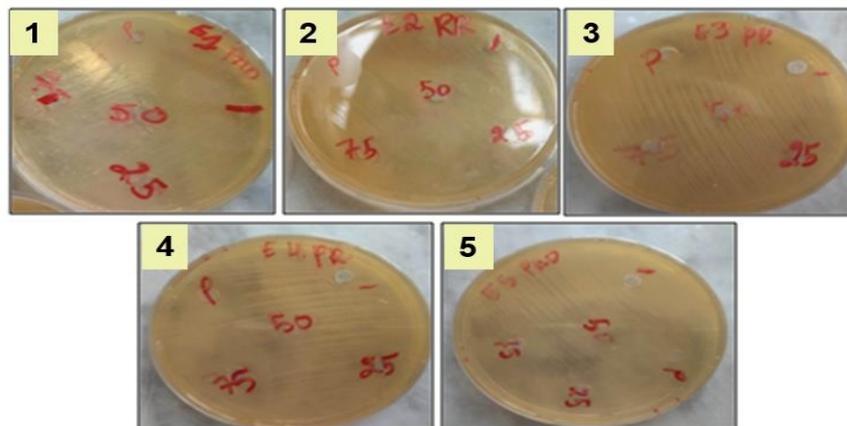


Figure 35 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *Proteus mirabilis*.

1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Klebsiella pneumoniae s'est révélée sensible au miel de jujubier et au miel de montagne à l'état pur, mais aucune sensibilité n'a été observée pour les autres

III. Résultats et discussion

concentrations de miel testées. En ce qui concerne le miel d'agrume, une zone d'inhibition de 24 mm a été observée à une concentration de 100%, et une zone d'inhibition de 12 mm a été observée à une concentration de 75%. Concernant les échantillons de miel d'eucalyptus et de steppe, ils se sont révélés efficaces à l'état pur contre *K.pneumoniae*. Cependant, à une concentration de 75%, une zone d'inhibition de 10 mm a été observée, ce qui suggère une sensibilité intermédiaire de la bactérie à ces échantillons de miel (Figure 36).

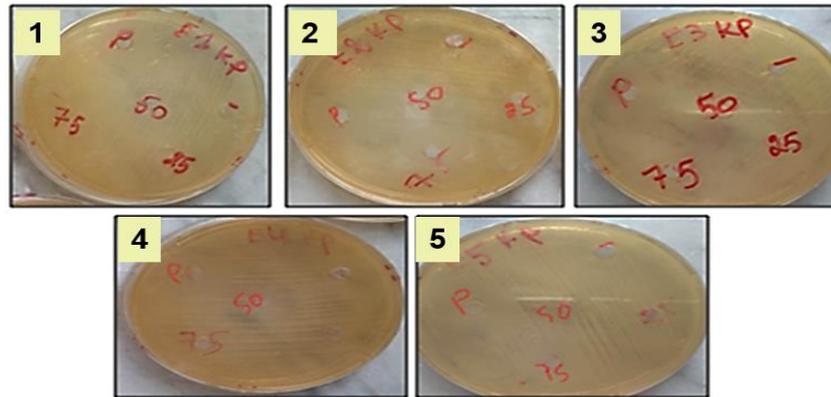


Figure 36 : Effet inhibiteur de cinq échantillons du miel sur *klebsiella pneumoniae*.

- 1: miel de jujubier 2: miel d'agrume 3: miel d'eucalyptus
4: miel de montagne 5: miel de steppe

Les résultats d'évaluation de l'activité antibactérienne montre que les sept souches testées sont sensibles à l'action antibactérienne des cinq types de miel qui ont présenté une qualité physico-chimique répondant aux normes de qualité internationale indiquées par le codex alimentaire (**Code Alimentarius, 2001**) et la commission européenne (**Directive,2001**), pour les paramètres analysés (pH, acidité libre et conductivité électrique et la teneur en eau).

Selon **Cortopassi-Laurino et Gelli (1991)**, le pH d'un miel est l'un des principaux facteurs qui déterminent, pendant sa préparation et son stockage, la survie et la croissance des micro-organismes. Cependant, il est difficile de séparer le rôle du pH des autres paramètres qui sont eux-mêmes influencés par ce facteur. L'origine florale du miel est aussi responsable des activités antibactériennes dues aux substances autres que des peroxydes. Des miels d'origine florale différente possèdent des activités inhibitrices différentes sur diverses souches de bactéries. Cela a été observé dans le présent travail, une variabilité de l'activité antibactérienne a été notée entre les différents types de miel et d'une souche bactérienne à une autre. L'effet inhibiteur du miel est plus prononcé avec les échantillons purs, mais il a nettement diminué dans le cas de la faible concentration.

III. Résultats et discussion

Nous avons également remarqué que la technique de diffusion par puits montre de meilleurs résultats que la technique de diffusion par disque ce qui peut être expliqué par une moins bonne diffusion du miel par la méthode des disques. Pour les deux techniques de diffusion sur gélose, les cinq échantillons de miel ont montré un effet inhibiteur extrême sur *Pseudomonas aeruginosa* et les cinq souches de bactéries, ainsi qu'un effet légèrement moins prononcé sur *Staphylococcus aureus*.

Selon les résultats obtenus, il a été constaté que le miel de jujubier était le plus efficace contre *Staphylococcus aureus*. En ce qui concerne la souche *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabilis* et *Serratia liquefaciens*, ils ont montré une sensibilité très proche aux cinq échantillons de miel. Quant à *Salmonella enteritidis*, elle présente une sensibilité élevée vis-à-vis du miel de jujubier, du miel de montagne et du miel d'eucalyptus respectivement. Le miel d'eucalyptus a également montré une grande sensibilité contre *Klebsiella pneumoniae*.

Les travaux de **BELHAJ et al. (2016)**, montrent que le miel d'agrumes et le miel toutes fleurs ont une forte activité antibactérienne contre *Staphylococcus aureus*, avec des diamètres d'inhibition allant de 30 à 39 mm. En revanche, le miel d'eucalyptus n'a montré aucune inhibition sur cette souche bactérienne.

Chauhan et al.(2010), ont effectué une étude pour évaluer l'activité antibactérienne du miel contre *Staphylococcus*, ont obtenu des résultats similaires : le miel pur a un effet inhibiteur sur la croissance bactérienne, avec des diamètres d'inhibition allant de 8 à 23 mm. Dans une autre étude menée en Algérie, les auteurs ont signalé que *Staphylococcus aureus* avait montré une sensibilité modérée, avec des diamètres d'inhibition variant de 0 à 21 mm pour toutes les concentrations utilisées (**Merah et al., 2010**).

Selon les recherches de **Cavelier.(2013)**, il a été démontré que *Pseudomonas aeruginosa* présentait une sensibilité à trois types de miels, à savoir le miel de colza, le miel de lavande et le miel de thym. Les diamètres d'inhibition observés variaient de 8,91 mm à 12,20 mm. D'autre part **Merah et al.(2010)** ont effectué une étude pour évaluer l'activité antibactérienne du miel contre *Pseudomonas aeruginosa*. Les résultats montrent que cette souche est la plus sensible à l'effet des échantillons de miel testés, avec des diamètres d'inhibition variant de 6 à 30 mm pour toutes les concentrations utilisées. Ils ont noté que le miel du commerce Alshifa n'a montré aucune inhibition sur *Pseudomonas aeruginosa*. Selon les recherches de **BELHAJ et al.(2016)** ,il a été démontré que *Salmonella ssp* présentait une sensibilité à trois types de miels, à savoir le miel de Eucalyptus , le miel d'agrumes et le miel toutes fleurs.les diamètres d'inhibition obtenus

III. Résultats et discussion

étaient compris entre 12 et 44 mm. **Guillon, (2013)** a mené une étude pour évaluer l'activité antibactérienne de trois types de miel : le miel de châtaignier, le miel toutes fleurs et le miel de thym. Les résultats ont clairement démontré que ces trois variétés de miel étaient capables d'inhiber la croissance de différents germes, tels qu'*Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis* et *Klebsiella pneumoniae* de façon proportionnel à la dose.

L'activité antibactérienne des miels naturels semble être affectée par la structure de la paroi cellulaire des bactéries, certains miels étant plus efficaces contre les bactéries à Gram négatif que les bactéries à Gram positif en raison de la densité et de l'épaisseur de leur paroi qui les rend plus résistantes aux concentrations élevées de sucres présents dans le miel que les bactéries à Gram négatif, qui ont une paroi fine et lâche.

Cependant, la composition chimique spécifique de chaque miel joue également un rôle important dans son activité antibactérienne, et cette composition peut varier en fonction de différents facteurs tels que la race des abeilles, la nature du sol et la physiologie de la colonie. Par conséquent, l'effet des miels sur les bactéries est un phénomène complexe qui dépend de plusieurs facteurs interdépendants (**Merah et al., 2010**).

*Conclusion et
Perspective*

Conclusion et perspective

La présente étude décrit les caractéristiques physico-chimiques et bactériologiques de 5 types de miels mono et poly floraux produits de deux régions du pays, à savoir le miel de jujubier et de toutes fleurs de Djelfa et les miels d'agrumes, d'eucalyptus et de toutes fleurs de la région de Tipaza. Les résultats obtenus nous ont permis d'identifier quelques paramètres physico-chimiques relatifs à la qualité des miels ; nous avons aussi testé l'effet antibactérien de ces miels sur quelques souches de bactéries pathogènes isolées et identifiées. Ces paramètres présentent une grande influence sur la conservation, la stabilité et l'utilisation thérapeutique de ces miels.

Les principaux résultats de notre expérimentation révèlent que pour les paramètres physico-chimiques, les miels testés sont conformes aux normes de qualité exigées par le Codex Alimentarius et la Directive européenne, notamment en ce qui concerne le taux d'humidité, l'acidité libre, le pH et la conductivité électrique. Nous avons ainsi remarqué que les miels les plus pauvres en eau, sont des miels récoltés dans les régions à climat chaud et sec tel que remarqué pour l'échantillon n°1 qui provient de la région de Djelfa. La teneur en eau est un paramètre important pouvant influencer les autres paramètres physico-chimiques et influence aussi l'activité antibactérienne des miels.

Les miels analysés ont des origines botaniques et géographique différentes ainsi les normes de qualités préconisées par le Codex Alimentarius et celles de la CE indiquent que le pH doit être 3,50 à 4,50 pour le miel de nectar et 5 à 5,50 pour le miel de miellat. Quand l'acidité libre, elle est inférieure à 50 méq/Kg. La faible teneur en eau de nos échantillons, a fait que tous les miels présentent une acidité libre moyenne inférieure à 37 meq/kg. Les normes de la qualité préconisée indiquent que la conductivité électrique doit être inférieure à 0,80 mS/cm pour les miels de nectar. Les miellats ou les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat est supérieure à 0,80mS/cm. Nous pouvons conclure que nos miels sont des miels qui proviennent du nectar des fleurs.

L'évaluation du pouvoir antibactérien vis-à-vis les sept souches bactériennes révèle des variations par rapport au type de miel, la concentration et aussi la méthode utilisée (par diffusion de disques ou par puits). Les différents types de miel testés présentaient une large activité antibactérienne contre les six souches : *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella enteritidis*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter cloacae* et *Proteus mirabilis*. Cependant, la souche *S. aureus* était moins sensible aux

Conclusion et perspective

différents types de miel, avec une certaine variabilité observée d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

Tous les miels ont montré une activité antibactérienne maximale à une concentration de 100%. Cependant, à des concentrations de 75% et 50%, leur pouvoir inhibiteur variait en fonction du type de miel et de la souche testée. En revanche, la dilution du miel à 25% n'a montré aucun effet sur toutes les souches bactériennes testées. En ce qui concerne les techniques utilisées pour le test du pouvoir antibactérien, la technique de diffusion par puits montre de meilleurs résultats que la technique de diffusion par disque et à cela à cause de la faible diffusion du miel par la méthode des disques.

Les résultats relatifs au test de résistance et ou sensibilité de certaines bactéries vis à vis nos échantillons de miels, nous révèlent que certains types de miels peuvent avoir un effet inhibiteur intéressant sur certaines souches bactériennes choisies pour notre expérimentation tel que le miel de jujubier. L'usage des antibiotiques peut poser des problèmes au niveau de la santé par le phénomène de l'antibio-résistance, ainsi les travaux de recherches sur ces thématiques peuvent apporter des informations utiles portant des réflexions sur les alternatives à utiliser à la place des antibiotiques de synthèse telle que le miel d'agrumes, produit naturel très utilisé depuis très longtemps. Ce modeste travail ouvre plusieurs perspectives intéressantes, suscitant de nouvelles pistes de recherche et d'exploration. Il serait ainsi pertinent de :

- Élargir au niveau des paramètres physico-chimiques tel que le dosage des sucres, L'HMF, la proline et d'autres enzymes comme la diastase et la saccharase.
- Evaluer l'activité du miel contre les bactéries multi résistantes et d'autres espèces pathogènes.
- Evaluer l'activité anti bio film des miels.
- Evaluer autres activités : antiparasitaires, antifongiques et antivirales.
- Etudier le potentiel d'action synergique de différents types de miels avec d'autres antibiotiques.
- Étudier l'activité cicatrisante du miel sur les plaies purulentes ou infectées.
- Synthétiser des produits pharmaceutiques et cosmétologiques à base de miel.
- Etude les mécanismes d'action du miel sur les bactéries pathogènes.

Références bibliographiques

Références bibliographiques

- ACHOUR, H. Y., & KHALI, M. (2014). Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Science: Revue Internationale Des Sciences et Technologie*, 10(2), 127–136.
- Al-Khalifa, A. S., & Al-Arif, I. A. (1999). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Saudi honeys. *Journal of Food Chemistry*, 67(1), 21–25.
- Al-Waili, N. S. (2011). Natural Honey Lowers Plasma Prostaglandin Concentrations in Normal Individuals. *Journal of Medicinal Food*, 14(10), 1069–1075.
- Almasaudi, S. (2021). The antibacterial activities of honey. In *Saudi Journal of Biological Sciences* (Vol. 28, Issue 4, pp. 2188–2196).
- Alvarez-Suarez, J. M., Gasparrini, M., Forbes-Hernández, T. Y., Mazzoni, L., & Giampieri, F. (2014). The composition and biological activity of honey: A focus on manuka honey. *Journal of Foods*, 3(3), 420–432.
- Amir, Y., Yesli, A., Bengana, M., Sadoudi, R., & Amrouche, T. (2010). Physico-chemical and microbiological assessment of honey from Algeria. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry*, 9(9), 1485–1494.
- Astier-Théfenne, H., Wolf, A., Darles, C., & Garnotel, É. (2014). Vérification des performances d'une méthode selon le SH FORM 44: application à la coloration de Gram. *Revue Francophone Des Laboratoires*, 461, 37–46.
- Azonwade, F. E., Paraïso, A., Agbangnan Dossa, C. P., Dougnon, V. T., N'Tcha, C., Mousse, W., & Baba-Moussa, L. (2018). Physicochemical Characteristics and Microbiological Quality of Honey Produced in Benin. *Journal of Food Quality*, 2018.
- Bakchiche, B., Habati, M., Benmebarek, A., & Gherib, A. (2018). Caractéristiques physico-chimiques, concentrations des composés phénoliques et pouvoir antioxydant de quatre variétés de miels locaux (Algérie). *Revue Marocaine Des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 6(1), 118–123.
- BELHAJ, I. EL ABBADI, & T. OUCHBANI. (2016). Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.*, 4, 12–22.
- Belhaj, O., Oumato, J., & Zrira, S. (2015). Étude Physico-Chimique De Quelques Types De Miels Marocains. *Revue . Marocaine . Science. Agronomique. Vétérinaire.*, 3, 71–75.
- Bogdanov, S., & Blumer, P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue Suisse d'agriculture*, 98(3), 107–114.
- Bogdanov, S., Lullmann, C., & Martin, P. (2001). Qualité du miel et norme internationale relative au miel. *Rapport de La Commission Internationale Du Miel. Abeille Cie, N° 71*, 1_4.
- Bogdanov, S., Martin, P., & Lullmann, C. (1997). Harmonised methods of the European Honey Commission. *A Review Apidologie*, 28, 1–59.
- Bogdanov, S., Ruoff, K., & ODDO, L. (2004). Physico-chemical methods for the characterisation of unifloral honeys. *A Review Apidologie*, 35, 4_17.
- Bogdanov S. (2003). Miel 23A. *Revue Apidologie*, : 1-31.
- Bogdanov S. (2011). Honey Composition. *Journal of Bee World, January*, 1–10.
- Bosshard, P. P., Zbinden, R., Abels, S., Böddinghaus, B., Altwegg, M., & Böttger, E. C. (2006). 16S rRNA gene sequencing versus the API 20 NE system and the VITEK 2 ID-GNB card for identification of nonfermenting Gram-negative bacteria in the clinical laboratory. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(4), 1359–1366.

Références Bibliographiques

- Can, Z., Yildiz, O., Sahin, H., Akyuz Turumtay, E., Silici, S., & Kolayli, S. (2015). An investigation of Turkish honeys: Their physico-chemical properties, antioxidant capacities and phenolic profiles. *Journal of Food Chemistry*, 180, 133–141.
- Cavelier, E. (2013). Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Journal of Health Sciences*, 52(531), 22–25.
- Chauhan, A., Pandey, V., Chacko, K., & Khanoal, R. (2010). Antibacterial Efficacy of Raw and Processed Honey. *Electronic Journal of Biology*, 5(3), 58–66.
- Cheepa, F. F., Liu, H., & Zhao, G. (2022). The Natural Cryoprotectant Honey for Fertility Cryopreservation. *A Review Bioengineering*, 9(3), 1–19.
- Ciulu, M., Solinas, S., Floris, I., Panzanelli, A., Pilo, M. I., Piu, P. C., Spano, N., & Sanna, G. (2011). RP-HPLC determination of water-soluble vitamins in honey. *Journal of Talanta*, 83(3), 924–929.
- Codex Alimentarius. (2001). “Codex standard 12, Revised codex standard for honey, standard method”. V.11.
- Collaboration de l’OMS. (2020). Standardisation des testes de sensibilité aux antibiotiques à l’échelle nationale. In 8^{ème} Ed Organisation mondiale de la santé.
- Cooper, R. A., Wigley, P., & Burton, N. F. (2000). Susceptibility of multi-resistant strains of *Burkholderia cepacia* to honey. *Journal in Applied Microbiology*, 31(1), 20–24.
- Cortopassi-Laurino, M., & Gelli, D. S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d’abeilles africanisées *Apis mellifera* et de *Méliponinés* du Brésil. *Journal Apidologie*, 22(1), 61–73.
- Coseil de l’union européenne. (2001). Directive 2001/110/CE du conseil du 20 decembre 2001 relative au miel. *J. Off. Communautés Eur*, 47_52.
- Cuevas-Glory, L. F., Pino, J. A., Santiago, L. S., & Sauri-Duch, E. (2007). A review of volatile analytical methods for determining the botanical origin of honey. *Food Chemistry*, 103(3), 1032–1043.
- Dance, D. A. B., Wuthiekanun, V., Naigowit, P., & White, N. J. (1989). Identification of *Pseudomonas pseudomallei* in clinical practice: use of simple screening tests and API 20NE. *Journal of Clinical Pathology*, 42(6), 645–648.
- Denis, F., Ploy, M.-C., Martin, C., Bingen, É., & Quentin, R. (2007). Bactériologie médicale, techniques usuelles. In 2^e Ed. (Vol. 2007, Issue 397).
- Domergo, R., Imbert, G., & Blanchard, C. (2009). Les remèdes de la ruche. *Ed Alpens, Monaco*, 95.
- Donadiou, Y. (1984). pollen thérapeutique naturelles. 5^{ème} Ed Maloine SA. Paris., 31p.
- Doukani, K., Souhila, T., Asma, D., & Zahira, H. (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Revue Ecologie-Environnement*, 10(January), 1–13.
- El Sohaimy, S. A., Masry, S. H. D., & Shehata, M. G. (2015). Physicochemical characteristics of honey from different origins. *Journal of Annals of Agricultural Sciences*, 60, 279–287.
- Finola, M. S., Lasagno, M. C., & Marioli, J. M. (2007). Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Journal of Food Chemistry*, 100(4), 1649–1653.
- Givskov, M., Eberl, L., & Molin, S. (2006). Control of exoenzyme production, motility and cell differentiation in *Serratia liquefaciens*. *FEMS Microbiology Letters Review*, 148(2), 115–122.
- Gleiter, R. A., Horn, H., & Isengard, H. D. (2006). Influence of type and state of crystallisation on the water activity of honey. *Journal of Food Chemistry*, 96(3), 441–445.
- Gonnet, M., LAVIE., P LOUVEAUX, J. (1964). LA PASTEURISATION DES MIELS.

Références Bibliographiques

- Journal Station Expérimentale d'Apiculture, Centre de Recherches Agronomiques Du Sud-Est Montfavet (Vaucluse)*, 7(2), 81_102.
- Gonnet, M. ;, & Vache, G. (1984). Le Goût du miel: L'analyse sensorielle et les applications diverses d'une méthode d'évaluation de la qualité des miels. In *ed.UNAF.Paris* (p. 146). U.N.A.F.
- Gonnet, M. (1982). Le miel. Composition, propriétés, conservation. *Ed . OPIDA Echauffour ,France*, 21-22p.
- Guillon, N. (2013). *Etude de l'activité antibactérienne du miel.Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Limoges*.
- Hart, T., & Shears, P. (1997). Atlas de poche de microbiologie. *Ed Médecine-Sciences Flammarion*.
- Jean-Loup, A., Henry, D., François, D., & Henri, M. (2000). Bactériologie clinique. In *ed.Paris:Ellipses,3e édition* (p. 7_23).
- JEHL, F. ;, & CATTOEN, C. (2016). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Recommandations 2016. VI.*, p117.
- John, J. F., Sharbaugh, R. J., & Bannister, E. R. (1982). Enterobacter cloacae: Bacteremia, Epidemiology, and Antibiotic Resistance. *Review of Infection Diseases*, 4(1), 13–28.
- Kivrak, Ş., Kivrak, İ., & Karababa, E. (2017). Characterization of Turkish honeys regarding of physicochemical properties, and their adulteration analysis. *Journal of Food Science and Technology (Brazil)*, 37(1), 80–89.
- Korsak, N., Clinquart, A., & Daube, G. (2004). Salmonella spp. dans les denrées alimentaires d'origine animale: Un réel problème de santé publique? *Journal Annales de Médecine Vétérinaire*, 148(4), 174–193.
- Kwakman, P. H. S. (2012). Antibacterial components of honey. *A Review.IUBMB Life*, 64(1), 48–55.
- Kwakman, P. H. S., Velde, A. A. te, Boer, L., Speijer, D., Christina Vandenbroucke-Grauls, M. J., & Zaat, S. A. J. (2010). How honey kills bacteria. *Journal of FASEB*, 22(7), 2576–2582. <https://doi.org/10.1096/fj.09-150789>
- Makhloufi, C., Kerkvliet, J. D., D'Albore, G. R., Choukri, A., & Samar, R. (2010). Characterization of Algerian honeys by palynological and physico-chemical methods. *Journal Apidologie*, 41(5), 509–521.
- Mandal, M. D. (2011). Honey: Its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 154–160.
- Marchenay, P. (1988). Miels, miellats, miellées. *Journal d'agriculture Traditionnelle et de Botanique Appliquée*, 35(1), 121–146.
- Merah, M., Bensaci Bachagha, M., & Boudershem, A. (2010). Etude De L' Effet Antimicrobien De Trois Echentillons Du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Annals of Science and Technology*, 2, 115–125.
- Molan, P. C. (1992). The antibacterial activity of honey. *Journal of Bee World*, 73(2), 59–76.
- Nakahara, A., Shimada, Y., Wakita, J. I., Matsushita, M., & Matsuyama, T. (1996). Morphological Diversity of the Colony Produced by Bacteria Proteus mirabilis. In *Journal of the Physical Society of Japan* (Vol. 65, Issue 8, pp. 2700–2706).
- Ouchemoukh, S., Louaileche, H., & Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Journal Food Control*, 18(1), 52–58.
- Paczosa, M. K., & Meccas, J. (2016). Klebsiella pneumoniae: Going on the Offense with a Strong Defense. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 80(3), 629–661.
- Pérez-Arquillué, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T., & Herrera, A. (1995).

Références Bibliographiques

- Physicochemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Journal of Food Chemistry*, 54(2), 167–172.
- Popovic, N. T., Coz-Rakovac, R., & Perovic, I. (2007). Commercial phenotypic tests (API 20E) in diagnosis of fish bacteria. *A Review Veterinarni Medicina*, 2(2), 49–53.
- Sanchez, V., Baeza, R., Ciappini, C., Zamora, M. C., & Chirife, J. (2010). Comparison between Karl Fischer and refractometric method for determination of water content in honey. *Journal of Food Control*, 21(3), 339–341.
- Saranraj, P., & Sivasakthi, S. (2018). Comprehensive review on honey: biochemical and medicinal properties. *Journal of Academia and Industrial Research*, 6(10), 165–181.
- Saxena, S., Gautam, S., & Sharma, A. (2010). Physical, biochemical and antioxidant properties of some Indian honeys. *Journal Food Chemistry*, 118(2), 391–397.
- Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., Leipe, D., McVeigh, R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S., & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: A comprehensive update on curation, resources and tools. *Database*, 2020.
- Schweitzer, P. (2004). le monde des miellats. In . *Revue l'abeille de France N°908 laboratoire d'analyse et d'écologie apicole* (Vol. 908).
- Shin, H. S., & Ustunol, Z. (2005). Carbohydrate composition of honey from different floral sources and their influence on growth of selected intestinal bacteria: An in vitro comparison. *Journal of Food Research International*, 38(6), 721–728.
- Silva, L. R., Videira, R., Monteiro, A. P., Valentão, P., & Andrade, P. B. (2009). Honey from Luso region (Portugal): Physicochemical characteristics and mineral contents. *Microchemical Journal*, 93(1), 73–77.
- Terrab, A., Díez, M. J., & Heredia, F. J. (2002). Characterisation of Moroccan unifloral honeys by their physicochemical characteristics. *Journal of Food Chemistry*, 79(3), 373–379.
- Terrab, A., Recamales, A. F., Hernanz, D., & Heredia, F. J. (2004). Characterisation of Spanish thyme honeys by their physicochemical characteristics and mineral contents. *Journal of Food Chemistry*, 88(4), 537–542.
- Vasil, M. L. (1986). *Pseudomonas aeruginosa*: Biology, mechanisms of virulence, epidemiology. *The Journal of Pediatrics*, 108(5 PART 2), 800–805.
- Zumla, A., & Lulat, A. (1989). Honey - A remedy rediscovered. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 82(2), 384.

Annexes

Annexes

ANNEXE I: Matériels Non biologique utilisé dans l'analyse physico-chimique

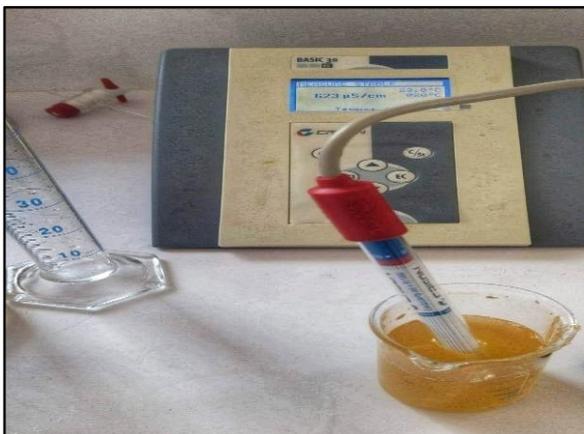
Matériels Non biologique		
Appareillage	Verrerie	Consommable
Bain marie	Becher en verre	Baguette magnétique
Balance	Flacons en verre	Barreaux magnétiques
Conductimètre	Burettes graduées	Poires
pH-mètre	Entonnoir en verre	flacon hermétiquement fermé
Réfractomètre digital	Pipettes	Gants propres
Agitateurs mécanique.	baguette en verre	Pissettes d'eau distillée



Réfractomètre digital



Un bain marie



Conductimètre



Le pH-mètre

Annexes

ANNEXE II : Matériels Non biologique utilisé en microbiologie

Matériels Non biologique			
Appareillage	Instruments Consommable	Milieux	réactifs chimiques
-Autoclave	-Boite de pétri	-Milieu Chrom-Agar	-VPI
-Bain-marie	-Ecouvillon	-Gélose du sang	-VPII
-Microscope	-Micropipette	-Milieu chapman	-KOVACS
-Bec Bunsen	-Disques de papier wattman	-Milieu Hektoen	-TDA
-Réfrigérateur	-Disque d'antibiotique	-Milieu XLD	-Violet de Gentiane
	-Tube à essais		-Fuschine
	-Lames et lamelles		-Lugol
	-Anse de Platine		
	-Galerie API		



Microscope optique



Étuve

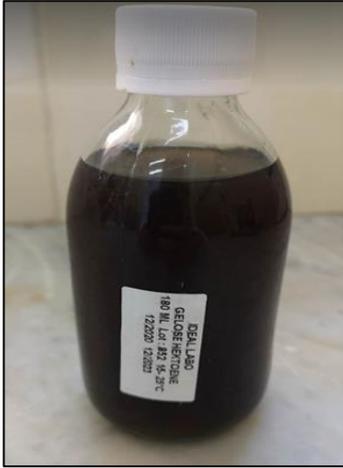


Bain marie

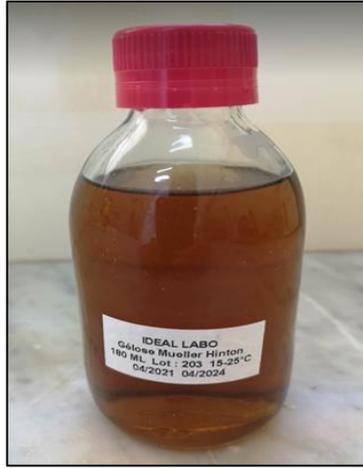


Micropipette

Annexes



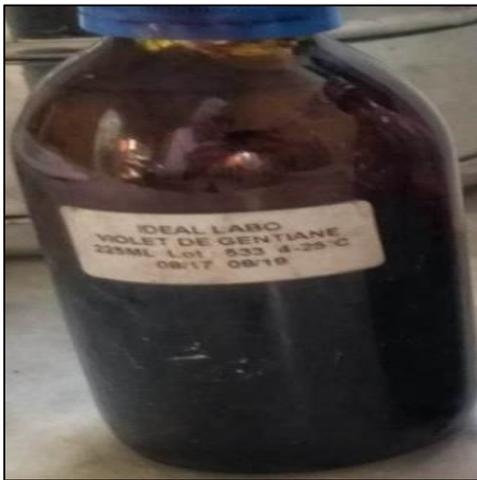
Gélose Hektoen



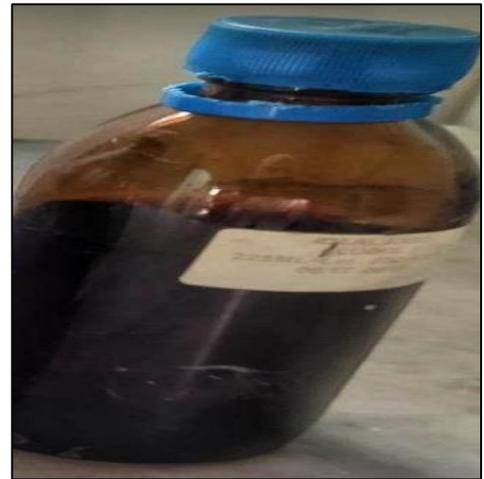
Gélose Muller Hinton



Gélose Chapman



violet de gentiane



Lugol



Fuschine



Alcool

Annexes

ANNEXE III : Résultat de la galerie API 20NE et API20E

Résultat de la galerie API 20NE			
Tests	<i>pseudomonas aeruginosa</i>	Tests	<i>pseudomonas aeruginosa</i>
No3	+	MNE	-
TRP	-	MAN	+
GLU	-	NAG	-
ADH	-	MAL	-
URE	-	GNT	+
ESC	+	CAP	-
GEL	+	ADI	+
PNPG	+	MLT	+
GLU	+	CIT	+
ARA	-	PAC	-

Résultat de la galerie API20E					
Teste	<i>Salmonella enteritidis</i>	<i>klebsiella pneumoniae</i>	<i>Serratia liquefaciens</i>	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Proteus mirabilis</i>
OPNG	-	-	+	+	+
ADH	-	-	-	+	-
LDS	+	+	+	-	-
ODS	+	-	-	+	+
CIT	+	-	+	+	+
H2S	-	-	-	-	+
URE	+	-	-	-	+
TDA	-	-	+	-	+
IND	-	-	+	-	-
VP	+	+	+	+	+
GEL	+	+	+	+	+
GLU	+	-	+	+	+
MAN	+	-	+	+	-
INO	+	-	-	+	-
SOR	+	-	+	+	-
RHA	-	-	+	+	-
SAC	+	-	+	+	-
MEL	+	-	+	+	-
AMY	-	-	-	-	-
ARA	+	-	+	+	-