

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire
وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
جامعة 8 ماي 1945 قالمة
Université 8 Mai 1945 Guelma
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Sciences de la Terre et de l'Univers



Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Biologie

Spécialité/Option : Santé, Eau et Environnement : Microbiologie Appliqué

Département : Écologie et Génie de l'Environnement

Thème :

L'effet antibactérien du miel et de la propolis sur les bactéries impliquées dans les infections nosocomiales

Présenté par :

ATHMANI Mouna

ELMESAADI Henen

TIFOUTI Oumaima

Devant le jury composé de :

Président :	ROUIBI. A	M.C.B	Université de Guelma
Examineur :	LEKSIR .CH	M.A.A	Université de Guelma
Encadreur :	DJAMAA. F	M.C.B	Université de Guelma
Co-encadreur :	ROUAIGUIA .M	Docteur	Université de Guelma

Juin 2018

Remerciements

*Nous remercions **ALLAH** tout puissant qui nous a donné le courage et la volonté et de nous avoir bénie pour la réalisation de ce travail.*

*Au terme de ce travail, nous tenons à exprimer nos remerciements et notre profonde gratitude à Monsieur **Abdelhakim ROUBI**, Maître de conférences B à l'université de Guelma, d'avoir bien accepté de présider ce jury. Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques.*

*Nous souhaitons exprimer notre gratitude à Madame **Choubaila LEKSIR**, Maître assistant A à l'université de Guelma, pour avoir exprimé son entière disponibilité à participer à ce jury et examiner ce mémoire.*

*Nous tenons particulièrement à remercier notre promotrice et directrice de mémoire **M^{elle} Fatma DJAMAA**, Maître de conférences B à l'université de Guelma pour avoir accepté la charge de nous encadré.*

*Nous voudrions présenter nos remerciements et notre gratitude au laboratoire d'analyse «**Mr Djelloule** » pour son acceptation afin de réaliser ce travail. Nous remercions également tout le personnel de laboratoire d'analyse « **Mr Djelloule** » pour leur accueil et leur contribution dans ce travail.*

*Un merci particulier à **M^{elle} Meriem ROUAIGUIA**, Docteur et enseignante vacataire à l'université de Guelma pour son aide.*

Merci, à ceux et celles qui nous ont aidé d'une façon ou d'une autre, de près ou de loin dans notre travail, nous les remercions du fond du cœur.

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde



♥ *Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie.* ♥

♥ *À mon chère père, pour son soutien son aide et sa compréhension.* ♥

♥ *À mon cher et unique frère Mehdi, ma fierté dans cette vie.* ♥

♥ *À mes tendre, gentille et adorable sœurs Besma et Marwa.* ♥

♥ *À mes chères cousines Islem, Ghada, Lamis, Tamara, Abdeljalil, Yahya en témoignage de mes plus profondes amitiés.* ♥

♥ *À mon cher oncle Samir* ♥

♥ *À mes chères amies Imen, Fatma, Meryouma, Marwa, Bouthaina, Soumia*

Je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage. ♥

♥ *À mes trinômes Mouna et Henen, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.* ♥

À la technicienne du labo Mme « Waffa » pour son aide et sa patience

À tous ceux qui ont contribué de près ou

de loin à la réalisation de ce travail particulièrement

Khaoula et Chourouk et ma cher « Meryem Rouaiguia ».

Oumaima

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde



♥ Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie. ♥

♥ À mon chère père, pour son soutien son aide et sa compréhension. ♥

♥ À ma cher frère Salah, ma fierté dans cette vie. ♥

♥ Ames tendres, gentilles et adorables sœurs Ahlem, Amani, Rahma et ces fils Zaineb et Ayoub. ♥

♥ Ames chères amies Bouthaina, Nabila, Khadidja, Naima, Basma et Lamia, je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage. ♥

♥ À mes trinômes Oumaima et Mouna, je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble. ♥

*À la technicienne du labo Mme « Waffa » pour son aide et sa patience
À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail*

Particulièrement Khaoula et Chourouk,

Henen

Dédicace

Je dédie ce modeste travail à mes plus chers êtres au monde



♥ *Tout d'abord et spécialement à ma chère mère pour son chaleureux encouragement, sa tendresse, sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie.* ♥

♥ *À mon chère père, pour son soutien son aide et sa compréhension.* ♥

♥ *À mes chers frères Aymen, Youcef et Zinou, ma fierté dans cette vie.*

♥ *À ma tendre, gentille et adorable sœur Besma.* ♥

♥ *À mes chères cousines Oussama, Assma, Amira, Samra, en témoignage de mes plus profondes amitiés.* ♥

♥ *À mes chères tantes à qui j'exprime mes plus profonds sentiments d'amour.* ♥

♥ *À mes chères amies Basma, Nabila, Farah, Fayza, Bouthaina, Fahima, Chahra, je les remercie pour le sourire qu'elles ont su toujours dessiner sur mon visage.* ♥

♥ *À mes trinômes Oumaima, Henen je la remercie pour le courage qu'elle m'a donné et tous les moments qu'on a passé ensemble.* ♥

*À la technicienne du labo Mme « Waffa » pour son aide et sa patience
À tous ceux qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail
particulièrement Khaoula et Chourouk,*

Mouna

أعوذ بالله السميع العليم من الشيطان الرجيم

{وَأَوْحَىٰ رَبُّكَ إِلَى النَّحْلِ أَنْ اتَّخِذِي مِنَ الْجِبَالِ بُيُوتًا وَمِنَ الشَّجَرِ وَمِمَّا
يَعْرِشُونَ (68) ثُمَّ كُلِي مِنْ كُلِّ الثَّمَرَاتِ فَاسْلُكِي سُبُلَ رَبِّكِ ذُلًّا يَخْرُجُ مِنْ
بُطُونِهَا شَرَابٌ مُخْتَلِفٌ أَلْوَانُهُ فِيهِ شِفَاءٌ لِلنَّاسِ إِنَّ فِي ذَلِكَ لَآيَةً لِقَوْمٍ
يَتَفَكَّرُونَ (69)}

الآيتان 68، 69 سورة النحل

« O Prophète, ton Seigneur a inspiré aux abeilles leur mode de vie et leurs moyens de subsistance. Il leur a inspiré de prendre les cavernes des montagnes, les cavités des arbres et les treilles pour demeures (68). -Puis Allah - qu'Il soit exalté- leur a inspiré de se nourrir de tous les fruits des arbres et des plantes ; Il leur a rendu disponibles, à cette fin, des moyens que leur Seigneur leur avait préparés et rendus faciles. De leurs estomacs sort un liquide de différentes couleurs, qui apporte une guérison pour les hommes. Il y a dans cette chose merveilleuse des preuves évidentes de l'existence d'un Créateur Tout-Puissant et Sage, pour un peuple qui réfléchit pour en tirer profit et gagner ainsi un bonheur permanent (69) » (Sourate El Nahl verset 68 – 69).

Table des matières

Liste des figures	i
Liste des tableaux	iii
Liste des photos.....	iv
Liste des abréviations.....	v
Introduction	1

Première partie : Étude bibliographique

Chapitre I : Généralité sur le miel et la propolis

1. Le miel.....	5
1.1. Définition du miel.....	5
1.2. Production du miel.....	5
1.3. Origine du miel.....	5
1.3.1. Nectar.....	6
1.3.2. Miellat.....	6
1.3.3 Autres origines de miel.....	6
1.4. Types du miel	6
1.4.1. Les miels mono floraux (uni floraux)	6
1.4.2. Les miels multi floraux (poly floraux).....	7
1.5. Composition chimique.....	7
1.6. Caractéristique physicochimique.....	8
1.6.1. Densité	8
1.6.2. Viscosité.....	8
1.6.3. Conductivité électrique	8
1.6.4. Indice de réfraction	8
1.6.5. Potentiel d'hydrogène	9
1.7. Propriétés thérapeutique	9
1.7.1. Activité anti-oxydant	9
1.7.2. Activité anti-inflammatoire.....	9
1.7.3. Activité cicatrisante	9
1.7.4. Activité antibactérienne	10
1.7.5. Activité anti-diarrhéiques.....	10
2. La propolis.....	10
2.1. Définition de la propolis.....	10

2.2. Production de la propolis.....	10
2.3. Composition chimique.....	10
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	12
2.4.1. La consistance.....	12
2.4.2. La solubilité	12
2.4.3. La densité	12
2.4.4. Point de fusion	12
2.5. Propriété thérapeutique.....	12
2.5.1. Propriété antibiotique.....	12
2.5.2. Activité anti-oxydante.....	13
2.5.3. Activité anti inflammatoire	13
2.5.4. Activités anti cancéreuses	13
2.5.5. Activités cicatrisantes	13
2.5.6. Activités antibactérienne.....	13

Chapitre II:

Les microorganismes responsables des infections nosocomiales

1. Les infections nosocomiales.....	15
1.1. Définition des infections nosocomiales.....	15
1.2. Origines des infections nosocomiales	15
1.3. Mécanismes de transmission.....	15
1.4. Microorganismes responsables des infections nosocomiales.....	16
1.4.1. Bactéries	16
1.4.1.1. Les entérobactéries.....	16
1.4.1.2. Staphylococcus	18
1.4.1.3. Les pseudomonadaceae.....	18
1.4.2. Virus	18
1.4.3. Champignons microscopiques.....	19
2. Résistance bactérienne aux antibiotiques de certaines bactéries d'importance clinique .	19
2.1. Les entérobactéries	19
2.1.1. Résistance naturelle	19
2.1.2. Résistance acquise	20
2.2. Pseudomonas aeruginosa.....	21
2.2.1. Résistance naturelle	21

2.2.2. Resistance acquise	21
2.3. Staphylococcus aureus.....	21
3. L'effet du miel et de la propolis sur certaines bactéries d'importance clinique	21
3.1. L'activité antibactérienne du miel	21
3.1.1. L'Osmolarité	22
3.1.2. Le pH acide	22
3.1.3. Le peroxyde d'hydrogène.....	23
3.2. L'effet antibactérien de la propolis.....	23

Deuxième partie: Étude expérimentale

1. Objectifs	25
1.1. Objectif principal.....	25
1.2. Objectifs secondaires.....	25
2. Matériel	25
2.1. Le miel et la propolis	25
2.1.1. Collecte des échantillons.....	25
2.1.2. Préparation des concentrations de miel.....	26
2.1.3. Préparation de l'extrait éthanolique de la propolis	26
2.2. Préparation des disques	27
2.3. Les souches bactériennes.....	28
2.3.1. Prélèvement des bactéries	28
2.3.2. Isolement et identification.....	28
3. Méthodes	28
3.1. Analyses physico-chimiques	28
3.1.1. Analyses physico-chimiques du miel.....	29
3.1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis.....	32
3.2. Analyse microbiologique.....	35
3.2.1. Étude de la sensibilité aux Antibiotiques.....	35
3.2.2. La recherche de l'effet antimicrobien du miel et de la propolis	37

Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques de miel	39
1.1. Teneur en eau et indice de réfraction.....	39
1.2. Mesure de la conductivité électrique	39
1.3. Détermination du pH	40

1.4. Détermination de l'acidité libre.....	41
1.5. Détermination de la teneur en cendres	41
1.6. Détermination de la teneur en polyphénols	42
2. Analyses physico-chimiques de la propolis	43
2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage.....	43
2.2. Détermination du pH	44
2.3. Détermination de la teneur en cendres	44
2.4. Détermination de la teneur en polyphénols	44
2. Identification des souches bactériennes	45
2.1. Aspect macroscopique des colonies	45
2.2. Aspect microscopique.....	45
2.3. Résultats de l'identification biochimique.....	46
2.3.1. Résultats de l'identification des Entérobactéries	46
2.3.2. Résultats des tests d'identification des souches de <i>Pseudomonas</i>	47
2.3.3. Résultats des tests d'identification de <i>Staphylococcus aureus</i>	48
3. Résultats de l'antibiogramme.....	48
3.1. Les Entérobactéries.....	48
3.1.1. <i>Klebsiella pneumonia</i>	48
3.1.2. <i>Proteus mirabilis</i>	49
3.1.3. <i>Serratia</i>	50
3.1.4. <i>Salmonella</i>	51
3.1.5. <i>E. coli</i>	52
3.2. <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	53
3.3. <i>Staphylococcus aureus</i>	54
4. Évaluation de l'effet antibactérien de miel et de la propolis.....	56
4.1. Évaluation de l'effet antibactérien du miel.....	56
4.1.1. Effet du miel sur <i>E. coli</i>	57
4.1.2. Effet du miel sur <i>Salmonella spp.</i>	57
4.1.3. Effet du miel sur <i>Proteus mirabilis</i>	57
4.1.4. Effet du miel sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	58
4.1.5. Effet du miel sur <i>Serratia</i>	58
4.1.6. Effet du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
4.1.7. Effet du miel sur <i>Staphyloquoccus aureus</i>	58
4.2. Évaluation de l'effet antibactérienne de la propolis	62

4.2.1. Effet de la propolis sur <i>E. coli</i>	62
4.2.2. Effet de la propolis sur <i>Salmonella spp</i>	63
4.2.3. Effet de la propolis sur <i>Proteus mirabilis</i>	63
4.2.4. Effet de la propolis sur <i>Klebsiella pneumonia</i>	63
4.2.5. Effet de la propolis sur <i>Serratia</i>	64
4.2.6. Effet de la propolis sur <i>Pseudomonas aerogenosa</i>	64
4.2.7. Effet de la propolis sur <i>Staphylococcus aureus</i>	64
5. Comparaison entre l'effet du miel, de la propolis et des antibiotiques	65
Conclusion	
Référence bibliographique	
Résumé	
Annexe	

Liste des figures

Figure	Titre	Page
Figure 1	Échantillons de miel et de Propolis	25
Figure 2	Concentrations de miel	26
Figure 3	Extrait éthanolique de la propolis	27
Figure 4	Disque de papier Watman n°3	27
Figure 5	Le réfractomètre utilisé de type Bellingham et Stanley	29
Figure 6	Multi paramètres de type WTW Multi 350i	30
Figure 7	pH mètre de type AD1030	31
Figure 8	Four a moufle de type NABERTHARM	32
Figure 9	Ensemencement sur milieu Muller Hinton	38
Figure 10	Le Miel avant l'ajout de sulfate de fer	42
Figure 11	Le Miel après l'ajout de sulfate de fer	42
Figure 12	Observation microscopique après coloration de Gram (x 100)	46
Figure 13	Résultat de la recherche des enzymes respiratoires	47
Figure 14	Profil biochimique de la souche <i>Proteus mirabilis</i>	47
Figure 15	Profil biochimique de la souche <i>Salmonella spp</i>	47
Figure 16	Profil biochimique de la souche <i>Klebsiella pneumonia</i>	48
Figure 17	Profil biochimique de la souche <i>Serratia</i>	48
Figure 18	Profil biochimique de la souche <i>E. coli</i>	48
Figure 19	Profil biochimique de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	48
Figure 20	Profil biochimique de la souche <i>Staphylococcus aureus</i>	49
Figure 21	Taux de résistance de <i>Klebsiella pneumoniae</i>	50
Figure 22	Taux de résistance de <i>P. mirabilis</i>	51
Figure 23	Taux de résistance de <i>Serratia</i>	52
Figure 24	Taux de résistance de <i>salmonella</i>	52
Figure 25	Taux de résistance d' <i>E. coli</i>	53
Figure 26	Taux de résistance de <i>P. aeruginosa</i>	54
Figure 27	Taux de résistance de <i>S. aureus</i>	55
Figure 28	Étude de l'effet antibactérien du miel	56
Figure 29	Étude de l'effet antibactérien du miel	63

Liste des tableaux

Tableau	Titre	Page
Tableau 1	Principaux composants du miel en pourcentage	7
Tableau 2	Principaux composants de la propolis en pourcentage	11
Tableau 3	Préparation des concentrations de miel	26
Tableau 4	Préparation des concentrations de la propolis	27
Tableau 5	Liste des antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance	37
Tableau 6	Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des miels	43
Tableau 7	Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques de la propolis.	45
Tableau 8	L'aspect macroscopique des colonies isolées.	45
Tableau 9	Résultats de l'état frais, la coloration de Gram et les enzymes respiratoires	46
Tableau 10	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Klebsiella pneumonia</i>	49
Tableau 11	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Proteus mirabilis</i>	50
Tableau 12	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Serratia</i>	51
Tableau 13	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Salmonella</i>	52
Tableau 14	Résultat de l'antibiogramme pour <i>E. coli</i>	53
Tableau 15	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54
Tableau 16	Résultat de l'antibiogramme pour <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Tableau 17	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>E. coli</i>	57
Tableau 18	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>Salmonella spp</i>	58
Tableau 19	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>Proteus mirabilis</i>	58
Tableau 20	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	59
Tableau 21	Diamètre d'inhibition du miel sur sur <i>Serratia</i>	59
Tableau 22	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	59
Tableau 23	Diamètre d'inhibition du miel sur <i>Staphyloquoccus aureus</i>	60
Tableau 24	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>E. coli</i>	64
Tableau 25	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Salmonella spp</i>	64
Tableau 26	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Proteus mirabilis</i>	65
Tableau 27	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Klebsiella pneumonia</i>	65
Tableau 28	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Serratia</i>	65
Tableau 29	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	66
Tableau 30	Diamètre d'inhibition de la propolis sur <i>Staphyloquoccus aureus</i>	66

Liste des abréviations

μG : Microgramme

μM : Micro mètre

BMR : Les bactéries multi résistantes

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CHU : Centre Hospitalo-Universitaire

CM : Centimètre

CMI50 : Concentration minimale inhibitrice de 50% des germes.

E : Equivalent

EEP : Extrait éthanolique de la propolis

G : Gramme

I : Intermédiaire

KG : Kilogramme

M : Masse

Meq : Milli équivalent

MH : Mueller Hinton

ML : Millilitre

MM : Millimètre

MS : Milli Semence

N : Normalité

NaOH : Hydroxyde de sodium

P : Poids

PH : Potentiel d'hydrogène

R : Résistante

S : Sensible

SS : Salmonella Shigella

SARM : *Staphylococcus aureus* résistants à la métricilline.

V : volume



Introduction

Au cours des cinquante dernières années, les antibiotiques ont joué un rôle crucial dans la lutte contre de nombreuses maladies et infections et leur développement a révolutionné le traitement de ses maladies. Cependant, avec l'utilisation croissante et parfois injustifiée de ces molécules, les bactéries ont appris à se défendre et à s'adapter et certaines sont devenues résistantes aux antibiotiques. Cette situation apparaît particulièrement préoccupante en milieu hospitalier et le nombre de bactéries résistantes est sans cesse d'augmentation et nous assistons de plus en plus à l'émergence de nouvelles résistances **(Boukhatem, 2013)**.

En effet, le développement de la résistance des micro-organismes aux divers antibiotiques préoccupent les spécialistes en médecine. Le développement de nouveaux agents thérapeutiques s'avère indispensable pour lutter contre les phénomènes de la résistance bactérienne **(Bouazize et Ramdane, 2006)**.

De nos jours, devant l'essor des médecines naturelles et face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels. Le miel et la propolis peut être des a tout grâce à ses activités thérapeutiques et surtout antibactériennes le miel est le plus communément utilisé, ce dernier est une substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar des plantes ou à partir de sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou d'insectes suceurs de sève. C'est l'un des aliments les plus complexes qui sont produits par la nature **(Codex Alimentarius, 2001)**.

Il a été rapporté que le miel contient jusqu'à 200 substances, il est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle. La composition du miel est en fonction des espèces végétales, du climat, des conditions **(White, 1979)**.

Grace à ces propriétés à large spectre, la propolis est le produit apicole le plus médicinale de la ruche. Étant riche en flavonoïde et en acides phénolique, la propolis est pourvue d'une très forte activité antioxydant et antimicrobienne **(Marcucci, 1995)**.

Dans ce travail, nous présentons une synthèse des connaissances actuelles sur les propriétés générales et spécifiques du miel et de propolis et notamment sur son pouvoir antibactérien révélé *in vitro*. Ce travail repose sur trois axes de recherche principaux:

Une analyse physicochimique du miel et de propolis qui concerne la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH et de l'acidité libre, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols pour le miel. La teneur de pertes pendant le séchage, du pH, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols pour la propolis.

Le deuxième axe abordé est l'isolement et l'identification des bactéries responsables des infections nosocomiales.

En fin, l'effet antibactérien du miel et de propolis sur les bactéries identifiés. Dans cette même partie du travail, nous avons étudié la résistance bactérienne aux antibiotiques.

Les résultats sont suivis d'une discussion dans laquelle nous essayerons d'interpréter nos résultats et de les comparer avec des études réalisées dans d'autres régions.

Une conclusion générale fera la synthèse des résultats tirés de l'ensemble des différents chapitres.



Première partie

Étude bibliographique

Chapitre I:
Généralité sur le miel et la propolis

1. Le miel

1.1. Définition du miel

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivante de plante 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 secrètent elles-mêmes, déposent , déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche (**Codex standard , 2001**).

1.2. Production du miel

Le miel est produit grâce au butinage des abeilles, soit par aspiration du nectar en écartant les pétales de la fleur, soit à partir du miellat, déposé sur les végétaux (**Roman et Gauthier, 2009**).

Durant le retour à la ruche, une enzyme, l'invertase, est sécrétée dans le jabot de l'abeille et s'ajoute au nectar, ce qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et fructose. (**Fanny, 2015**). Dans la ruche l'abeille butineuse régurgite le nectar à une autre abeille qui, elle-même, le rejettera puis le ré-avalera pour le mélanger à de la salive et des sucs gastriques (**Roman et Gauthier, 2009**).

Le nectar va s'enrichir en enzyme et s'appauvrir en eau. Il va être emmagasiné dans des cellules réservé au stockage. Sous l'influence de la température de la ruche et de la ventilation assurée par les ouvrières, le miel mûr évapore son eau. Quand la teneur en eau du miel est inférieure à 19%, le miel est mur et il sera operculé par une couche de cire (**Huchet, 1996**).

La quantité de miel emmagasinée dans la ruche étant largement supérieure aux besoins des abeilles, la quantité de miel récoltée par l'Homme ne porte pas préjudice à la vie de la ruche (**Irland, 2010**).

1.3. Origine du miel

Selon **Ancheling (2005)**, le miel est élaboré par les abeilles à partir de sucres produits par des végétaux, soit sous forme de nectar, soit sous forme de miellat.

1.3.1. Nectar

Liquide plus ou moins doux et parfumé produit par les fleurs des plantes supérieures (**Biri, 1976**). D'après **Schweitzer (2005)** selon leurs origines végétales, les nectars contiennent plus ou moins du saccharose. On les classe en :

- ✓ Des nectars à saccharose prédominant ;
- ✓ Des nectars à taux égaux de saccharose, fructose et glucose ;
- ✓ Des nectars avec prédominance du glucose et du fructose.

1.3.2. Miellat

Selon **Biri (1999)**, le miellat est un liquide sucré produit par plusieurs espèces d'insectes parasites vivant sur les feuilles de nombreuses plantes. Le miel de miellat présente une couleur ombre foncée. Son goût est agréable, il est très riche en sels minéraux, contrairement aux nectars, les miellats contiennent beaucoup d'éléments indigestes pour l'abeille y compris certains sucres polyholosides (**Schweitzer, 2004**).

1.3.3. Autres origines du miel

Il existe aussi du miel de sucre ; miel produit par des abeilles nourries à l'aide de sucre (**Apfelbaum et al., 2004**), et quelquefois fruits, cannes à sucre, etc... (**Schweitzer, 2004**).

1.4. Types du miel

Il existe nombreuses variétés du miel qui peuvent être classées de façon diverses :

- ✓ Le miel varie selon l'origine florale : Les miels monofloraux et les miels multifloraux.
- ✓ En fonction de l'origine sécrétoire : miel de nectar et le miel de miellat.

1.4.1. Les miels mono floraux (uni floraux)

Un miel dit mono floral est issu d'un nectar, ou d'un miellat, collecté par les abeilles sur un végétal unique et particulièrement attractif pour ces insectes. Cette définition stricte n'est vraiment avérée qu'en certains cas particuliers, notamment sur les grandes cultures. (**Gonnet, 1982**). Les miels mono floraux possèdent des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques (**Bogdanov et al., 2003**).

1.4.2. Les miels multi floraux (poly floraux)

Les miels multi floraux, ou miel toutes fleurs, souvent classés suivant les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt, etc.), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) (Donadieu, 1984).

1.5. Composition chimique

Le miel est une substance complexe dont la composition varie d'un échantillon à l'autre en fonction de nombreux facteurs tels que :

- L'origine florale ;
- Condition météorologique ;
- Nature du sol (Makhloufi, 2010).

Mélange d'origine végétal et animale, deux cents substances y ont été identifiées jusqu'à présent participent à l'équilibre de notre organisme (Tableau 1) (Raessi *et al.*, 2013).

Tableau 1 : Principaux composants du miel en pourcentage (White *et al.*, 1962 in Makhloufi, 2011).

	Composants	Pourcentages (%)
Eau	/	17,2
Sucres	Lévilose (D-Fructose)	38,19
	Dextrose (D-Glucose)	31,28
	Saccharose (D-Saccharose)	01,31
	Maltose et autre disaccharides réducteurs	07,31
	Sucre supérieure	01,5
	Sucre totaux	79,59
Acides	Gluconique, Citrique, Malique, Succinique, Formique, etc.	0,57
Protéines	Acides aminés : acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine, et lysine.	0,26
Cendres	Minéraux : potassium, sodium, magnésium, calcium, phosphore, fer, manganèse, cuivre, etc...	0,17

Composant Mineures	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcools de sucre, des tannins, des enzymes et des diastases dont l'amylase, la peroxydase, les scindés, l'hydrogénase, la phosphatase, et les invertases. Des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, la vitamine K, l'acide folique, la biotine.	2,21
---------------------------	---	------

1.6. Caractéristique physicochimique

Les caractéristiques physico-chimiques du miel varient selon l'origine de la plante et selon la composition des sucres [1].

1.6.1. Densité

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45g/cm³. C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels (**Emmanuelle et al., 1996**). Se détermine au pèse sirop ou au densimètre [1].

1.6.2. Viscosité

Les miels ont une viscosité qui dépend de leur teneur en eau, de leur composition chimique ainsi que de la température extérieure. La Viscosité diminue quand la température s'élève à 30°C (**Vache et Gonnet, 1985**).

1.6.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée (**Mazrou, 2008**).

Elle est intéressante car elle permet de distinguer aisément des miels de miellats des miels de fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (**Emmanuelle et al., 1996**).

1.6.4. Indice de réfraction

Cet indice est couramment utilisé ; il permet de calculer la teneur en eau d'un miel (**Lebihan, 2016**). Il oscille entre 1,47 et 1,50 suivant sa teneur en eau à la température de 20°C [2].

D'après **Donadieu (1978)**, plus l'indice de réfraction augmente, plus la teneur en eau du miel diminue.

1.6.5. Potentiel d'hydrogène

Sa valeur varie en général entre 3,5 et 5,5 ; elle est due à la présence des acides organiques (**Bogdanov et al., 2004**).

Selon **Schweitzer (2005)**, les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5.

1.7. Propriétés thérapeutique

Les propriétés curatives du miel sont nombreuses, elles peuvent toutes fois varier en importance selon la variété de miel considéré (**Molan, 1999**).

1.7.1. Activité anti-oxydant

L'activité antioxydant peut être pour une part responsable de l'action anti-inflammatoire du miel, car les radicaux libres sont impliqués dans différents aspects de l'inflammation telle que la mobilisation des leucocytes qui entretient l'inflammation. (**Frankel et al., 1998**).

Les antioxydants présents dans le miel sont : oxydases du glucose, catalases, acide ascorbique, flavonoïdes, acides phénoliques, caroténoïdes, acides organiques, acides aminés et protéines. Permettent cette action antioxydant (**Chouia, 2014**).

1.7.2. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires du miel sont bien établies. On observe cliniquement que lors de l'application du miel sur les plaies, il se produit une diminution visible de l'inflammation (**Efem, 1988 ; Efem, 1993 ; Subrahmanyam, 1996 ; Subrahmanyam, 1998**).

Si le miel peut être caractérisé de puissant « antibiotique » naturel, il se présente également comme un anti-inflammatoire majeur tant au lit des plaies qu'au niveau de

nombreuses sphères de l'organisme, digestive et oculaire notamment (**Molan, 2012 ; Yaghoobi, 2013**).

1.7.3. Activité cicatrisante

Le miel est utilisé depuis l'Antiquité comme remède pour accélérer la cicatrisation des plaies, et son potentiel cicatrisant a été largement démontré (**Mandal et al., 2011**). Il réalise une barrière physique et contribue à tenir un milieu humide (**Azzeb, 2014**).

Grâce à son osmolarité élevée le miel va drainer les exsudats à partir des tissus sous-jacents à la manière de l'hydrogel osmotique Hypergel [4].

1.7.4. Activité antibactérienne

Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. La puissante activité in vitro du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatiques du miel. On ne connaît pas encore précisément toutes les composantes antibactériennes du miel et ses vertus curatives constituent partiellement une énigme (**Alexandra, 2011**).

1.7.5. Activité anti-diarrhéiques

A une concentration de 40%, le miel a un effet bactéricide sur différentes bactéries de l'intestin souvent associées à la diarrhée et la dysenterie comme *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli enteropathogène* et *Vibrio cholera*. Une étude a montré que le miel donné avec un liquide de réhydratation aux enfants réduit la durée de la diarrhée bactérienne (**Amri, 2006**).

2. La propolis

2.1. Définition de la propolis

La propolis est une substance résineuse végétale provenant des bourgeons d'arbres dont voici quelques exemples : pin, peuplier. Elle est généralement de couleur brune à rougeâtre, voire noire (**Darrigol, 1979 ; Cousin, 2010**).

Les abeilles tapissent l'intérieur de leur ruche afin de l'imperméabiliser et de la protéger contre le développement des champignons. La propolis a des propriétés antiseptiques

et cicatrisantes. On la retrouve dans de nombreux produits de l'industrie pharmaceutique et cosmétique (Cavelier, 2013).

2.2. Production de la propolis

Les ouvrières butineuses localisent la source de résine et triturent celle-ci avec leurs mandibules, les mélangent à d'autre substance de leurs propre sécrétions afin de fabriquer de la propolis. Une fois fabriquée la propolis transportée à la ruche dans les corbicules situées dans les pattes postérieures de l'abeille (Philippe, 1994).

La propolis est la substance composée par les abeilles pour protéger la ruche, grâce à certains éléments naturels comme les résines végétales sécrétées par les bourgeons et l'écorce de certains arbres, l'abeille va l'utiliser pour boucher les ouvertures, lisser les parois et surtout désinfecter la ruche (Cherbuliez et Domerego, 2003 ; Donadieu, 1993 ; Zahiri et Baudoux, 2008). Elle est utilisée pour une barrière de défense en arrière du trou d'envol pour éviter au maximum l'entrée d'intrus.

Sa production et sa récolte varient en fonction de nombres de facteurs : les conditions géobotaniques, les conditions climatiques, les saisons et les caractéristiques intrinsèques de la colonie (Laurent, 2014).

2.3. Composition chimique

La composition chimique de la propolis est extrêmement complexe. Elle est composée essentiellement de cire, résine et produits volatiles (Tableau 2) (Marcucci, 1995).

Tableau 2 : Principaux composants de la propolis en pourcentage.

Composants	Caractéristiques
Flavonoïdes	Sont des constituants majeurs qui contribuent largement aux activités pharmacologiques de la propolis (Cui-ping <i>et al.</i> , 2014).
Terpénoïdes	Sont des substances volatiles, présentant une odeur résineuse caractéristique. Elles contribuent aux effets pharmacologiques de la propolis et présentent des activités anti-oxydantes, antimicrobiennes et biologiques (Huang <i>et al.</i> , 2014).
Polyphénols	On trouve principalement l'acide caféique, l'acide cinnamique, l'acide et alcool benzoïque et l'acide férulique (El Housseini,

	2013).
Glucides	Sont ceux qui constituent les grains de pollen. Ils ne représentent qu'une infime proportion (Gharbi, 2011).
Hydrocarbures	Sont d'autres composants de base de la propolis, on distingue : les alcanes, les alcènes, les alcadiènes, les monoesters, les diesters, les esters aromatiques, les acides gras et les stéroïdes (Huang et al., 2014).
Éléments minéraux	Il s'agit des éléments traces (Ca, K, Mg, Na, Al, B, Ba, Cr, Fe, Mn, Ni, Sr et Zn) et des éléments toxiques (As, Cd, Hg et Pb) (Cvek et al., 2007).

2.4. Caractéristiques physico-chimiques

La propolis peut être récoltée selon deux techniques diverses :

- Raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse. La propolis alors dure et friable se détache mieux (**Lavie, 1975**).
- Utilisation de différents dispositifs : grille moulée en matière plastique ou en métal (**Evangelist et al., 2001 ; Krell, 1996**).

2.4.1. La consistance

La propolis est une substance naturelle de consistance variable suivant la température :

- À 15°C elle est dure et friable ;
- À 30°C elle est molle et malléable ;
- Entre 30 et 60°C elle devient collante ou gluante, jusqu'à fendre en moyenne vers 60-70°C ou plus (**El Housseini, 2013**).

2.4.2. La solubilité

La propolis d'abeille est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le Chloroforme, le Benzène, le trichloréthylène...etc. Seul un mélange adéquat de différent solvant permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants (**Ferhoum, 2010**).

2.4.3. La densité

La densité de la propolis est de l'ordre de 1,11 à 1,14 (Nicolaÿ, 2014).

2.4.4. Point de fusion

Le point de fusion est variable, il se situe vers 60 à 70°C en moyenne mais peut atteindre 100°C et plus (Krell, 2004).

2.5. Propriété thérapeutique

2.5.1. Propriété antibiotique

La propolis est connue pour son activité antibiotique. De nombreuses études le démontrent. Par exemple, une propolis d'Argentine présente une activité antibiotique avec une CMI 50 de 10 µg/ml sur les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) (Vera *et al.*, 2011).

2.5.2. Activité anti-oxydante

Grâce à la présence d'une quarantaine de flavonoïdes chez certains types de propolis, l'activité anti-oxydante est particulièrement élevée (Mickaël, 2010).

La propolis possède un effet antioxydant (Matsushige *et al.*, 1995 ; Hayashi *et al.*, 1999; Moreno *et al.*, 2000) dû à la présence de benzyl caffeate (Yamauchi *et al.*, 1992), flavonoïdes (Krol *et al.*, 1990) qui ont un énorme pouvoir antioxydant (Lahouel *et al.*, 2004).

2.5.3. Activité anti inflammatoire

Les flavonoïdes jouent un rôle en inhibant la synthèse de monoxyde d'azote, de prostaglandines et cytokines inflammatoires (Laurent, 2014).

2.5.4. Activités anti cancéreuses

La propolis fait l'objet d'études pour le traitement des cellules cancéreuses (Chen *et al.*, 2012), elle a un effet cytotoxique qui permet d'inhiber les cellules tumorales Hela avec une CMI50 de 7.5µg/ml (Ghedira et Goetz, 2009; Banskota, 2002).

2.5.5. Activités cicatrisantes

La propolis serait bénéfique dans les cas de tissus abîmés par exemple au niveau osseux ou dentaire en favorisant la régénération d'après certaines études sur l'animal (Donadieu, 1993).

2.5.6. Activités antibactériennes

De nombreuses études ont démontré l'effet d'inhibition de la propolis sur les souches Gram positive, Gram négative et les bactéries anaérobies. D'après une étude japonaise, la propolis inhiberait la croissance microbienne en bloquant la division cellulaire et en détruisant la paroi bactérienne, et ceci principalement sur les bactéries à Gram positive (**Mickaël, 2010**).

Chapitre II:

*Les microorganismes responsables des
infections nosocomiales*

1. Les infections nosocomiales

1.1. Définition des infections nosocomiales

On appelle infection nosocomiale, toute maladie due à des micro-organismes, contractée à l'hôpital, cliniquement et/ou microbiologiquement reconnaissable. Cette pathologie affecte soit le malade du fait de son admission à l'hôpital ou des soins qu'il a reçus (hospitalisation ou soins ambulatoires), soit le personnel hospitalier, du fait de son activité, que les symptômes de la maladie apparaissent ou non, pendant que l'intéressé se trouve à l'hôpital (**Lomberg *et al.*, 1983**).

1.2. Origines des infections nosocomiales

Il existe plusieurs types d'infections nosocomiales relevant de modes de transmission différents :

- Les infections d'origine "**endogène**" : le malade s'infecte avec ses propres microorganismes, à la faveur d'un acte invasif et/ou en raison d'une fragilité particulière ;
- Les infections d'origine "**exogène**" : les micro-organismes ont pour origine les autres malades (transmission croisée entre malades ou par les mains ou matériels des personnels), les personnels ou la contamination de l'environnement hospitalier (eau, air, équipements, alimentation ...) (**Anonyme, 2010**).

1.3. Mécanismes de transmission

On peut citer quatre mécanismes de transmission :

- L'auto-infection : le patient s'infecte par ses propres germes de sa flore originale ou de sa flore remaniée. Les malades auto-infectés constituent une source importante de germes et sont souvent à l'origine d'hétéro-infection.
- L'hétéro-infection : qui est la conséquence de la contamination d'un malade par les germes d'un autre malade.
- La xéno-infection : est due à l'entrée dans la communauté hospitalière des nouveaux malades, plus rarement de personnel ou des visiteurs porteurs d'une maladie infectieuse.
- L'exo-infection : est liée à des erreurs ou à des insuffisances dans les techniques d'asepsie (**Minor et San sonetti, 1990**).

1.4. Microorganismes responsables des infections nosocomiales

1.4.1. Bactéries

Les bactéries sont les responsables les plus fréquents des infections nosocomiales. Elles peuvent être des bactéries pathogènes comme *Staphylococcus aureus* mais on trouve plus souvent les bactéries opportunistes : des *Entérobactéries*, *Staphylococcus epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Entérocoques*.

Ces bactéries sont surtout remarquables dans les infections nosocomiales par ce que sont très souvent résistantes aux antibiotiques, les mécanismes de cette antibiorésistance sont très nombreux, liés à la pression de sélection qui existe en milieu hospitalier (**Bouazize et Ramdane, 2006**).

1.4.1.1. Les entérobactéries

Les entérobactéries constituent une famille hétérogène de bactéries Gram négatif qui est fréquemment impliquée dans les infections humaines. Elle se compose d'environ trente genres de bactéries et de plus de cent espèces, mobiles par ciliature péritriche ou immobiles.

Une de leurs caractéristiques est de réduire les nitrates en nitrites, et d'acidifier le glucose par voie fermentative avec souvent la production de gaz (**Avril et al., 2000**).

Les germes de cette famille sont en majorité pathogènes du tube digestif humain et d'autres sont des colonisateurs normaux de ce tube digestif (*E. coli*, *Enterobacter spp*, *Klebsiella spp*), bien qu'ils soient également présents dans l'environnement (**Farmer et al., 2007**).

a. *Escherichia coli*

C'est un bacille à Gram négatif, assez grand, aéro-anaérobie facultatif, oxydase négatif (**Farmer et al., 2007**). Chez l'homme, la colonisation par *E. coli* est précoce, et peut être responsable d'un nombre varié de pathologie telque les infections digestives (**Jaureguy, 2009**).

b. *Klebsiella pneumoniae*

Klebsiella pneumoniae est une bacille immobile, aéro-anaérobie, à Gram négatif, de 0,3 à 1,0 µm de diamètre sur 0,6 à 6 µm de longueur (**Abbott, 2007**), se présentant de manière isolée, ou groupés par deux ou en courtes chaînes ayant une oxydase négative (**Janda et Abbott, 2006**). C'est une espèce ubiquitaire, et fréquemment isolée de l'environnement (eaux

usées, sol,...etc) et de la flore commensale du tube digestif et des voies respiratoires supérieures (Avril *et al.*, 2000 ; Bagley *et al.*, 1978).

Klebsiella pneumoniae est un germe opportuniste, responsable d'infections diverses : infections urinaires, respiratoires, biliaires qui peuvent être à l'origine de bactériémie et surtout de septicémie de pronostic sévère, principalement chez les malades immunodéprimés, cancéreux, brûlés (Sahly *et al.*, 2004 ; Stone *et al.*, 2003). Il est responsable de plus de 10% des infections nosocomiales (Chung *et al.*, 1992 ; Podschun et Ullmann, 1998).

c. *Proteus mirabilis*

Les bactéries appartenant à l'espèce *Proteus mirabilis* ont une morphologie des petits bacilles à Gram négatif en forme de bâtonnet, généralement très mobiles, polymorphes, mesurant de 0,4 à 0,8 µm de diamètre sur 1,0 µm à 80 µm de longueur (Belas, 1996).

Environ un quart de la population humaine sont porteurs intestinaux de *Proteus* et les patients peuvent être infectés par leurs propres flore (autoinfection). Elles sont les hôtes habituels de tube digestif de l'homme et des animaux. Ces infections peuvent également être contactées par la transmission des bactéries provenant d'autres patients ou à partir d'un réservoir commun. *Proteus mirabilis* est le deuxième germe responsable d'infection urinaire chez les patients non hospitalisés, après *E. coli* (Holt *et al.*, 1986).

d. *Salmonella*

Les Salmonelles sont des bacilles à Gram négatif appartenant à la famille des entérobactéries, dépourvues d'oxydase (Gledel, 1978). Ne fermente pas le lactose et de ne pas produire de l'uréase. Elles sont responsables, après pénétration par voie orale, de nombreuses infections (salmonelloses), notamment des fièvres typhoïde et paratyphoïdes, des gastro-entérites et des toxi-infections alimentaires collectives (Anonyme, 2003).

e. *Shigella*

Les Shigelles sont des entérobactéries immobiles extrêmement proches d'*Escherichia coli* mais qui ne fermentent pas le lactose. Elles n'ont pas d'uréase et ne produisent pas de gaz (Anonyme, 2003).

Les Shigelles provoquent des ulcérations de la muqueuse intestinale et une réaction inflammatoire (Dufour, 2005). Ce sont des bactéries strictement humaines. Elles ne font pas partie de la flore intestinale normale. On ne les retrouve que chez les malades (Carbonnelle *et al.*, 1987).

f. *Serratia*

Serratia est une bactérie ubiquitaire qui se trouve dans la nature, dans l'environnement hospitalier (sols, air, eau ou siphons des éviers) et le matériel médical (matériel d'aérosols, appareillage d'endoscopie) (Avril, 1992 ; Mahlen, 2011 ; Tanaka *et al.*, 2004).

Cette bactérie est considérée comme pathogène opportuniste, elle touche le personnel, hospitalier ou les patients au niveau de certaines muqueuses telles que le nez, la gorge et le tube digestif (Byrne *et al.*, 2001; Christensen *et al.*, 1982).

1.4.1.2. *Staphylococcus*

Les bactéries du genre *Staphylococcus* sont des coques (Cocci) à Gram positif, groupés en amas ayant la forme de grappes de raisin, immobiles, non sporulés, catalase positive et oxydase négative. *S. aureus* est un commensal de la peau et des muqueuses de l'homme et des animaux cette bactérie peut survivre longtemps dans l'environnement. La fréquence et la gravité des infections à staphylocoques sont liées à trois principaux facteurs :

- Le caractère ubiquitaire du germe.
- L'abaissement des défenses locales et générales des malades soumis à des soins intensifs, des interventions chirurgicales graves, etc.
- La fréquente résistance aux antibiotiques du staphylocoque, notamment du staphylocoque hospitalier (Anonyme, 2003).

1.4.1.3. *Les pseudomonadaceae*

Ce genre apparaît comme des bacilles Gram négatif à extrémités assez effilées, aérobies stricts, oxydase positive, non fermentaires, mobiles par une ciliature polaire, respirant ou non les nitrates, oxydant ou non le glucose (Carbonelle *et al.*, 1999).

P. aeruginosa est un germe saprophyte de l'environnement, fréquemment rencontré dans les infections nosocomiales (Lepape, 2003). Elle atteint essentiellement les sujets débilisés : cancéreux, brûlés, insuffisants respiratoires (Carbonelle *et al.*, 1999). En milieu hospitalier, la principale source de contamination est le réseau de distribution d'eau et la nourriture (Remington et Schimpff, 1981).

1.4.2. Virus

- Respiratoires ; Ex H1N1

- Entériques ; Ex hépatite A
- Sanguins ; Ex HIV

1.4.3. Champignons microscopiques

- *Aspergillus* ; Ex *Aspergillus fumigatus* (Drancourt, 2013).

2. Résistance bactérienne aux antibiotiques de certaines bactéries d'importance clinique

La résistance bactérienne se définit comme la capacité de continuer à croître ou à survivre en présence de l'antibiotique. Les conditions d'activité d'un antibiotique sont de posséder une cible spécifique, de demeurer sous forme active, d'accéder à la cible et d'interagir efficacement avec elle en la désactivant (Diallo, 2013).

Il existe de nombreux mécanismes aboutissant à l'expression de la résistance et suivant son caractère inné ou acquis : la résistance naturelle et la résistance acquise. La résistance naturelle est programmée sur le génome et constante à l'intérieur du taxon ; elle constitue un critère d'identification stable d'une espèce. Les résistances acquises sont quant à elles consécutives à des modifications de l'équipement génétique (Diallo, 2013).

2.1. Les entérobactéries

La résistance aux antibiotiques des entérobactéries est variable selon les espèces et leurs origines, elle est préoccupante pour les souches responsables d'infection nosocomiale, telle que *Klebsiella pneumoniae* et *Serratia marcescens*. Elle atteint aussi des espèces jusque-là sensibles comme *Escherichia coli* ou *Proteus mirabilis*. Chaque espèce mériterait une analyse individualisée de ses modes de résistance (Bouskraoui *et al.*, 2017).

Les entérobactéries sont soit naturellement sensibles aux β -lactamines (exemple: *E. coli*), soit elles sont naturellement résistantes (exemple : *Klebsiella sp* sont toujours résistantes à l'ampicilline), soit elles ont une résistance acquise (Vora et Auckenthaler, 2009).

2.1.1. Résistance naturelle

Ces bactéries présentent une résistance naturelle à certains groupes d'antibiotique, variable selon les espèces (Bouskraoui *et al.*, 2017)

La résistance naturelle ou intrinsèque à un antibiotique est commune à toutes les bactéries d'une même espèce. Elle est due à la présence de gènes chromosomiques communs à toutes les bactéries d'une même espèce et transmise à la descendance. La résistance

naturelle détermine les phénotypes sauvages des espèces bactériennes vis à vis les antibiotiques (Mayer *et al.*, 2000).

Chez les entérobactéries, la plupart des espèces produisent naturellement des β -lactamases chromosomiques soit de classe A (*Klebsiella spp...*), soit de classe C (*E. coli*, *Serratia marcescens...*), voire les deux types d'enzymes (*Yersinia enterocolitica*) (Livermore, 1995). L'expression phénotypique de ces enzymes peut-être constitutive ou inductible par les β -lactamines elles-mêmes.

On constate un phénotype de résistance de pénicillinase de bas niveau inclut les espèces possédant une pénicillinase chromosomique constitutive (Zogheib et Dupont, 2005), exprimée à bas niveau chez *K. pneumoniae*, *K. oxytoca...* qui est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et aux carboxypénicillines.

Les espèces *E. coli* et *Shigella* possèdent un gène ampC codant pour une céphalosporinase de la classe C d'Ambler donc résistante aux inhibiteurs. Elle est exprimée de manière constitutive à très bas niveau, avec une sensibilité à toutes les β -lactamines testées ou une sensibilité intermédiaire aux céphalosporines de première génération et/ou aux aminopénicillines avec et sans inhibiteurs.

Des espèces d'entérobactéries, comme par exemple *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri* possèdent une céfuroximase inductible. D'autres comme *Serratia marcescens* possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de première génération et à l'action de l'acide clavulanique (Robin *et al.*, 2012).

2.1.2. Résistance acquise

Trois grands mécanismes rendent compte de la résistance acquise des entérobactéries aux antibiotiques :

- Diminution de la quantité d'antibiotique atteignant la cible par diminution de la perméabilité de la paroi a été rapportée chez *E. coli*, *Proteus*, *Salmonella*, *Klebsiella* et *Serratia* suite à une altération quantitative ou qualitative des porines ou par apparition de système d'efflux.
- Résistance par modification de la cible de l'antibiotique.
- Résistance par inactivation enzymatique de l'antibiotique (Bouskraoui *et al.*, 2017).

Cette résistance acquise peut provenir par une mutation chromosomique (plutôt rare) (**Chopra et al., 2003**) ou par l'acquisition d'ADN étranger par le biais de plasmides (plutôt fréquent), de bactériophages ou de transposons (**Davies, 1997**). On parle de transfert horizontal de gènes de résistance et les mécanismes utilisés sont la conjugaison, la transduction et la transformation.

Les plasmides et les transposons déterminent la résistance aux antibiotiques de nombreuses β -lactamases. Une β -lactamase spécifique à une bactérie peut apparaître chez d'autres espèces par la suite, au vu de ces mécanismes de transfert relativement facile de matériel génétique (**Bradford, 2001**).

2.2. *Pseudomonas aeruginosa*

2.2.1. Résistance naturelle

Résiste naturellement à plusieurs classes d'antibiotique : Aminopénicilline, céphalosporine 1^{ère} et 2^{ème} génération, céfotaxime, ceftriaxone, Ertapénème, Kanamycine, Tétracycline, Chloramphénicol et triméthoprime.

2.2.2. Résistance acquise

Fait appel à plusieurs mécanismes :

- Hyper-expression de la céphalosporinase naturelle
- Acquisition d'enzyme plasmidique (pénicillinase)
- Modification de la cible
- Modification de la perméabilité membranaire et efflux (**Bouskraoui et al., 2017**).

2.3. *Staphylococcus aureus*

S. aureus est naturellement résistant à l'acide nalidixique. La résistance acquise aux fluoroquinolones se fait principalement par modification de la cible. C'est une résistance croisée à l'ensemble des fluoroquinolones, souvent associée à la méticilline résistance. Résistance aux aminosides : *S. aureus* est naturellement sensible aux aminosides. La résistance acquise est principalement enzymatique. La résistance à la gentamicine implique la résistance à tous les aminosides (**Bouskraoui et al., 2017**).

3. L'effet du miel et de la propolis sur certaines bactéries d'importance clinique

3.1. L'activité antibactérienne du miel

L'activité antibactérienne du miel a été signalée pour la première fois en **1892** par **Van Ketel**. Depuis, plusieurs études ont été menées afin d'expliquer les facteurs impliqués dans cette activité. Le miel semble avoir un effet bactéricide sur nombre de bactéries Gram positive et Gram négative (**Molan, 1992**).

Il est actuellement reconnu que le caractère inhibiteur du miel est lié à ses propriétés physico-chimiques, ainsi qu'à la présence de plusieurs autres composants antimicrobiens appelés inhibines (**Yue Yew, 2015**).

3.1.1. L'osmolarité

Le miel possède une osmolarité élevée liée à sa forte concentration en sucres et sa faible teneur en eau. La forte interaction entre les molécules de sucre et d'eau laisse donc peu d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes (**Olaitan et al., 2007 ; Molan, 1992**).

La forte teneur en sucre offre au miel un effet osmotique qui permettra la déshydratation des bactéries et ainsi supprimera un élément capital au développement et à l'activité des bactéries (**Cuvillier, 2015**).

La quantité d'eau libre disponible dans un milieu est mesurée en « water activity (aw) », elle est comprise entre 0,562 et 0,62 pour le miel (**Olaitan et al., 2007 ; Molan, 1992**).

De nombreuses espèces bactériennes ont leur croissance complètement inhibée pour une activité hydrique comprise entre 0,94 et 0,99. Cela signifie que ces espèces ne pourraient pas se développer au sein d'un miel non dilué [3].

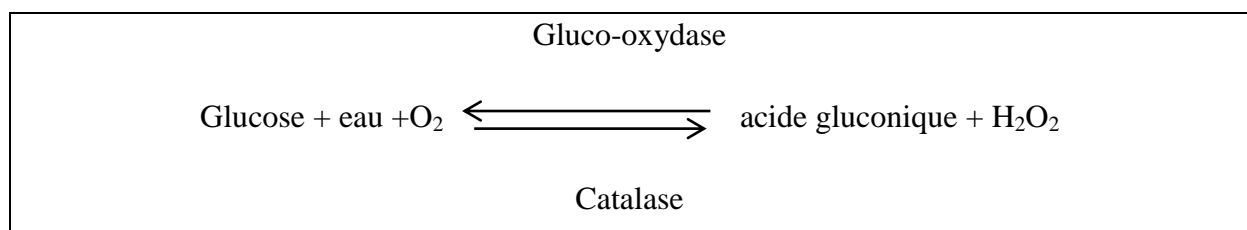
3.1.2. Le pH acide

Le pH du miel varie de 3,9 à 6,0 en moyenne (**Laurent, 2014**). Ce pH semble être efficace pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes (**Assie, 2004**).

3.1.3. Le peroxyde d'hydrogène

L'eau oxygénée, aussi appelée peroxyde d'hydrogène (H₂O₂), est considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel (**Bogdanov et Blumer, 2001**). Produit de l'oxydation du glucose, il est lui-même un oxydant, ce qui lui confère une activité antiseptique (**Laurent, 2014**).

Il résulte de la réaction enzymatique entre le glucose et le glucose oxydase, en présence d'eau et d'oxygène (**Kwakman, 2012 ; Mandal, 2011 ; Molan, 1992 ; Olaitan, 2007**).



3.2. L'effet antibactérien de la propolis

La propolis possède un spectre bactérien large, cette activité est due à de nombreuses molécules : l'acide cinnamique, ses constituants aromatiques et phénoliques...etc.

Il semblerait les molécules citées dégradent la paroi des bactéries cibles, notamment les *Staphylococcus aureus* et *S.aureus* résistante a la métacilline (SARM), certains *Streptococcus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris* et *Salmonella enterica* (**Laurent, 2014**). Certain étude ont montré que des souches résistantes, voire multi résistantes aux antibiotique étaient sensibles à la propolis (**El Housseini, 2013**).

La propolis stimule la prolifération de l'épithélium et donc la régénération de la plaie, limite la formation de pus et soulage la peau exposée au soleil grâce à son action anti-inflammatoire. Elle possède aussi des propriétés bactéricides, bactériostatiques, antivirales et antifongiques et notamment sur *P. aeruginosa* qui est un germe résistant aux antibiotiques classiques.

L'instillation de propolis par voie locale peut aider à soigner une urétérite et peut, par voie orale, améliorer les symptômes de la pyélonéphrite chronique (inflammation d'origine

bactérienne au niveau du rein), ceci grâce à ses effets antiinflammatoire local et bactéricide contre *Escherichia coli* et *Proteus* (Mickael, 2010).



Deuxième partie

Étude expérimentale

Chapitre III:
Matériels et méthodes

Les bactéries multi résistantes (BMR) sont un véritable problème de santé publique et elles peuvent être introduites en milieu hospitalier de deux façons. Elles peuvent émerger par voie endogène de la flore d'un patient qui a reçu plusieurs antibiothérapies. Ou bien, elles peuvent entrer via l'arrivée de nouveaux résidents déjà colonisés ou infectés.

1. Objectifs

1.1. Objectif principal

L'objectif principal de ce travail est de déterminer l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur des bactéries responsables dans les infections nosocomiales.

1.2. Objectifs secondaire

- Détermination des caractéristiques physicochimique, du miel et de la propolis ;
- Isolement et identification des bactéries responsables des infections nosocomiales ;
- L'étude de la résistance aux antibiotiques des bactéries identifiées ;
- L'étude de l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur les bactéries identifiées.

2. Matériel

2.1. Le miel et la propolis

2.1.1. Collecte des échantillons

L'échantillon du miel a été récolté par un apiculteur de la région de Guelma en Juillet 2016, tandis que l'échantillon de la propolis a été récolté en mars 2018. Les deux échantillons sont conservés dans des récipients en verre hermétiquement fermés à température ambiante (Figure 1).



Figure 1 : Échantillons du miel et de la Propolis (prise personnel, 2018).

2.1.2. Préparation des concentrations du miel

Pour tester l'effet antibactérien du miel sur notre souche, quatre concentrations ont été préparées : **25%**, **50%**, **75%** et **100%**. La préparation de ces concentrations est présentée dans le Tableau 3 et la Figure 2 (Nair, 2014).

Tableau 3 : Préparation des concentrations du miel.

	25%	50%	75%	100%
Le miel (g)	2,5	5	7,5	10
L'eau distillée stérile (ml)	5	5	5	5



Figure 2 : Concentrations du miel (prise personnel, 2018).

2.1.3. Préparation de l'extrait éthanolique de la propolis

L'extraction des substances bioactives de la propolis est réalisée par macération de la propolis dans l'éthanol à **25%**, **50%**, **75%** et **95%** (Tableau 4 et Figure 3).

- La propolis est additionnée de dix volumes de solvant de son poids (10V/1P) (ainsi 5 ml de solvant sont ajoutés à 0,5 g de propolis).
- Le mélange est laissé pour macération pendant une semaine avec agitation de temps en temps.
- Après macération le mélange est chauffé au bain-marie à 70°C pendant 30 minutes puis filtré par une passoire.
- L'extrait obtenu est appelé extrait éthanolique de propolis (EEP) (Figure 3).
- L'EEP est conservé au réfrigérateur à 4°C (Rebai et Saidi Sief, 2017).

Tableau 4 : Préparation des concentrations de la propolis.

	25%	50%	75%	95%
Éthanol	5 ml d'éthanol à 25%	5 ml d'éthanol à 50%	5 ml d'éthanol à 75%	5 ml d'éthanol à 95%
Propolis (g)	0.5	0.5	0.5	0.5

**Figure 3** : Extrait éthanolique de la propolis (prise personnel, 2018).

2.2. Préparation des disques

Les antibiotiques habituellement testés existent sous forme de disques de 6 mm de diamètre. Pour reproduire les mêmes conditions, nous avons utilisé le papier Wattman n°3, coupé en disques de 6 mm de diamètre (Figure 4). Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer (Segueni, 2011). Ensuite, les disques sont stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 15 minutes (Zeghad, 2009).

**Figure 4** : Disque de papier Watman n°3 (prise personnel, 2018).

2.3. Les souches bactériennes

2.3.1. Prélèvement des bactéries

Les souches bactériennes utilisées dans cette étude ont été isolées et identifiées au niveau du laboratoire de bactériologie de l'hôpital d'Oued Zenati «Elamir Abdelkader » (wilaya de Guelma).

2.3.2. Isolement et purification

➤ Les milieux utilisés sont les suivants :

- Gélose Chapman ;
- Gélose nutritive ;
- Gélose Muller Hinton ;
- Gélose Citrémidé ;
- Gélose Hektoen ;
- Gélose *Salmonella Shigella* (SS).

2.3.3. Identification

➤ Observation macroscopique

➤ Observation microscopique :

- A l'état frais ;
- Après coloration de gramme (**Annexe 3**).

➤ Étude des caractères biochimiques :

- Enzymes : Oxydase et catalase ;
- Api20E ;
- Api20NE ;
- Api20 Staph.

3. Méthodes

Ce travail a été effectué au niveau du laboratoire de microbiologie de la faculté des sciences de la nature et de la vie (Université 8 Mai 1945 Guelma) et au niveau du laboratoire de microbiologie de l'hôpital de Oued Zenati, durant une période de trois mois.

3.1. Analyses physico-chimiques

Cette étude correspond à une analyse de quelques paramètres physico-chimiques du miel et de la propolis :

- Pour le miel : il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH et de l'acidité libre, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols.
- Pour la propolis : il s'agit du teneur de pertes pendant le séchage, du pH, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols.

3.1.1. Analyses physico-chimiques du miel

3.1.1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

La teneur en eau est déterminée par la mesure de l'indice de réfraction à 20°C à l'aide d'un réfractomètre (Figure 5) (Belhaj *et al.*, 2015).

Le réfractomètre est réglé à 20°C, il est étalonné avec de l'eau distillée. L'échantillon du miel est mis dans un flacon fermé placé au bain marie à 50°C jusqu'à ce que les cristaux de sucre soient dissouts (Rebai et Saidi sief, 2017).

Après refroidissement à une température ambiante, une goutte de miel est déposée et étalée en couche mince sur la platine du prisme. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre la zone claire et la zone obscure.

L'indice est affiché après 2 minutes et les résultats obtenus sont portés sur la table de Chataway (Annexe 1) qui indique la teneur en eau correspondante (Rebai et Saidi Sief, 2017).



Figure 5 : Le réfractomètre utilisé de type Bellingham et Stanley (prise personnel, 2018).

3.1.1.2. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique est un paramètre qui montre une grande variabilité liée à l'origine florale, il est considéré comme l'un des meilleurs paramètres pour la différenciation entre les miels de différentes origines florales (**Terrab *et al.*, 2004**).

La mesure s'effectue en utilisant un conductimètre (Figure 6) et elle est exprimée en $\text{mS}\cdot\text{cm}^{-1}$ (**Doukani *et al.*, 2014**).

Dix grammes de miel sont dissouts dans un 50 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la solution est placée au bain marie à 20°C. Pour déterminer la conductivité électrique, l'électrode du conductimètre est plongée dans la solution (lorsque la température est à $20^{\circ}\text{C} \pm 0,5^{\circ}\text{C}$) (**Rebai et Saidi *sief*, 2017**).



Figure 6 : Multi paramètres de type WTW Multi 350i (**prise personnel, 2018**).

3.1.1.3. Détermination du pH

C'est de plus l'un des facteurs qui va contribuer à renforcer ou à ralentir la dégradation naturelle du miel. Cette mesure se fait à l'aide d'un PH mètre (Figure 7) (**Benameur, 2014**).

Dans un petit bécher, 10g du miel sont délayés dans 75 ml d'eau distillée. L'électrode propre et sèche est plongée dans la solution du miel à analyser sous agitation magnétique. La valeur du pH est ensuite affichée sur l'écran (**Rebai et Saidi *sief*, 2017**).

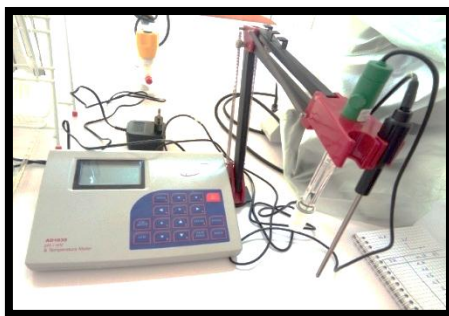


Figure 7 : pH mètre de type AD1030 (prise personnel, 2018).

3.1.1.4. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre est obtenue en titrant la solution du miel par une solution de soude N/20 et en déterminant graphiquement le pH du point équivalent E sur la courbe de neutralisation du miel (**Rajoelina, 2008**).

Un échantillon de 5 g du miel est dilué dans 50 ml d'eau distillée. 25 ml de cette solution est titrée avec de l'hydroxyde de sodium (NaOH) à 0,05 N. Le pH sera noté après chaque addition de soude qui au début est de 0,2 ml puis de 0,1 ml dès que les variations de pH deviendront plus importantes. Le point équivalent E est déterminé à partir d'une courbe de neutralisation figurée en (**Annexe 2**), où le pH est sur l'axe des ordonnées et les volumes de NaOH sur l'axe des abscisses (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

L'acidité libre est déterminée à partir la formule suivante :

$$\text{Acidité libre (meq/kg)} = (1000.V.N)/M$$

V : volume en millilitres d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le pH du point équivalent E lors de la neutralisation du miel.

N : normalité de NaOH.

M : prise d'essais en grammes (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

3.1.1.5. Détermination de la teneur en cendres

Les cendres représentent le résidu minéral du miel après incinération. La détermination des cendres offre la possibilité de connaître la teneur en matière minérale globale du miel (Silva *et al.*, 2009). Ces mesures ont été exprimées en pourcentage (Doukani *et al.*, 2014).

Les capsules d'incinération vides étant pesées, 5 g du miel sont ajoutés et les capsules sont soumises à la température de 600°C dans un four à moufles pendant 3 heures (Figure 8).

Après incinération, les capsules contenant les cendres refroidies sont mises dans un dessiccateur puis pesées (Rebai et Saidi *sief*, 2017).

La teneur des cendres brutes est obtenue à partir de la formule :

$$C\% = [(m_1 - m_2)/m_0].100$$

C% : teneur en cendres brutes.

m₀ : masse en grammes de la capsule d'incinération vide.

m₁ : masse en grammes de la capsule d'incinération munie de l'échantillon avant incinération.

m₂ : masse en grammes de la capsule d'incinération munie de cendres après incinération.

La matière sèche est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - C\%$$



Figure 8 : Four a moufle de type NABERTHARM (prise personnel, 2018).

3.1.1.6. Détermination de la teneur en polyphénols

Deux grammes de miel sont pesés dans un verre de montre et introduits dans une étuve à une température inférieure à 50°C pour liquéfier le miel. Cette prise d'essais du miel est mélangée avec 6 gouttes de sulfate de fer (9g/100ml). La formation d'un précipité violet/noir indique la présence de polyphénols.

3.1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis

3.1.2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage

Le taux de pertes pendant le séchage, c'est-à-dire l'eau et les matières volatiles est déterminé sur une partie aliquote de 1 g d'échantillon coupé en petits morceaux dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve réglée à une température de 103°C ± 2°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (**Ferhoum, 2010**).

Les capsules vides sont séchées à l'étuve durant 15 minutes à 103 ± 2°C, après refroidissement, elles sont mises dans le dessiccateur puis sont pesées.

Un gramme d'échantillon préalablement coupé en petit morceaux est pesé dans les capsules et placé dans l'étuve réglée à 103 ± 2°C pendant 3 heures. Les capsules sont retirées de l'étuve, refroidies puis placées dans le dessiccateur et sont pesées. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 minutes) (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

La teneur en eau est déterminée selon la formule :

$$H\% = [(m_1 - m_2).100]/P$$

H% : humidité + matière volatiles.

m₁ : masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g.

m₂ : masse de l'ensemble après séchage en g.

P : masse de la prise d'essai en g.

La matière sèche est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - H\%$$

3.1.2.2. Détermination du pH

Il s'agit de la détermination en unités de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de la propolis découpée en petits morceaux (**Ferhoum, 2010**).

Une prise d'essais de la propolis coupée en petits morceaux est mélangée dans un bécher avec trois fois son volume d'eau distillée. Après un chauffage au bain-marie pendant 30 minutes et en remuant de temps en temps avec une baguette de verre. Le mélange obtenu est filtré. Pour la détermination du pH l'électrode soit complètement immergée dans la solution (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

3.1.2.3. Détermination de la teneur en cendres

La propolis brute est coupée en petits morceaux puis calcinée à 550°C dans un four à moufles jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant (**Ferhoum, 2010**).

Deux grammes de propolis coupée en petits morceaux dans les capsules en porcelaine sont placés dans un four à moufle réglé à 550 ± 15°C pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. Les capsules sont ensuite retirées du four et refroidies, placées dans un dessiccateur, puis pesées (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

La proportion de cendres brutes est obtenue à partir de la formule :

$$\text{MO}\% = [(m_1 - m_2).100]/P$$

MO% : matière organique.

m₁ : masse de capsules + prise d'essais.

m₂ : masse des capsules + cendres.

P : masse de la prise d'essais.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO}\%$$

3.1.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols

Pour déterminer le pourcentage des polyphénols, des solutions d'alcool éthylique et d'acétate de plomb à 10% sont rajoutés à une quantité d'extrait éthanolique de propolis précédemment pesée. Ensuite, le mélange est filtré sur un papier filtre déjà pesé et maintenu à température constante à 50°C et ensuite pesé (**Tagliacollo et al., 2011**).

Deux et demi millilitres d'extrait éthanolique de la propolis (0,5 g de propolis dans 5 ml d'éthanol) sont pesés (P₁), ils sont ensuite mélangés avec 7 ml d'alcool éthylique et 0,5 ml acétate de plomb à 10%.

Après ce temps, le mélange est filtré à travers un filtre précédemment pesé (P₂) et maintenu à température ambiante pendant 12 heures. Le papier filtre est ensuite placé dans un four à température constante à 50 °C pendant une heure et pesé à nouveau (P₃) (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

Le pourcentage de composés phénoliques a été déterminé en utilisant l'équation suivante:

$$\text{Polyphénols (\%)} = [(P_3 - P_1).100]/P_2$$

P₁ : masse de l'extrait éthanoïque de la propolis en g.

P₂ : masse de papier filtre avant filtration.

P₃ : masse de papier filtre après filtration et séchage

3.2. Analyse microbiologique

3.2.1. Étude de la sensibilité aux Antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques (Antibiogramme) a été réalisée par la méthode classique de diffusion des disques d'antibiotiques en milieu Mueller-Hinton selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société Française de Microbiologie (CA-SFM, 2013).

3.2.1.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement approprié, racler à l'aide d'une pipette pasteur quelques colonies bien isolées et parfaitement identique.
- Mettre les colonies isolées dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0.5 Mc Ferland (Meziani, 2012).

3.2.1.2. Ensemencement de la gélose de l'antibiogramme

La gélose utilisée est la gélose Muller Hinton (MH), son ensemencement a été effectué dans les 15 minutes qui ont suivi la préparation de l'inoculum selon les étapes suivantes :

- Couler la gélose MH en boîtes de pétri, laisser sécher et solidifier avant utilisation ;
- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum préparé ;
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de le décharger au maximum ;
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la gélose de haut en bas, en stries serrées ;
- Répéter l'opération 2 fois en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même ;
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon par la périphérie de la gélose (Courvalin et Leclreq, 2012 ; Meziani, 2012).

3.2.1.3. Application des disques d'antibiotiques

- Les disques sont déposés sur la gélose à l'aide d'une pince flambée, en appuyant doucement sur chaque disque pour assurer un contact uniforme avec le milieu.
- Les boîtes sont ensuite laissées à la température ambiante pendant 30 minutes sur la paillasse pour permettre la diffusion de l'antibiotique dans la gélose (**Courvalin et Leclreq, 2012 ; Meziani, 2012**).
- L'incubation s'est faite à l'étuve à 37C° pendant 18 à 24 heures (**Courvalin et Leclreq, 2012 ; Meziani, 2012**).

Les antibiotiques qui ont été testés pour chaque souche bactérienne étudiée sont représentés dans le Tableau 5.

Tableau 5 : Antibiotiques utilisés pour l'évaluation de l'antibiorésistance (**CA-SFM, 2013**).

Antibiotique	Code	Charge du disque
Penicilline G	P	30µg
Amikacin	AK	30µg
Cephalotine	CEP	30µg
Vancomycine	VA	30µg
Chloramphenicole	C	30µg
Cefazoline	CZ	30µg
Gentamycine	HLG	30µg
Ampicilline	AMP	10µg
Erythromycine	E	15µg
Amoxiciline	AM	25µg
kanamycine	K	30µg
Acide-fusidique	FA	10µg
Oxacilline	OX	1µg
cefoxitine	CX	30µg
colistine	CL	25µg
Streptomycine	S	10µg
Tetracycline	TE	30µg
Fosfomycine	FO	200µg

3.2.1.4. Lecture interprétative

Les diamètres d'inhibition autour des disques sont mesurés puis ils sont comparés aux diamètres critiques conformément aux normes CASFM (Comité de l'Antibiogramme de la société française de Microbiologie) (**Annexe 4**).

Il convient de noter toutefois, qu'une souche dont la sensibilité aux antibiotiques est ainsi évaluée peut être déclarée sensible, intermédiaire ou résistante (**Courvalin et Leclercq, 2012 ; Meziani, 2012**)

3.2.2. La recherche de l'effet antimicrobien du miel et de la propolis

3.2.2.1. Réalisation de l'aromatogramme

L'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel et de la propolis est réalisée par la technique de diffusion en gélose ou méthode des aromatogrammes.

Celle-ci repose sur le pouvoir migratoire de ces deux produits naturels à l'intérieur d'une boîte de Pétri dans un milieu nutritif solide (Figure 9) (**Nair, 2014**).

- Les géloses sont séchées à une température ambiante pour éliminer le surplus d'eau ;
- Puis les disques pré-imprégnés par 100 μ l de concentrations du miel (25%, 50%, 75% et 100%) ;
- Et celles de la propolis (**25%, 50%, 75% et 95%**) sont déposées à la surface du milieu en appuyant légèrement avec l'anse de platine stérile ;
- Ensuite, les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures ;
- Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

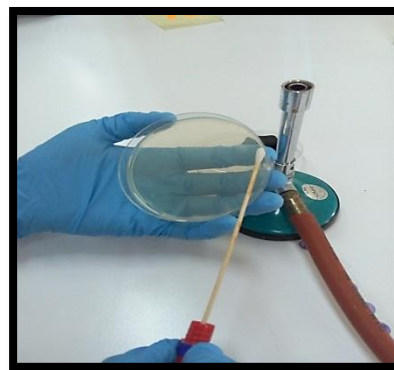


Figure 9 : Ensemencement sur milieu Muller Hinton (**prise personnelle, 2018**).



Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques du miel

1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

La teneur en eau est un facteur hautement important car il permet l'estimation du degré de maturité des miels et peut renseigner sur stabilité contre la fermentation et la cristallisation au cours de stockage (**kuçuk et al., 2007**).

Après avoir converti le résultat d'indice de réfraction de l'échantillon du miel on a obtenu la valeur de la teneur en eau **19,4%** à **20°C** et correspond à un indice de réfraction qui est **1,4880**. Cette valeur se situe dans l'intervalle préconisé par le « **Codex Alimentarius, 2001** » qui ne dépasse pas **21%** pour les miels en général.

L'étude effectuée par **Amrouche et Kessi (2003)** sur les miels algériens a révélé des valeurs comprises entre **15,0** et **22,6%**. En comparant avec des valeurs obtenues sur des miels marocains qui sont compris entre **18,5** et **21,0%** pour la variété de multifleurs, avec une valeur moyenne de **19,7%** (**Belhaj et al., 2015**).

Ces résultats sont révélateurs d'un bon stockage des miels étudiés. **Chibane et Djillali (2007)**, en analysant des miels d'origines diverses ont trouvé des valeurs variant entre **13** à **19,2%** avec une moyenne de **17%**.

Cependant, un miel dont la teneur en eau est inférieure à **15 %** n'est pas assez coulant. La consistance optimale du miel est obtenue avec une teneur en eau entre **15** et **17 %** (**Bogdanov et al., 2004**).

La variation de la teneur en eau est due aux différentes conditions environnementales telles que le climat, l'origine florale des échantillons du miel, à la teneur en eau des nectars (**Nandaa et al., 2003; Bogdanov et al., 2004**) en plus les techniques de traitement et les conditions de stockage (**Ozcan et al., 2006**).

1.2. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique est un bon critère de l'origine botanique du miel et par conséquent, il est très souvent utilisé dans le contrôle de routine du miel (**Mazrou, 2008**).

En général, les miels de nectar présentent des valeurs inférieures à **0,8 ms/cm**. Des valeurs plus élevées sont généralement associées aux miels de miellat ou aux mélanges de

nectar et de miellat (**Mekiou et al., 2015**). Cependant, la conductivité électrique seule ne suffit pas à une appellation florale (**Amri, 2006**).

La valeur de la conductivité de notre échantillon est de **0,48 ms/cm**, cette valeur correspond à celle rapportée par le **Codex Alimentarius** qui préconise des valeurs inférieures à **0,8 ms/cm** pour les miels de nectar et supérieures à **0,8 ms/cm** pour les miels de miellat.

D'après les études effectuées par **Achour et al., (2014)** et **Doukani et al., (2014)**, la conductivité électrique des miels algériens répondent aussi aux normes: **0,240 à 0,560 ms/cm** pour le premier et **0,267 et 0,729 ms/cm** pour le second ces résultats sont différés à des miels marocains étudiés qui sont présentes des conductivités électriques variant entre **0,196 et 0,413 ms/cm** (**Belhaj et al., 2015**).

Ce paramètre dépend de la matière minérale, les acides organiques, les protéines, la composition en sucre et en fonction de l'origine botanique (**Terrab et al., 2003**).

1.3. Détermination du pH

Le pH ou le potentiel d'hydrogène est la mesure du coefficient caractérisant l'acidité d'un milieu, il représente la concentration des ions H^+ d'une solution (**Nair, 2014**).

La valeur moyenne du pH de notre échantillon de miel est de **4,26** donc notre miel est acide et répond aux normes du **Codex Alimentarius (2001)**.

Les miels de nectar ont un pH faible (de **3,3 à 4,5**) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (**Pesenti et al., 2008**).

Cette valeur est dans l'intervalle des résultats obtenu par **Meda et al., (2005)** à savoir **3,5 à 4,7** sur des miels de Burkina Faso et par **Laouar et al., (2017)** à savoir **3,5 à 4,5** sur un ensemble de miels du Nord-Est algérien.

Les valeurs de pH des miels marocaines étudiés tendent vers l'acidité, elles sont comprises entre **3,39 et 4,19** (**Belhaj et al., 2015**).

La variation du pH serait due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (**Louveaux, 1968**).

Les valeurs de pH du miel sont d'une grande importance lors de l'extraction et de stockage, l'acidité peut influencer par la texture, la stabilité et la durée de conservation de miel (Terrab *et al.*, 2003). L'acidité du miel est due à la présence d'acides organiques, en particulier l'acide gluconique, et les ions inorganiques tels que le phosphate et chlorure (Nanda *et al.*, 2003).

1.4. Détermination de l'acidité libre

L'acidité est un critère de qualité, dû aux acides organiques présent dans le miel (Bogdanov, 1999). La norme européenne pour le miel fixe une valeur maximale de **50 milliéquivalent/kg** (Bogdanov, 2005). La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel (Amri, 2016).

La valeur moyenne de l'acidité de notre miel est de **16 meq/kg**. Selon les normes internationales du **Codex Alimentarius (2001)**, l'acidité libre du miel ne doit pas dépasser **50** milliéquivalents d'acide par **1 Kg**. Notre miel est donc conforme aux normes préconisées.

Par exemple pour le miel de colza elle est au moyenne, pour le miel de sapin de **18,6** (Chauvin, 1968).

L'acidité de notre échantillon du miel est comparable aux résultats obtenus par Laouar *et al.*, (2017) présentant un intervalle de **10,16 à 28,03 meq/kg** sur un ensemble des miels du Nord-Est algérien, ainsi que ceux obtenus par Achouri *et al.*, (2015) à savoir **8,30 à 36,70 meq/kg** sur des miels des Emirats Arabes Unis.

Par contre se diffère avec les valeurs de l'acidité totale des miels marocaines analysés qui varient de **19,49 à 33,42 meq/kg** (Belhaj *et al.*, 2015).

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou à des variations en raison de la saison de la récolte (Pe'rez-Arquillue *et al.*, 1995).

1.5. Détermination de la teneur en cendres

La Teneur en cendres est un critère de qualité qui détermine l'origine botanique et géographique du miel (Belay *et al.*, 2013).

La teneur en cendres de notre échantillon de miel est de **0,45 %** avec un taux de matière sèche de **99,55%**. Cette valeur est conforme avec celle préconisée par le **Codex Alimentarius (2001)** qui est égale ou inférieure à **0,8%**.

Selon l'Union Européenne (2002), la teneur en cendres des miels de nectar ne dépasse pas 0,6 % et elle est comprise entre 0,6 et 1 % pour les miels de miellat ou mélangés à des miels de fleurs. Pour les miels algériens sont dans l'intervalle de 0,09 à 0,45% (Doukani *et al.*, 2014). Par contre les miels marocains sont variés de 0,13 à 0,33% (Belhaj *et al.*, 2015).

La teneur en cendres des miels de nectar est plus faible que celle du miellat. En fait, les miels provenant du nectar ont une teneur en cendre ne dépassant pas 0,6 %, tandis que celle des miels de miellat ou mélangés avec du nectar, est comprise entre 0,6 et 1 % (Ouchemoukh, 2003). Ce paramètre est principalement lié au climat et aux caractéristiques du sol (Oroian *et al.*, 2013; El Sohaimy, 2015).

1.6. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols font partie des groupes de composés naturels importants, de haut intérêt thérapeutique (Djossou *et al.*, 2013).

Selon Makhoulfi (2011), l'apparition d'un précipité noir dans notre échantillon de miel indique la présence de polyphénols (Figure 10 et 11).

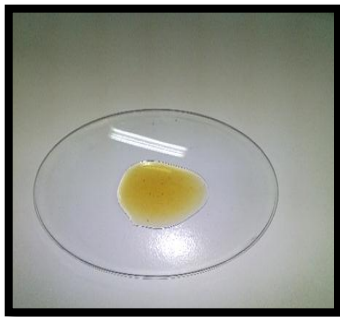


Figure 10 : Miel avant l'ajout de sulfate de fer

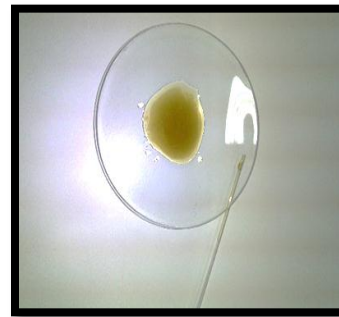


Figure 11 : Miel après l'ajout de sulfate de fer

Dans le Tableau 6, nous avons fait une comparaison des résultats de l'analyse physicochimique du miel de la région de Guelma avec les résultats de l'analyse physicochimique de plusieurs régions en Algérie et aux monde.

Tableau 6 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des miels.

	Échantillon de miel (Guelma)	Codex Alimentarius	Miels algériens (Achour <i>et al.</i> , 2014)	Miels étrangers
Teneur en eau (%)	20,8	≤ 21	13,07 – 15,56	16 – 35 (Cameroun) 19,7 (Maroc)
Conductivité électrique (ms/cm)	0,48	< 0,8	0,186 – 0,248	0,23 - 1,99 (E.A.U)
pH	4,26	Acide	3,5 - 4,5	3,5-4,7 (Burkina-Faso)
Acidité libre (meq/kg)	16	< 50	10, 16 – 28,03	8,3 – 36,7(E.A.U)
Cendres (%)	0,45	≤0,8	0,09 – 0,45	0,13 – 0,33 (Maroc)

2. Analyses physico-chimiques de la propolis

2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage

La valeur moyenne de teneur en pertes pendant le séchage de notre propolis est de **2,80%**, avec une matière sèche de **97,20%**. On constate que notre propolis est très pauvre en eau et matières volatiles, ce qui explique sa structure solide.

Notre résultat est dans l'intervalle du taux de pertes pendant le séchage trouvé par **Ferhoum (2010)** sur un ensemble de la propolis algériennes de différentes régions (**1,26 à 3,89%**) et par **Tosi *et al.*, (2006)** sur la propolis d'Argentine (**1,40 à 6,20%**).

La propolis de Mitidja a présenté un taux de perte plus élevé qui est de l'ordre de **3,89%**, un autre échantillon de la même région bioclimatique (Mitidja) a présenté un taux de perte de l'ordre de **1,47** c'est à dire deux fois moins que le premier échantillon (**Ferhoum 2010**).

La variation des valeurs peut s'expliquer par les conditions de stockage ainsi que les conditions climatiques (**Ferhoum, 2010**)

2.2. Détermination du pH

L'échantillon de propolis a montré un pH de **(5,08)** donc il est acide. Cette acidité est due à sa composition riche en acides aromatiques et en acides aliphatiques (**Ferhoum, 2010**).

Le pH trouvé par **Ferhoum** en **2010** est de l'ordre de **4,5** soit une différence de **0,58** unité de pH avec nos résultats.

2.3. Détermination de la teneur en cendres

Le taux des cendres nous renseigne sur la quantité totale en sels minéraux présent dans un échantillon de propolis, et par déduction le taux de la matière organique présent dans le même échantillon.

La teneur moyenne en cendres de notre échantillon est de **3,5%**, avec un taux de matière organique de **96,5%**.

Nous constatons que les échantillons de propolis algérienne ont montré un taux de cendre variant entre **1,58%** et **5,32%**. Ce qui conduit à déduire que la propolis est riche en matière organique. Les taux de cendre obtenue sont en concordance avec la littérature (**5%**) (**krell, 1996 ; Bancova, 1987**).

Mais on note une différence remarquable avec la propolis d'Argentine analysée par **Tosi et al., (2006)** qui présentant un intervalle des valeurs allant de **1,8 à 2,4%**.

2.4. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols sont les constituants chimiques responsables de l'activité biologique de la propolis. D'après une étude réalisée en **2007** sur des échantillons de propolis de peupliers de différents pays du monde, la concentration moyenne en acides phénoliques est de **28%** (**Tosi et al., 2006**).

Le pourcentage de polyphénols trouvé dans notre échantillon de propolis est de **1,03**. Il est conforme à la quantité minimale de composés phénoliques présents dans l'EEP qui est de **0,50%** préconisé par la norme Tropicale (**Tagliacollo et al., 2011**).

Les travaux réalisés sur la propolis Iranienne ont rapportés des teneurs en composés phénoliques de l'ordre de **8,46%** ; **7,11%** ; **3,08%** de propolis respectivement pour Tehran, Isfahn, Khorasan (Tableau 7) (**Tosi et al., 2006**).

Tableau 7 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques de la propolis.

	Propolis (Guelma) Présente étude	Propolis (Constantine) (Rebai etsadi seif 2017)	Propolis (Algériennes) (Ferhoum 2010)	Propolis (Argentine) (Tosi <i>et al.</i>, 2006)
Taux de perte (%)	2,80	2,5	1,29-3,89	1 ,40-6,20
pH	5,08	5,0	4,24-4,66	/
Cendres (%)	3,5	3,0	1,58-5,32	1,80-2,40
Teneur en polyphénols(%)	1,03	1,2	/	1,9-14,76

2. Identification des souches bactériennes

2.1. Aspect macroscopique des colonies

Le repiquage successif utilisé dans le seul but de purifier les souches nous a permis de distinguer les caractères de toutes les colonies sur leurs milieux préférentiels d'isolement. Ces données sont résumées dans le Tableau (8).

Tableau 8 : L'aspect macroscopique des colonies isolées.

Milieu	Aspect des colonies
Chapman	Petites colonies de couleur jaune (doré), rondes, bombées et lisses à contour régulier, filantes sous l'anse avec un virage de couleur du milieu vers le jaune.
Hektoen	Colonies moyennes, saumonées, arrondies, bombées à contour régulier.
GN	Des colonies grandes d'autre petites, beiges, arrondie, aplaties, à bords irréguliers
Cétrimide	Colonies moyennes, transparentes, arrondies, bombées et lisses à contour régulier avec virage de couleur du milieu vers le bleu vert /vert.
SS	Colonies moyennes, arrondies, bombées, marrons.

2.2. Aspect microscopique

L'examen microscopique (état frais et coloration de Gram) a été fait pour toutes les cultures, les résultats sont représentés dans le Tableau (9).

Tableau 9 : Résultats de l'état frais et la coloration de Gram et les enzymes respiratoires

milieu	L'état frais	Coloration de Gram	Enzyme
Chapman	Cocci en amas, diplocoques ou en très courtes chainettes, immobiles.	Cocci de couleur violette (Gram+). regroupées en amas, forme grappe de raisin (Figure 12).	Catalase positive (Figure 13)
Hektoen	Bacilles fins et allongés, immobiles.	Bacilles (Gram négative) (Figure 12)	Oxydase négative (Figure 13)
Cétrimide	Bacilles fins, très mobiles.	Bacilles Gram négative (Figure 12)	Oxydase positive (Figure 13)
SS	Bacilles immobiles	Bacille Gram négative. (Figure 12)	Oxydase négative (Figure 13)



Figure 12: Observation microscopique après coloration de Gram des souches bactériennes étudiées (x 100) (PP, 2018).

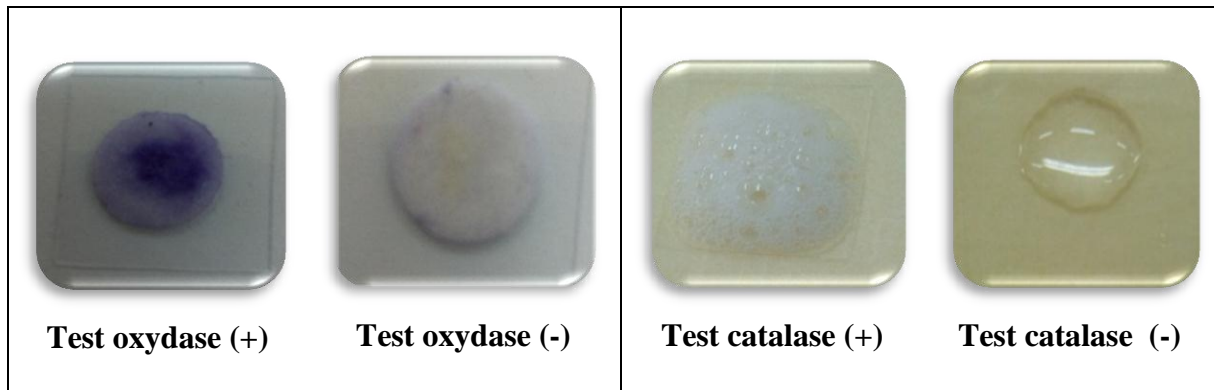


Figure 13: Résultat de la recherche des enzymes respiratoires (PP, 2018).

2.3. Résultats de l'identification biochimique

2.3.1. Résultats de l'identification des Entérobactéries

L'étude biochimique des Entérobactéries par la galerie API20E nous a permis d'identifier *Proteus mirabilis* (Figure 14) , *Salmonella* (Figure 15) , *Klebsiella pneumoniae* (Figure 16), *Serratia* (Figure 17), *E. coli* (Figure 18).



Figure 14 : Profil biochimique de la souche *Proteus mirabilis* (PP, 2018).



Figure 15 : Profil biochimique de la souche *Selmonella spp* (PP, 2018).



Figure 16 : Profil biochimique de la souche *Klebsiella pneumonia* (PP, 2018).



Figure 17 : Profil biochimique de la souche *Serratia* (PP, 2018).



Figure 18 : Profil biochimique de la souche *E. coli* (PP, 2018).

2.3.2. Résultats des tests d'identification des souches de *Pseudomonas*

Les résultats de l'identification biochimique de *Pseudomonas aeruginosa* sont réalisés par l'API20NE et représentés dans la Figure 19.



Figure 19 : Profil biochimique de la souche *Pseudomonas aeruginosa* (PP, 2018).

2.3.3. Résultats des tests d'identification de *Staphylococcus aureus*

Les résultats de l'identification des staphylocoques sont réalisés par l'API 20 Staph et présentés dans la Figure 20.



Figure 20 : Profil biochimique de la souche *Staphylococcus aureus* (PP, 2018).

3. Résultats de l'antibiogramme

La résistance des bactéries aux antibiotiques devient un problème de santé publique extrêmement sérieux. Les deux grandes causes impliquées dans cette augmentation proviennent en grande partie de l'abus des antibiotiques et le transfert plasmidique codant pour de différents mécanismes de résistance acquise (Prescott *et al.*, 1995).

3.1. Les Entérobactéries

3.1.1. *Klebsiella pneumonia*

Le Tableau suivant présent les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Klebsiella pneumonia*.

Tableau 10: Résultat de l'antibiogramme pour *Klebsiella pneumonia*

Antibiotique	CZ	CX	E	C	VA	S	AMP	FO	AMX	CL	OX	K	P	HLG
Diamètre	30	19	0	23	0	0	0	40	14	25	0	32	0	18
Catégorie clinique	S	S	R	S	R	R	R	S	I	S	R	S	R	S

La souche de *Klebsiella pneumoniae* identifiée est sensible à **35,71%** des antibiotiques testés tels que : la Chloramphenicol, la Cefoxitine, Gentamicine, Fosfomycine, Amikacine . Elle présente une résistance intermédiaire de **7,14%** à l'Amoxicilline et présente une résistance de **57,14%** pour les antibiotiques Erythromycine, Vancomycine, Streptomycine, Ampicilline, Oxacilline et Pénicilline G (Figure 21).

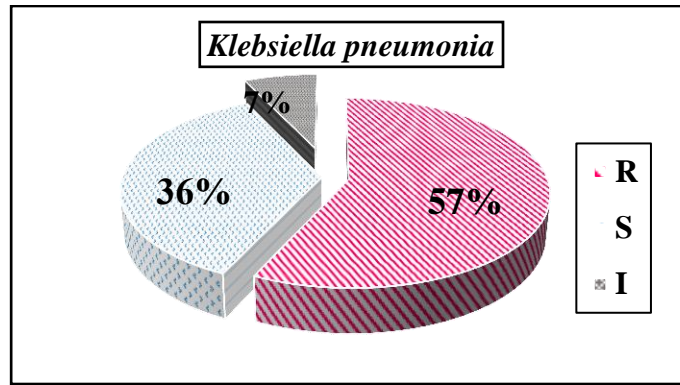


Figure 21: Taux de résistance de *Klebsiella pneumoniae*.

Alors que la souche de *Klebsiella pneumoniae* identifié par **Brahmia et al., 2016** à partir des prélèvements effectués au niveau de l'hôpital de Oued Zenati, est sensible à **39%** des antibiotiques testés tels que Vancomycine, Amoxiciline...etc et elle présente une résistance intermédiaire de **22%** à la Tétracycline, Erythromycine, Colistine, Kanamycine. Elle présente aussi une résistance de **39%** pour Ampicilline, pénicillin G, Oxacilline, Cefozaline, Streptomycine, Sulphametho- Oxazole/ Triméthoprim, Acide-fusidique.

3.1.2. *Proteus mirabilis*

Le Tableau ce dessous présent les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Proteus mirabilis*.

Tableau 11: Résultat de l'antibiogramme pour *Proteus mirabilis*.

Antibiotique	AK	E	CN	P	AMX	VA	HLG	C	OX	CZ	S	TE	K	CX
Diamètre	26	0	0	10	0	19	18	0	0	0	0	0	0	22
Catégorie clinique	S	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S

La souche de *Proteus mirabilis* identifiée est sensible à **28,57%** aux antibiotiques testés tels que : la Cefoxitine, Gentamicine, Vancomycine, Amikacine et elle présente une résistance de **71,43%** pour les antibiotiques, pénicillin G, Oxacilline, Cefozaline, Streptomycine, Chloramphenicole, Amoxiciline, Erythromycine, Tétracycline et Kanamycine (Figure 22).

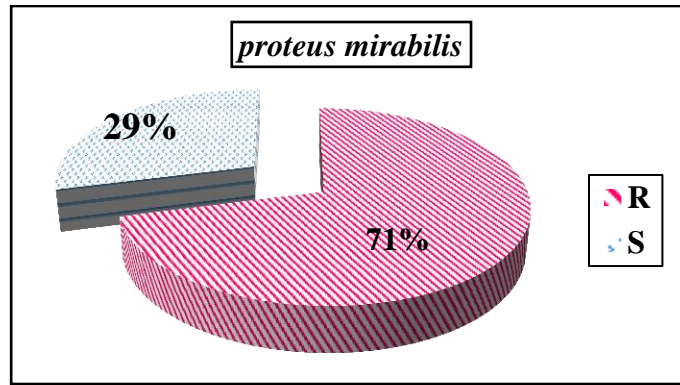


Figure 22: Taux de résistance de *P. mirabilis*.

D’après **Mendaci et Mihoubi (2015)**, la souche testée, présente une sensibilité à toutes les β -lactamines sauf l’Ampicilline qui donne un phénotype résistant (R), concernant les aminosides, une sensibilité totale est enregistrée vis-à-vis de l’amikacine avec un diamètre de (30mm), et Gnetamicine (27mm).

Une sensibilité totale est observée vis-à-vis des Quinolones par contre une résistance totale par rapport à la colistine et furane qui est un caractère naturelle et spécifique de *P. mirabilis* (**Mendaci et Mihoubi, 2015**).

3.1.3. *Serratia*

Le Tableau 12 présent les résultats de l’antibiogramme pour la souche de *Serratia*.

Tableau 12: Résultat de l’antibiogramme pour *Serratia*.

Antibiotique	P	HLG	AK	S	E	CX	C	CL	AMX	VA	K	FA	CZ	OX
Diamètre	0	27	27	0	20	18	18	0	0	7	10	0	23	8
Catégorie clinique	R	S	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	R

A partir de la Figure 23, la souche de *Serratia* identifiée est sensible à **35,71%** aux antibiotiques testés tels que : la Chloramphenicole, la Cefoxitine, Gentamicine, Cefozaline et Erythromicine , elle présente une résistance de **64,29%** pour les antibiotiques pénicillin G, Acide-fusidique, Vancomycine, Colistine, Amoxyciline, Oxacilline, Streptomycine et Kanamycine.

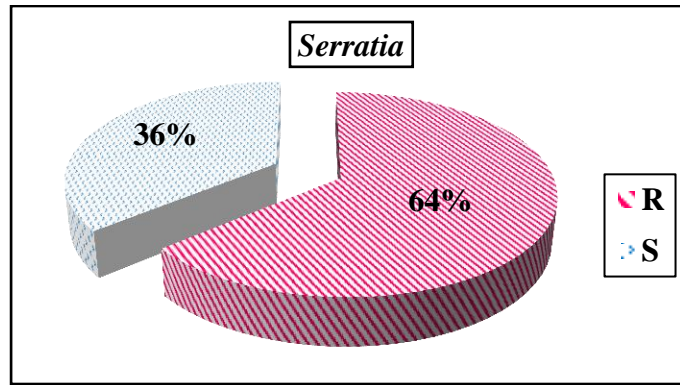


Figure 23: Taux de résistance de *P. mirabilis*.

3.1.4. *Salmonella spp*

Le Tableau suivant présent les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Salmonella*.

Tableau 13: Résultat de l'antibiogramme pour *Salmonella*.

Antibiotique	AMP	E	VA	TE	CX	P	AMX	AK	OX	K	HLG	C	S	CL
Diamètre	0	25	19	0	22	0	0	26	0	0	18	21	0	0
Catégorie clinique	R	S	S	R	S	R	R	S	R	R	S	S	R	R

D'après la Figure 24, la souche de *Salmonella* identifiée est sensible à **35,71%** aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, Chloramphenicol, Amikacine, Erythromycine, cefoxitine, Vancomycine et elle présente une résistance de **64,29%** pour les antibiotiques pénicillin G, Acide-fusidique, Tétracycline, Amoxyciline, Colistine, Amoxyciline, Oxacilline, Streptomycine et Kanamycine. .

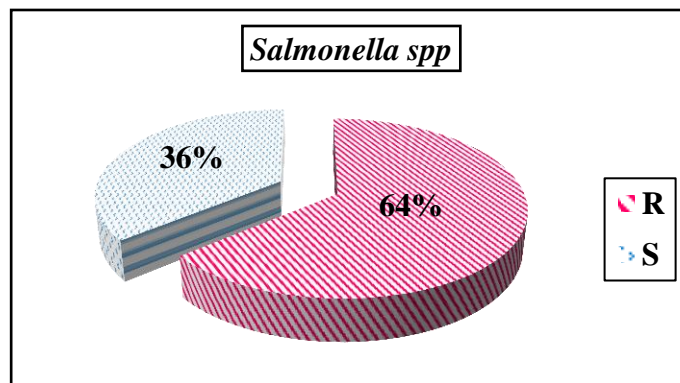


Figure 24: Taux de résistance de *salmonella*.

Les résultats de (Fofana, 2004) confirment que les bactéries de l'intestin sont résistantes, dans la mesure où **81,1%** des souches de Salmonella spp. Ces résistances sont surtout importantes pour les antibiotiques suivants: Tétracyclines, Triméthoprim, Sulfamides, Triméthoprim, Sulfamtoxazole, Ampicilline, Céfalotine, Streptomycine.

Les Salmonelles sont restées sensibles au Chloramphénicol et faiblement résistantes à la Gentamicine (Fofana, 2004).

3.1.5. *E. coli*

Les résultats de l'antibiogramme pour la souche d'*E. coli* sont présentés dans le Tableau 14.

Tableau 14: Résultat de l'antibiogramme pour *E. coli*.

Antibiotique	FA	VA	CX	E	K	S	AK	CL	CZ	OX	HLG	AMP	C	P
Diamètre	0	23	19	29	21	14	24	16	0	0	26	0	29	0
Catégorie clinique	R	S	S	S	S	I	S	I	R	R	S	R	S	R

La souche d'*E. coli* identifiée est sensible à **50%** aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, Amikacine, Erythromycine, Cefoxitine, Kanamycine, Vancomycine, chloramphénicol et elle présente une résistance intermédiaire de **14,29%** à la Colistine, Streptomycine et elle présente aussi une résistance de **35,71%** pour les antibiotiques Cefozaline, Oxacilline, Ampicilline, Penelline G et Acide-fusidique. (Figure 25).

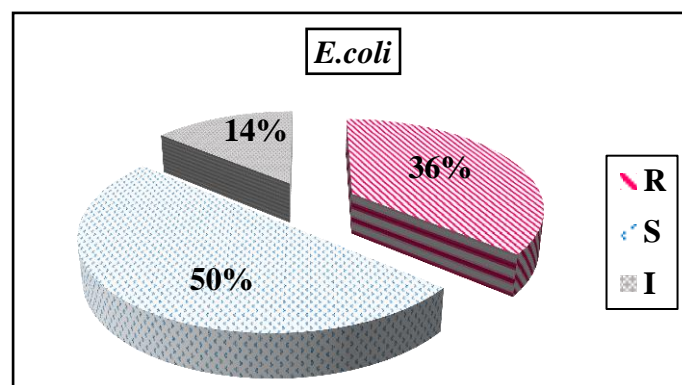


Figure 25: Taux de résistance d'*E. coli*.

D'après Mendaci et Mihoubi (2015) *E. coli* fait partie du premier groupe (G1) des entérobactéries, qui présente une sensibilité totale à toutes les β -lactamines, les aminosides,

les quinolones et aux polypeptides (colistine et furane) donc *E. coli* sont naturellement sensibles aux antibiotiques actifs sur les bacilles Gram négatif.

L'étude de l'antibiorésistance de la souche d'*E. coli* montre une sensibilité totale vis-à-vis toutes les familles d'antibiotiques (Mendaci et Mihoubi, 2015).

3.2. *Pseudomonas aeruginosa*

Le Tableau 15 présent les résultats de l'antibiogramme pour la souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 15: Résultat de l'antibiogramme pour *Pseudomona aeruginosa*.

Antibiotique	HLG	P	C	VA	FO	AK	K	FA	CL	OX	CX	E	AMX	CZ
Diamètre	45	0	30	19	19	29	25	26	18	0	20	19	0	22
Catégorie clinique	S	R	S	S	S	S	S	S	S	R	S	S	R	S

La souche de *P. aeruginosa* identifiée est sensible à **78,57%** aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, Fosfomycine, Amikacine, Colistine, Cefozaline, cefoxitine, Erythromycine, Acide-fusidique, Kanamycine, Vancomycine, Chloramphnicole et elle présente une résistance de **21,43%** pour les antibiotiques Pénicilline G, Oxacilline et Amoxiciline (Figure 26).

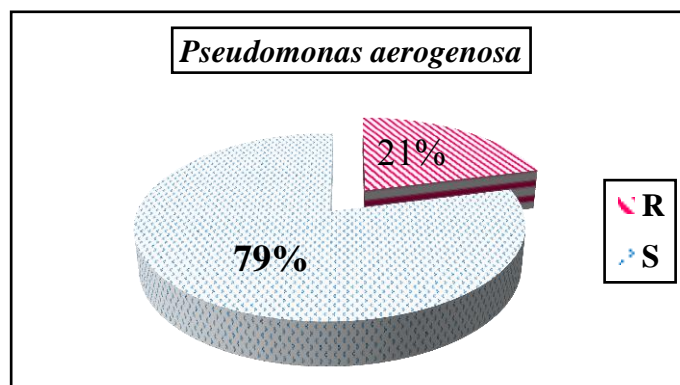


Figure 26: Taux de résistance de *P. aeruginosa*.

D'après Brahmia et al., 2016, *P. aeruginosa* est sensible à **22%** des antibiotiques testés tels que la Gentamicine, Fosfomycine, Amikacine, Colistine et elle présente une résistance intermédiaire de **22%** à la Tétracycline, Erythromycine, Kanamycine, Streptomycine. Elle présente aussi une résistance de **56%** pour Ampicilline, Cefoxitine,

Vancomycine, Penelline G, Amoxiciline, Oxacilline, Sulphametho- Oxazole/ Triméthoprim, Acide-fusidique, Cefozaline.

Ainsi, les souches de *P. aeruginosa* sont en plus de leurs résistance naturelle aux β -lactamines (Ampicilline), elles montrent également une résistance aux Chloramphenicole, Cefoxitine, Vancomycine, Pénicilline, Oxacilline, Amoxiciline, Cefozaline, Sulfamide-Oxazole Trimethoprime, Acide Fusidique mais restent sensibles aux Gentamicine, Fosfomycine, Streptomycine, Amikacine, Kanamycine, Tetracycline, Erythromycine (Brahmia *et al.*, 2016).

3.3. *Staphylococcus aureus*

Le Tableau 16 présent les résultats de l’antibiogramme pour la souche de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 16: Résultat de l’antibiogramme pour *Staphylococcus aureus*.

Antibiotique	HLG	E	VA	CL	CZ	S	AK	C	AMP	OX	AMX	CX	P	TE
Diamètre	25	28	30	00	32	28	17	25	0	0	0	26	0	9
Catégorie clinique	S	S	S	R	S	S	S	S	R	R	R	S	R	R

La souche de *S. aureus* identifiée est sensible à **64,29%** aux antibiotiques testés tels que : la Gentamicine, Amikacine, Cefozaline, Cefoxitine, Erythromycine, Streptomycine, Kanamycine, Vancomycine, Chloramphenicole et elle présente une résistance de **35,29%** pour les antibiotiques Ampicilline, Oxacilline, Amoxiciline, Penelline G et Colistine (Figure 27).

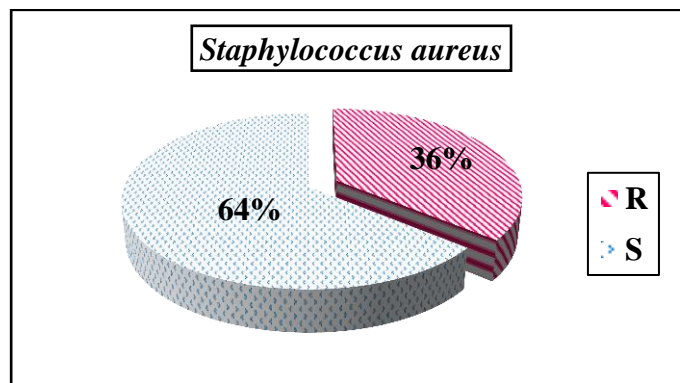


Figure 27: Taux de résistance de *S. aureus*.

Par contre *S. aureus* testé par **Brahmia et al., 2016** est résistante à **5%** des antibiotiques testés tels que l'Ampicilline et elle présente une sensibilité à **90%** pour Chloramphenicole, Tétracycline, Ampicilline, Cefoxitine, Gentamicine, Erythromycine, Vancomycine, Pénicilline G, Oxacilline, Fosfomycine, Kanamycine, Amoxiciline, Cefozaline, Streptomycine.

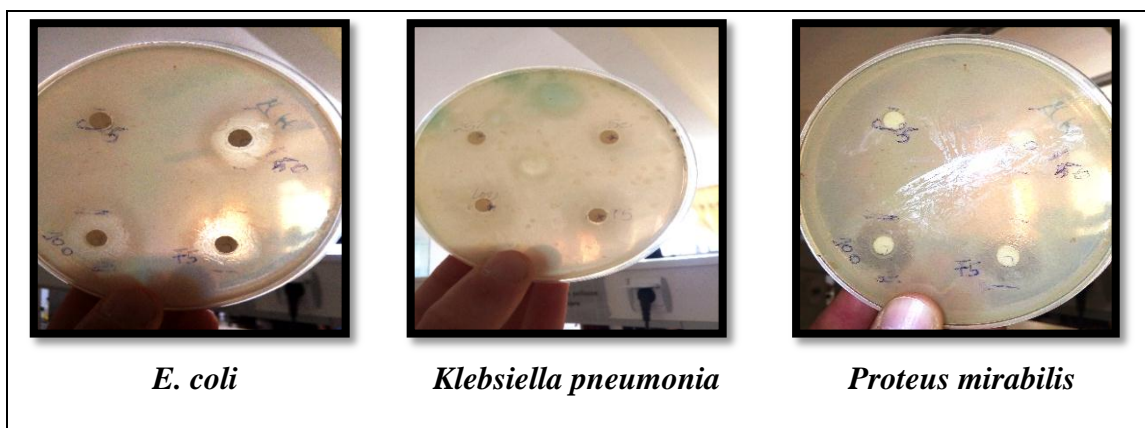
Ainsi, les souches de *S. aureus* sont en plus de leurs résistance naturelle elles présentent une résistance acquise aux β -lactamines (Ampicilline) et divers (Acide Fusidique), mais restent sensibles aux Chloramphenicole, Tétracycline, Gentamicine, Vancomycine, Fosfomycine, Colistine, Streptomycine, Amikacine, Oxacilline, Cefoxitine, Erythromycine, Kanamycine, Penicilline, Amoxiciline, Sulphametho- Oxazole/ Triméthoprime, Cefozaline (**Brahmia et al., 2016**).

4. Évaluation de l'effet antibactérien du miel et de la propolis

La détermination, in vitro, de l'effet antibactérien de miel et de propolis consiste à la mesure du diamètre (halos) d'inhibition en mm. Le principe consiste à placer un milieu de culture (une gélose) contenant la bactérie à tester en présence de miel, propolis et à observer les conséquences sur le développement et la survie de celle-ci (**Rebai et Saidi sief, 2017**).

4.1. Évaluation de l'effet antibactérien du miel

Les résultats de zones d'inhibition produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure 28.



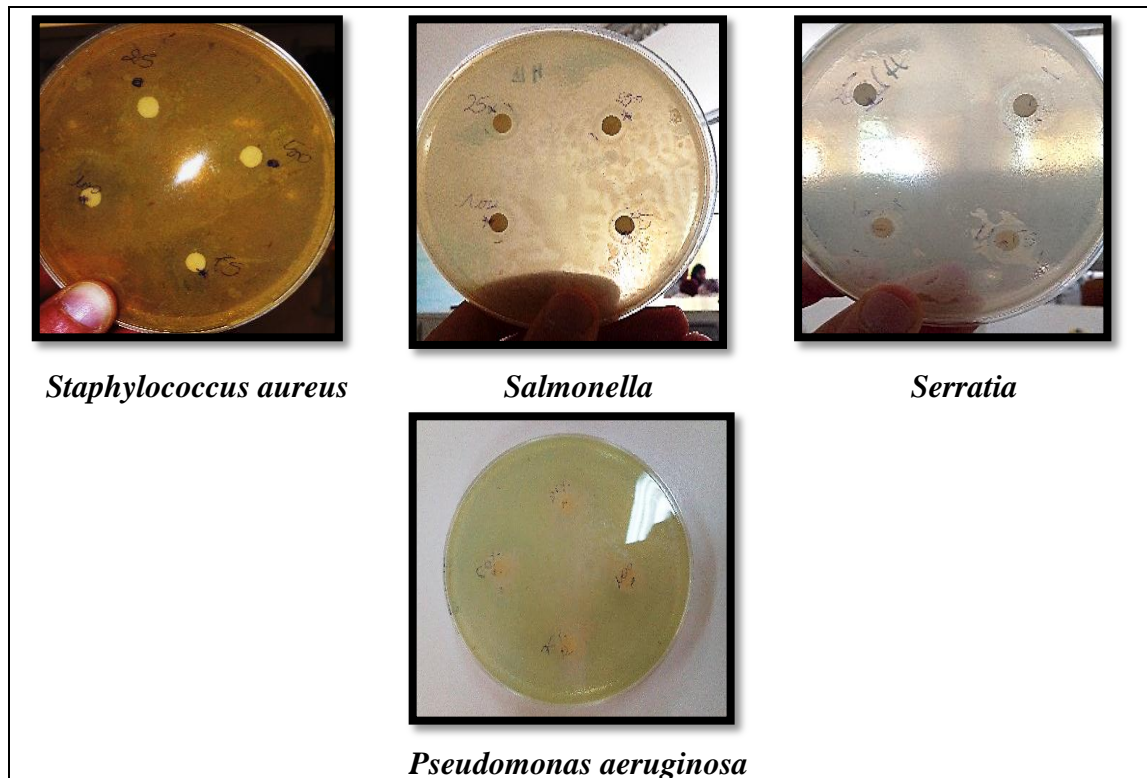


Figure 28 : Évaluation de l'effet antibactérien du miel.

L'évaluation de cette activité est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues à différentes concentrations. Une bactérie est considérée comme étant sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à **8 mm** (Ahmed *et al.*, 2012).

Les résultats de l'évaluation de l'effet antibactérien de notre échantillon du miel sur chacun des sept germes testés sont présentés dans les tableaux suivants.

4.1.1. Effet de miel sur *E. coli*

Les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche d'*E. coli* sont présentés dans le Tableau 17.

Tableau 17 : Diamètre d'inhibition du miel sur *E. coli*.

Concentration de miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	8	12	18	23
Catégorie clinique	R	S	S	S

E. coli est résiste à la concentration **25%** du miel et sensible pour les concentrations **50%, 75%** et **100%**. Le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration du miel.

4.1.2. Effet de miel sur *Salmonella spp*

Le Tableau suivant présent les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Salmonella*.

Tableau 18 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Salmonella spp*.

Concentration de miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	6	7	9	10
Catégorie clinique	R	R	S	S

Salmonella spp est résiste aux concentrations **25% et 50%** du miel et sensible pour les concentrations **75% et 100%**.

4.1.3. Effet de miel sur *Proteus mirabilis*

Le Tableau si dessous présent les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Proteus mirabilis*.

Tableau 19 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Proteus mirabilis*.

Concentration du miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	7	8	10	12
Catégorie clinique	R	R	S	S

P. mirabilis est résiste aux concentrations **25%, 50%** du miel et sensible aux concentrations de **75% et 100%**. Le diamètre de la zone d'inhibition est augmenté avec l'augmentation de la concentration du miel.

4.1.4. Effet de miel sur *Klebsiella pneumoniae*

Le tableau suivant présent les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Klebsiella pneumonia*

Tableau 20 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Klebsiella pneumoniae*.

Concentration du miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	6	7	8	9
Catégorie clinique	R	R	R	S

Klebsiella pneumoniae est résiste pour les concentrations **25%**, **50%** et **75%**, et faiblement sensible à la concentration de **100%** avec un diamètre de la zone d'inhibition de **9 mm**.

4.1.5. Effet de miel sur *Serratia*

Le Tableau 21 présent les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Serratia*

Tableau 21 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Serratia*.

Concentration du miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	6	7	11	12
Catégorie clinique	R	R	S	S

Serratia est résiste aux concentrations **25%** et **50%** du miel et sensible pour les concentrations **75%**, **100%**.

4.1.6. Effet de miel sur *Pseudomonas aeruginosa*

Les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Pseudomonas aeruginosa* sont présentés dans le Tableau (22).

Tableau 22 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Concentration du miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	20	21	33	35
Catégorie clinique	S	S	S	S

P. aeruginosa est sensible pour toutes les concentrations **25%** **50%** **75%** et **100%** le Diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration du miel et enregistré les valeurs les plus élevés.

4.1.7. Effet du miel sur *Staphylococcus aureus*

Le tableau 23 présente les résultats de diamètre d'inhibition du miel sur la souche de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 23 : Diamètre d'inhibition du miel sur *Staphylococcus aureus*.

Concentration du miel	25%	50%	75%	100%
Zone d'inhibition	7	9	13	20
Catégorie clinique	R	S	S	S

Staphylococcus aureus est résistante à la concentration de **25%** du miel est sensible pour les concentrations **50%**, **75%** et **100%** le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration du miel.

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel de la région de Guelma, on peut constater ce qui suit:

- Toutes les souches microbiennes testées sont sensibles à l'action inhibitrice de l'échantillon de miel, avec des différences d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antibactérienne.
- L'effet antibactérien du miel est plus important avec l'échantillon avec dilution de **100%**, il diminue avec des dilutions successives.
- Nous observons qu'à plus faible concentration (**25%**), la majorité des souches bactériennes sont poussées en présence du miel. Cela pourrait être lié à une dilution des ingrédients actifs impliqués dans l'action antibactérienne, le rendant ainsi inefficace (**Nassar et al., 2012**).

L'effet antimicrobien du miel peut partiellement être expliqué par son contenu important en enzyme, le glucose oxydase, qui active la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. L'enzyme reste active tous les temps de la transformation du nectar en miel. Dans le miel mûr, l'enzyme n'est plus active mais reste intacte. Si le miel est dilué avec un peu d'humidité, l'enzyme est réactivée. Cette idée a été annoncée depuis plus de 14 siècles par notre prophète MOHAMED qui insiste sur "boire du miel dilué".

D'après **Melliou et Chinou (2005)**, l'activité antibactérienne est révélée particulièrement efficace à fortes doses. Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes. Premièrement, cette solution concentrée de glucides retire

après l'absorption l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes (**Bogdanov, 1997**). Deuxièmement, son degré d'acidité, valeur du pH le plus souvent faible inhibe la multiplication de la bactérie (**Torres et al., 2004 ; Couquet, 2013**). En outre, Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibitive du miel (**Adcock, 1962 ; Mandel et al., 2012**).

Le miel a deux types d'effets sur les bactéries à Gram négatif (*E. coli*, *Serratia marcescens* et *Pseudomonas aeruginosa*) : un effet bactéricide sur les zones les plus proches des disques imprégnés du miel et un effet bactériostatique sur les zones relativement loin des disques. Dans le premier cas, la croissance est inhibée définitivement puisque les microbes sont tués, alors que dans le deuxième cas, un tapis bactérien réapparaît après l'inhibition puisque les microbes ne sont pas tués (**Merah et al., 2010**).

Parmi les bacilles à Gram négatif, nous pouvons noter une faible activité du miel sur les souches de *K. pneumoniae* et une activité plus bactériostatique que bactéricide sur *P. mirabilis*. Le miel semble avoir une activité importante sur les bacilles à Gram négatif non fermentant pourtant très fréquemment multirésistants (**Merah et al., 2010**).

Parmi les cocci à Gram positif sont très sensibles au miel *Staphylococcus aureus*.

Le miel inhibe la croissance de différents germes dont *S. aureus*, *Ps. aeruginosa* et *E. coli* de façon proportionnelle à la dose. Il présenterait un intérêt bactériologique en diminuant la colonisation des plaies par les germes (**Merah et al., 2010**).

De nombreuses recherches ont été effectuées pour déterminer un spectre antibactérien du miel en vue de l'appliquer sur des plaies contaminées par les germes sensibles (**Assie, 2004**).

D'après nos résultats, les souches *E. coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont les plus sensibles à l'effet de miel tandis que *Staphylococcus aureus* est moyennement sensible.

Nos résultats sont similaires à ceux des études de (**Basualdo et al., 2007**) qui a trouvé une activité de **93%** d'échantillons du miel contre *Staphylococcus aureus* avec des zones d'inhibitions allant de **5 à 24 mm** ce qui concorde avec nos résultats.

Sib, (2007) testé l'activité antibactérienne du miel sur deux types de Staphylocoque (*S. aureus* sauvage et *S. aureus* ATCC 25923), elle a trouvé des zones d'inhibitions allant de **29.34 mm à 34 mm** Donc ces résultats obtenus montrent que la souche clinique est moins

sensible à l'action du miel par rapport de la souche de référence (zone d'inhibition de **20 mm** pour la dilution de **100%**).

On pense que l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible, puisque certains échantillons possèdent un effet inhibiteur sur les bactéries à Gram positive et non sur les bactéries à Gram négative, et d'autre part de la composition du miel lui-même (**Merah et al., 2010**).

La composition du miel elle-même dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie (**Prost 1979**). D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel et ses particularités tels que :

- L'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par rapport à celui de l'abeille la plus âgée) ;
- La nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation (**Verdan, 2002 ; Biri, 1999**).
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production du miel ;
- Le mode d'extraction de miel ;
- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes du miel et leur efficacité (**Caillas, 1974**).

Au département de Chirurgie du CHU de Bujumbura au Burundi (**Ndayisaba et al., 1992**), quarante patients avec des plaies diverses et infectieuses ont été traitées avec du miel. Les prélèvements bactériologiques effectués avant le traitement ont montré la prédominance des *Staphylococcus aureus*, suivis d'*Escherichia coli* et des *Pseudomonas spp.*

Ont aussi été isolés des plaies : des *Klebsiella*, des *Enterobacter cloacae* des *Proteus*, des *Acinetobacter*, des *Citrobacter* et des Staphylocoques autres que *S. aureus*.

Au fur et à mesure du traitement, le nombre de prélèvements bactériologiquement positifs a diminué. Au stade cicatrisation des plaies, seules quelques plaies présentaient encore des germes (**Ndayisaba et al., 1992**).

Plusieurs travaux ont montré que *S. aureus* est la plus sensible aux miels (**Adouni et al., 2010**).

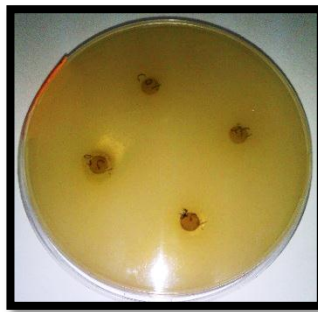
Nos résultats sont comparables aux résultats de **Hammoudi et Boudershem, (2009)** qui ont travaillé sur des miels algériens et ils ont trouvé que *Staphylococcus aureus* est la souche la plus sensible alors qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* sont moyennement sensibles. Les miels foncés ont une activité inhibitrice plus élevée (**Bogdanov et Blumer, 2001**).

Par contre, **Assie (2004)**, trouve que les espèces les plus sensibles sont : *Streptococcus pyogènes*, *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*. Et les autres espèces telles que *Klebsiella pneumonia*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* sont également sensibles au miel, mais à un degré moindre.

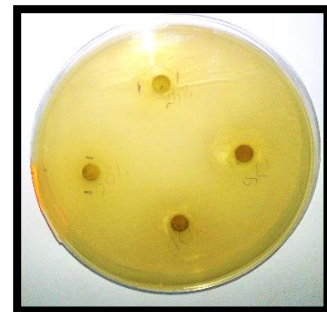
4.2. Étude de l'effet antibactérienne de propolis



Staphylococcus aureus



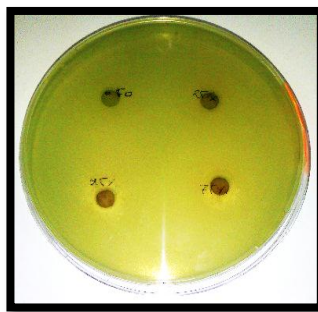
Klebsiella pneumonia



E. coli



Serratia



Pseudomonas aeruginosa



Salmonella spp



Proteus mirabilis



Témoign éthanol

Figure 29: Étude de l'effet antibactérien de la propolis.

Les résultats de nos échantillons de propolis sur chacun des sept germes testés (Tableaux suivants).

4.2.1. Effet de la propolis sur *E. coli*

Les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche d'*E. coli* sont présentés dans le Tableau (24).

Tableau 24 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *E. coli*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	6	9	12	12
Catégorie clinique	R	S	S	S

E. coli est résiste à la concentration **25%** de l'EEP est sensible pour les concentrations **50%**, **75%** et **95%** le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

4.2.2. Effet de la propolis sur *Salmonella spp*

Le tableau suivant présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Salmonella*.

Tableau 25 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Salmonella spp*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	14	14	17	21
Catégorie clinique	S	S	S	S

Salmonella spp est sensible pour toutes les concentrations **25%** **50%** ,**75%** et **95%** de l'EEP le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

4.2.3. Effet de la propolis sur *Proteus mirabilis*

Le Tableau 26 présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Proteus mirabilis*.

Tableau 26: Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Proteus mirabilis*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	6	9	11	13
Catégorie clinique	R	S	S	S

P. mirabilis est résiste à la concentration **25%**, de l'EEP est sensible pour les concentrations **50%,75%** et **95%** le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

4.2.4. Effet de la propolis sur *Klebsiella pneumonia*

Le Tableau suivant présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Klebsiella pneumonia*.

Tableau 27 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Klebsiella pneumonia*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	6	7	10	13
Catégorie clinique	R	R	S	S

Klebsiella pneumonia, est résiste aux concentrations **25% et 50%** de l'EEP est sensible pour les concentrations **75%et 95%** le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

4.2.5. Effet de la propolis sur *Serratia*

Le Tableau 28 présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Serratia*.

Tableau 28 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Serratia*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	10	12	14	16
Catégorie clinique	S	S	S	S

Serratia est sensible pour toutes les concentrations **25%** **50%** ,**75%** et **95%** de l' EEP le diamètre de la zone d'inhibition est corrélé positivement avec la concentration de l' EEP.

4.2.6. Effet de la propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

Le Tableau 29 présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Pseudomonas aeruginosa*.

Tableau 29 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	8	9	11	12
Catégorie clinique	R	S	S	S

P. aeruginosa est résiste à la concentration **25%** de l'EEP est sensible pour les concentrations **50%** ,**75%** et **95%** le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

4.2.7. Effet de la propolis sur *Staphylococcus aureus*

Le tableau suivant présent les résultats de diamètre d'inhibition de la propolis sur la souche de *Staphylococcus aureus*.

Tableau 30 : Diamètre d'inhibition de la propolis sur *Staphylococcus aureus*.

Concentration de l'EEP	25%	50%	75%	95%
Zone d'inhibition	16	19	21	25
Catégorie clinique	S	S	S	S

Staphylococcus aureus est sensible pour toutes les concentrations **25% 50% ,75%** et **95%** de l'EEP le diamètre de la zone d'inhibition et corrélé positivement avec la concentration de l'EEP.

L'éthanol entre dans la composition de plusieurs préparations thérapeutiques (**Brehon et al., 2000**). Il s'évapore facilement et solubilise les composants actifs de la propolis (**Krell, 1996**). Son efficacité dans l'étude de l'activité antibactérienne est confirmée par (**Drago et al., 2000 ; Park et al., 2002 ; Rhajaoui et al., 2001**). C'est pour ces raisons que nous avons utilisé l'éthanol à différents pourcentages comme solvant pour l'étude de l'activité antibactérienne.

Les extraits éthanolique de propolis (EEP) à **25%, 50%, 75%** et **95%** d'éthanol a un effet sur toutes les souches bactériennes testées. Nous constatons que les EEP éthanol à **75%** et **95%** donnent les diamètres les plus importants pour *S. aureus*.

D'une manière générale, tous les EEP des propolis testées inhibent les souches étudiées et entraînent des diamètres qui varient en fonction de l'espèce considérée et du pourcentage d'alcool utilisé.

Nos propolis testées sont faiblement actives sur : *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis*. Les diamètres d'inhibition varient de **6 à 15 mm**. Ces diamètres d'inhibition sont de **14 mm** pour *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et **16 mm** pour *P. mirabilis*. Nos résultats sont en désaccord avec la littérature (**Drago et al., 2000 ; Keskin et al., 2001 ; Koo et al., 2000**) qui ne signale aucune action de la propolis sur ces germes.

Nos tests montrent que la propolis est très active sur les staphylocoques, germe le plus incriminé au cours des plaies brûlées. De ce fait, nous pensons que son utilisation comme adjuvant du traitement antibiotique peut activer la guérison.

5. Comparaison entre l'effet du miel, de la propolis et des antibiotiques

L'activité inhibitrice du miel naturel et de propolis sur *E. coli* et *S. aureus* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs (Vancomycine, Kanamycine, Amikacin, Chloramphenicol, Cefoxitine et Gentamycine), présente des diamètres assez importants pour le miel (**23 mm , 20mm**) et (**12 mm, 25mm**) pour la propolis successivement.

L'effet inhibitrice du miel et de la propolis sur *P. aeruginosa* est plus active à celle des antibiotiques les plus actifs (Chloramphenicol, Vancomycine, Amikacin, Cefoxitine, Cefazoline et Kanamycine), l'activité inhibitrice du miel naturel sur cette souche est

excellente, présent des diamètres assez importants pour le miel (**20, 21, 33, 35 mm**) à des concentrations (**25%, 50%, 75% et 100%**) successivement. Par contre la propolis un effet antibactérienne moyen avec des diamètres plus faible (**12mm**).

L'effet de la propolis sur *P. mirabilis*, *Serratia* et *Salmonella spp* (des souches polyrésistante aux antibiotiques) est moyen on comparant à celle des antibiotiques, présent des diamètres (**13mm, 16mm et 20mm** pour la concentration **95%**) Concernant le miel est relativement faible et présente des diamètres de **12mm, 12mm et 10mm**.

L'effet du miel naturel et de la propolis sur *K. pneumonia* est relativement faible on comparant à celle des antibiotiques, il présent des diamètres de **9mm** pour la concentration **100%** du miel et **13mm** pour la concentration **95%** de la propolis.

Conclusion

Conclusion

Le miel et la propolis sont des produits de la ruche caractérisés par différentes propriétés thérapeutiques qui leur permettent de gagner une grande importance dans la médecine, naturelle.

Dans notre présent travail, nous avons répondu à l'objectif consistant à mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* du miel et de la propolis de la région de Guelma, sur les bactéries impliqués dans les infections nosocomiales : *E. coli*, *P. mirabilis*, *K. pneumoniae*, *Serratia*, *Salmonella ssp*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* isolée et identifiée au niveau du laboratoire de bactériologie à l'Hôpital de Oued Zenati.

Sous un autre angle, nous avons étudié la résistance aux antibiotiques de ces souches bactériennes à plusieurs antibiotiques. Nos résultats ont montré qu'en plus de leur résistance naturelle toutes les souches étudiées présentent une résistance acquise au moins à un antibiotique testé.

Différentes analyses physico-chimiques ont été effectuées pour assurer la caractérisation d'un miel et de la propolis, ainsi que l'identification de certains composés responsables de leur effet antibactérien.

Les résultats obtenus révèlent que ces deux produits naturels, répondent aux normes préconisées par le Codex Alimentarius et se caractérisent par des propriétés importantes impliquées dans le pouvoir antibactérien tels que l'acidité, le contenu en polyphénols et la faible teneur en eau.

L'évaluation de l'effet du miel et de la propolis sur les souches étudiés par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme) a montré que ces souches présentent une sensibilité remarquable vis-à-vis de la propolis aux pourcentages : **75%**, et **95%** avec un diamètre plus important (**25mm**) obtenu au pourcentage **95%** sur la souche *S. aureus*, par contre le miel présente une sensibilité plus élevée sur la souche *Pseudomonas aeruginosa* et *E. coli* avec un diamètre **35** et **23** successivement aux pourcentage **100%**.

Ces résultats pourraient trouver une application possible dans le traitement des différentes maladies causées par des germes pathogènes.

La valeur médicinale du miel et de la propolis comme antibiotique naturel est de plus en plus démontrée scientifiquement, ce qui constitue l'importance de son utilisation en médecine et dans le secteur de l'industrie pharmaceutique et cosmétique.

Résumé

Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antibactérienne du miel et de la propolis récoltés dans la région de Guelma vis-à-vis des bactéries impliqués dans les infections nosocomiales *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Serratia*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Celle-ci provient d'un prélèvement effectué au niveau de l'hôpital d'Oued Zenati.

Pour identifier les principes actifs du miel et de la propolis responsables de leur effet antibactérien sur ces souches, des analyses physico-chimiques ont été effectuées. Il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH, de l'acidité libre, des teneurs en cendres et en polyphénols pour le miel. Concernant la propolis, il s'agit de la mesure du taux de pertes pendant le séchage, du pH, des teneurs en cendres et en polyphénols.

Les résultats obtenus indiquent que le miel a une teneur en eau de **19.4%**, une conductivité électrique de **0.48 mS/cm**, un pH de **4.26**, une acidité libre de **16 meq/kg**, une teneur en cendres de **0,45%** et montrent une présence de polyphénols.

La propolis présente un taux de pertes pendant le séchage de **2.80 %**, un pH de **5.08**, une teneur en cendres de **3,5%** et une teneur en polyphénols de **1,03%**.

L'évaluation de l'effet antibactérien du miel et de la propolis a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme) en utilisant des concentrations de miel à **25, 50, 75** et **100%** et de la propolis à différents pourcentages d'éthanol : **25, 50, 75** et **95%**.

Les résultats obtenus révèlent que le miel et la propolis présentent une faible activité inhibitrice obtenue à la concentration de **25%**. Par contre, a montré une bonne activité inhibitrice aux pourcentages **50% 75%** et particulièrement au pourcentage **95% 100%**.

Mots clés : miel, propolis, caractéristiques physico-chimiques, effet antibactérien, infection nosocomiale, bactéries multirésistant.

Abstract

The purpose of our study is to assess the antibacterial activity of Honey and propolis harvested in the region of Guelma vis-a-vis of bacteria involved in nosocomial infections *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *Serratia*, *Salmonella Spp*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. It comes from a levy carried out at the level of the Hospital of Oued Zenati.

To identify the active principles of the honey and propolis responsible for their antibacterial effect on these strains, physico-chemical analysis have been carried out. It is the water content, of the electrical conductivity, pH, a free acidity, levels in ash and polyphenols to honey. Concerning the propolis, it is the measure of the rate of losses during the drying, pH, of the levels of ash and polyphenols.

The results obtained indicate that the honey has a water content of **19.4%**, an electrical conductivity of **0.48 mS/cm**, a pH of **4.26**, a free acidity of **16 meq/kg**, and an ash content of **0.45%** and show a presence of polyphenols.

The propolis presents a rate of loss during the drying of **2.80%**, a pH of **5.08**, an ash content of **3.5%** and a content of polyphenols of **1.03%**.

The evaluation of the antibacterial effect of honey and propolis has been carried out by the method of dissemination in agar medium (aromatogramme) using concentrations of honey to **25, 50, 75, and 100%** and propolis at different percentages of ethanol: **25, 50, 75 and 95%**.

The results obtained reveal that the honey and the propolis presents a low inhibitory activity obtained only to the concentration of **25%**. By contrast, has shown a good inhibitory activity to percentages **50%** and **75%** and particularly to the percentage **95% and 100%**.

Key words: honey, propolis, physicochemical characteristics, antibacterial effect, nosocomial infections, multirésistantes bactéries.

ملخص

ان الهدف من دراستنا هو تقييم نشاط والتأثير المضاد للبكتيريا للعسل و البروبوليس المتحصل عليه من منطقة قالمة، ضد بعض أنواع البكتيريا المشاركة في انتقال عدوى المستشفيات (*Klebsiella mirabilis* , *Proteus pneumoniae*, *E coli*, *Serratia*, *Salmonella spp*, *Pseudomonas aeruginosa et Staphylococcus aureus*) والتي تم عزلها وتحديد نوعها في مستشفى الأمير عبد القادر بواد الزناتي .

لتحديد المكونات النشطة للعسل و البروبوليس المسؤولة عن تأثيرها المضاد للبكتيريا على هذه السلالات قمنا بإجراء مجموعة من التحاليل الفيزيائية والكيميائية. بالنسبة للعسل قمنا بتحليل محتوى الماء، التوصيل الكهربائي، ودرجة الحموضة، الحموضة الحرة، محتوى رماد، ومحتوى البوليفينول. أما بالنسبة للبروبوليس قمنا بالتحاليل التالية : معدل فقدان أثناء التجفيف، درجة الحموضة، محتوى الرماد ومحتوى البوليفينول.

النتائج المتحصل عليها تشير إلى أن العسل يحتوي على نسبة المياه تقدر ب 19.4٪، و التوصيل الكهربائي 0.48 ملي / سم، ودرجة الحموضة 4.26، حموضته الحرة 16 مل مكافئ / كجم، أما نسبة محتوى الرماد فتقدر ب 0.45 ٪، وتظهر وجود البوليفينول. البروبوليس لديه معدل خسارة التجفيف بنسبة 2.80 ٪ ، ودرجة حموضة 5.08 ، ومحتوى الرماد 3.5 ٪ ومحتوى البوليفينول 1.03 ٪.

تم تقييم تأثير العسل و البروبوليس المضاد للبكتيريا عن طريق تقنية الانتشار في الوسط الجيلوزي، وذلك باستخدام عدة تخفيفات من العسل (75٪، 50٪، 25٪) و100٪ والمستخلص الإيثانولي للبروبوليس 25 و 50 و 75 و 95٪.

النتائج المتحصل عليها أظهرت أن كل من العسل و البروبوليس له نشاط منخفض في التركيز 25٪ أما بالنسبة للتركيز الأخرى فقد أظهرت تأثيرا جيدا ضد نمو البكتيريا مع كفاءة عالية في النسب 95 ٪ و 100٪.

الكلمات المفتاحية: العسل، البروبوليس، خصائص فيزيوكيميائية، تأثير مضاد للبكتيريا، عدوى المستشفيات، مقاومة المضادات الحيوية .

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. Livre et article scientifique

{A}

- 📖 **Abbott, S.L. (2007).** *Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter, Serratia, Plesiomonas, and Other Enterobacteriaceae. Manual of Clinical Microbiology.* Washington, DC: ASM press. 9:698-715.
- 📖 **Achour, H. et Khali, M. (2014).** Composition physicochimique des miels algériens: Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Sci.* 10: 127 - 136.
- 📖 **Achouri, I., Aboussaleh, Y., Sbaibi, R., Chemissi, H et Bengueddour, R. (2015).** Comparaison de la qualité physicochimique du miel de *Ziziphus* sp (Sider) et d'*Acacia* sp (Samar) consommés aux Émirats Arabes Unis (UAE). *International Journal of Innovation and Applied Studies.* 10, 184-191.
- 📖 **Adcock, D. (1962):** The effect of catalase on the inhibine and peroxyde values of various honeys. *Journal of Apicultural Research*, 1, pp 38-40.
- 📖 **Adouani, A., Rezzag et Mohcen, O. (2010):**Extraction de certain composé du miel naturel effet antimicrobien. Thèse d'etudes supérieures en biologie, universite kasdi merbah Ouargla .Pages 56.
- 📖 **Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Khiati, B., Ünal, M., et Bacha, S. (2012).** Antiradical activity and total phenolics of algerian honeys and antibacterial effect against Gram negative bacteria. *Journal of Microbial Biochemical Technology.* 4, 152-156.
- 📖 **Alexandra, N. (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes P 77-78. Thèse de Doctorat, faculté de pharmacie de Limoge.
- 📖 **Ali-Raessi, F.M., Aslani, J., Raessi, N., Ali-Akbar, H.K.Z., et Raessi, F. (2013).** «Honey plus coffee versus systemic steroid in the treatment of persistent postinfections cough: a randomized controlled trial». *Primary Care Respiratory*, vol.22, n°3, p.325-330. Pubmed
- 📖 **Amri A. (2006).** Evaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de Magistère de Biologie en Biochimie Appliquée. Université Badji Mokhtar. Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Annaba.51p.

- 📖 **Amri, A (2016).** Contribution à l'étude approfondie de Quelques miels produits en Algérie : Aspect physico-chimique et botanique. Thèse Doctorat. Université Baji Mokhtar d'Annaba.
- 📖 **Amrouche, L., et Kessi L. (2003).** Étude de la qualité physico-chimique de quelques miels. Mémoire. Ingéniorat. USTHB Alger. p 49.
- 📖 **Anchling, F. (2005).** Sommet de développement des colonies, mais quid de la première récolte. *Revue j'abeille de France*. N° 915. 07p.
- 📖 **Anonyme, (2003).** Bactériologie, Service de Bactériologie (2002-2003). Anso J., 2012 - Du miel à volonté. D2A, N°. 1, 23 p.
- 📖 **Anonyme, (2010).** infections nosocomiales : le dossier novembre 2010. direction générale de l'offre de soins- bureau qualité et sécurité des soins .Ministère du travail de l'emploi et de la santé.
- 📖 **AOAC, (1990).** Official Methods of Analysis, 15^{ème} Ed. Arlington, VA. Association of Official Analytical chemists. London.
- 📖 **Apfelbaum, M., Romon, M. et Dubus, M. (2004).** Diététique et nutrition .6^{ème} édition (c) Masson .Paris .345p.
- 📖 **Assie, B., Descottes, B. (2004).** (dir). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse.P115.
- 📖 **Assie, B. (2004).** Le miel comme agent cicatrisant. Thèse de doctorat en médecine qualification médecine générale. P70.
- 📖 **Avril, J.L., Dabernat, H., Denis, F., et Monteil, H. (2000).** Bactériologie clinique, Ellipses, Paris. 2^{ème} édition: 171-211.
- 📖 **Azzeb, F. (2014).** Contribution à l'étude de l'intérêt chimique et immunologique de miel dans le traitement de plaies.

{B}

- 📖 **Bagley, S.T., Seidler, R.J., Talbot, H.W.J., and Morrow, J.E. (1978).** Isolation of *Klebsiella* from within living wood. *Appl Environ Microbiol*. 36: 178-185.
- 📖 **Bancova, v., Dyalgerov, A., Popov, s., et Markov N.L. (1987).** A GC/MS study of the propolis phenolic constituents. *Z f naturforschung*, 42:147-151.
- 📖 **Banskota, A.H.; Nagaoka, T.; Sumioka, L.Y. (2002).** Antiproliférative activity of the Netherlands Propolis and its active principals in cancer cell lines. *J. Ethnopharmacol*. 80n:67-73.

- 📖 **Basualdo, C., Sgroy, V., Finola, M., et Maroili, J. (2007).** «Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds»...*Journal of Veterinary Microbiology*. Vol.124. P: 375-381.
- 📖 **Belas, R. (1996).** *Proteus mirabilis* Swarmer Cell Differentiation and Urinary Tract Infection in Urinary Tract Infections: Molecular Pathogenesis and Clinical Management." J.W. Warren, Editor, ASM Press: Washington, D.C.p 271-298.
- 📖 **Belay, A., Solomon, W.K., Bultossa, G., Adgaba, N. et Melaku, S. (2013).** Physicochemical properties of the Hareenna forest honey.*Bale.Ethiopia .Food Chemistry* 141:3386–3392.
- 📖 **Belhaj, O., Oumato, J., et Zrira, S. (2015).** Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev. Mar. Sci. Agron.* Vol 3: 71-75.
- 📖 **Benameur, A. (2014).** Etude physico-chimique et pollinique du miel d'eucalyptus globulus de la région de Tlemcen. Mémoire de Magister .Université de Tlemcen P: 35.
- 📖 **Béraud, J.** Le technicien d'analyse biologique. pp : 870,881-883-884-886,891-1150 1157,1161.
- 📖 **Biri, M. (1976).** l'élevage moderne des abeilles. *Ed vecchi S.A* Paris. 321p.
- 📖 **Biri, M. (1999).** Le grand livre des abeilles. L'apiculture moderne. Edition vecchi S.A paris. P:260.
- 📖 **Biri, M. (1999).** Le grand livre des abeilles, l'apiculture moderne. Paris-Edition Devecch1.P:75.
- 📖 **Bogdanov, S. (1999).** Stockage, cristallisation et liquéfaction du miel. Centre suisse de recherche apicoles. P : 05.
- 📖 **Bogdanov, S., Bierri, K., Gremod, G. (2004).** Produits apicoles, Pollen, Agroscope Liebefeld Posieux, Station fédérale de recherches en production animale et laitière (ALP), Centre de recherches apicoles. Liebefeld-Berne. 6p.
- 📖 **Bogdanov, S., Imdrof, A., Charrière, J.D., Fluri, P., et Kilchenmann, V. (2003).** Qualité des produits apicoles et sources de contamination. Centre Suisse de recherché apicoles. Station fédérale de recherché laitières, liebefeld, CH-3003. Berne P:1-2-3. Traduction Evelyne Fasnacht (Partie 1) et Michel dubois.
- 📖 **Bogdanov, S., Bierri, K., Gallman, P. (2005).** Miels monofloraux suisses, Centre de recherches apicoles. Station de recherches en production animale et laitière. 55p.
- 📖 **Bogdanov, S., Ruoff, K., et Persano, L. (2004).** Physico-chemical methods for characterization of unifloralhoney. *A review. Apidologie* vol 35:4-17.

- 📖 **Bogdanov, S et Blumer, P. (2001).** Centre suisse de recherche apicole, station fédérale de recherche laitière, Liebfeld CH-3003 Berne.
- 📖 **Bogdanov, S. (1997):** Nature and origin of the antibacterial substances in honey. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*. Vol 30 (7): 748-753.
- 📖 **Bogdanov, S., Lullmann, C., Martin, P. (2001).** Qualité du miel et norme international relative au miel. *Rapport de la commission international du miel. AbeilleCie* N° 71-4.1 2p.
- 📖 **Bouaziz, S., Ramdane, A. (2006).** Contrôle de l'état général d'hygiène Au niveau de service des urgences de L'hôpital de Med Boudiaf. P : 22.
- 📖 **Bouderherm, A., Hammoudi, E. (2009).** l'effet antimicrobien du miel, Thèse d'étude supérieures en biologie, Université Kasdi –Merbah Ouargla. Pages:47.
- 📖 **Boukhatem, L. (2013).** Etude de la sensibilité aux antibiotiques des bacilles à Gram négatif non fermentant isolés au niveau du service de réanimation du CHU de Tlemcen, Microbiologie. Université Aboubeker Belkaid Tlemcen. P10.
- 📖 **Bousakraoui, M., Zouhair, S., Soraa, N., Benaouda, A., Zerouali, k.H., Mahmoud, M. (2017).** Comité de rédaction: société marocained'infectiologie pédiatrique et de vaccinologie.
- 📖 **Bradford, P.A. (2001).** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. Vol 14: 933-951.
- 📖 **Brahmia, R., Medareg nara, S., et Tolba, I. (2016).** La résistance des bactéries aux antibiotiques dans le milieu hospitalier. Mémoire de master. Université 8 mai 1945 Guelma.
- 📖 **Brehon, S., Giraud, C., Certain, A. (2000).** L'alcool dans les médicaments; analyses des risques et de l'information des spécialités administrées par voie orale ou injectable. *Journal de Pharmacie Clinique*. Vol 1(19), 32 Pharmacothérap.
- 📖 **Byrne, A.H., Herra, C.M., Aucken, H., Keane, C.T. (2001).** Rate of carriage of *Serratia marcescens* in patients with and without evidence of infection. *Scand J Infect Dis*. Vol 33: 822-826.

{C}

- 📖 **Caillas, A. (1974).** Le rucher de rapport, Les produits de la ruche, Traité pratique d'apiculture moderne, Edition .syndicat national d'apiculture, Paris, p.497. Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol Agron Soc Environ*. Vol19 (3) :221-231.

- 📖 **Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., et Vargues, R. (1999).** Bactériologie médicale: Techniques usuelles. 2° Edition. PARIS.: 120-147.
- 📖 **Carbonelle, B., Denis, F., Marmonier, A., Pinon, G., et Vargues, R. (1987).** Bactériologie Médicale : Techniques usuelles. SIMEP SA. Paris.P146, 155.
- 📖 **Chauvin, R. (1968).** Actions physiologiques et thérapeutiques des produits de la ruche, in traité biologique de l'abeille. Tome 3. Edition masson de cie, Paris. P: 116-155.
- 📖 **Cavelier, E. (2013).** Le miel : composition et techniques de production. Mémoire de master de traduction italien-français. ESIT – Université Sorbonne Nouvelle –Paris 3. P 19.
- 📖 **Chen., Chia-Nan., Hsiao., Che-Jen., Lee., Shoei-Sheng, G.U.H, Jih-Hwa., Chiang., Po-Cheng., Huang., Chih-Chiang et Huang, Wei-Jan. (2012).**Chemical modification and anticancer effect of prenylated flavanones from Taiwanese propolis. Natural Product Research. Vol. 26, n° 2, pp. 116-124. DOI 10.1080/14786419.2010.535146. PMID: 21790499.
- 📖 **Cherbuliez, T., et Domerego, R. (2003).** L'apithérapie : médecine des abeilles, Amyris, 254p.
- 📖 **Chibane, Y., et Djillali, S. (2007).** Contrôle de qualité de quelques miels d'origine diverse et étude de leurs effets sur quelques micro-organismes. Mémoire Ingénieur USTHB Alger. 85p.
- 📖 **Chopra, I., O'Neill, A., et Miller, K. (2003).** The role of mutators in the emergence of antibiotic resistant bacteria. *Drug Resist Updates*. 6: 137-145.
- 📖 **Chouia, A. (2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire de Magistère, Université Mohamed Khider Biskra.
- 📖 **Christensen, G.D., Korones, S.B., Reed, L., Bulley, R., McLaughlin, B., Bisno, A.L. (1982).** Epidemic *Serratia marcescens* in a neonatal intensive care unit: importance of the gastrointestinal tract as a reservoir. *Infect Control*. Vol 3: 127-133.
- 📖 **Chung, K.I., Lim, T.H., Koh, Y., Song, J.H., Kim, W.S., Choi, J., et Mand Aush, Y.H. (1992).** Nosocomial pneumonial in medico-surgical intensive care unit. *J Korean Med Sci*. Vol (7): 241 251.
- 📖 **Codex Alimentarius (2001).** Revised codex standard for honey. Codex standard 12 1981, *Revue*, 1(1987). Vol (12): 1-10.
- 📖 **Codex-Alimentarius-Comission (2001).** Revised Codex Standard for honey Codex Stan 12-1981, Rev. 2 in Standards and Standard Methods. P: 12-1981

- 📖 **Couquet .Y. (2013).** Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.
- 📖 **Courvaline, P., et Leclreq, R. (2012).** AntibioGramme. 3^{ème} édition. ESKA. Paris. P: 48, 49.
- 📖 **Cousin, N. (2010).** les trésors de la ruche, Miel, gelée royale, pollen, Paris, Editions du Club France loisirs avec l'autorisation des Editions *Rustica*. 143p.
- 📖 **Cui-ping, Z., Shuai, H., Wen-ting, W., Shun, P., Xiao-ge, S., Ya-jing, L., et Fu-liang, H. (2014).** Development of high-performance liquid chromatographic for quality and authenticity control of Chinese propolis. *Journal of Food Science*. 79, 1111-1750.
- 📖 **Cuvillier, A (2015).** Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. These doctorat en pharmacie.
- 📖 **Cvek, J., Medić-Šarić, M., Vitali, D., Vedrinar-Dragojević, I., Šmit, Z. et Tomić, S. (2007).** The content of essential and toxic elements in Croatian propolis samples and their tinctures. *Journal of Apicultural Research and Bee World*. Vol 47:35-45.
- {D}**
- 📖 **Darrigol, J.L. (1979).** Le miel pour votre santé, St-Jean-de-Braye(France), Editions Dangles. 140p.
- 📖 **Davies, J. (1997).** Origins, acquisition and dissemination of antibiotic resistance determinants. Vol (207):15-27.
- 📖 **Diallo, A.A. (2013).** *Escherichia coli* pathogène et résistance aux antibiotiques dans les effluents d'origine humaine et animale : Prévalence et caractérisation avant et après traitement épuratoire. Thèse de doctorat. Université Paul Sabatier. Toulouse. p. 59.
- 📖 **Djaafri, F., Rezzoug, S. et Ounis, K. (2014).** Caractérisation physico-chimique et effet antibactérien de quelques types de miels. Ingénieur d'Etat en Agronomie, Université Kasdi Merbah d'Ouargla.
- 📖 **Djossou, J.A., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H., Alitonou, A.G., et Soumanou, M.M. (2013).** Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. *Tropicultura*. Vol (31) : 163-169.
- 📖 **Donadieu, Y. (1984).** Pollen thérapeutique naturelles. 5^{ème} Ed Maloine S.A. Paris. 3 1p.
- 📖 **Donadieu, Y. (1978).** Le miel, thérapeutique naturelle. Paris. 2^{ème} édition Maloine, p.17-8, 20-5.
- 📖 **Donadieu, Y. (1993).** La propolis thérapeutique naturelle, 4^{ème} Edition, Paris, Maloine edit. 61p.

- 📖 **Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., Hacini, Z. (2014).** Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. Laboratoire d'Agro-biotechnologie et de Nutrition en Zones Semi-arides. Université Ibn Khaldoun –Tiaret.
- 📖 **Drago, L., Mombelli, B. D. E., Vacchi, E., Fassina, M. C, Tocalli, L., Gismondo, M. R (2000).** In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *J. Chemother.* Vol 12 (5) : 390-5.
- 📖 **Dufour, J.P. (2005).** Les diarrhées du macaque cynomolgus (*Macaca fasciculaires*): essai de prophylaxie dans un élevage de l'île Maurice. Université Paul-Sabatier De Toulouse. Thèse de doctorat vétérinaire. p. 65.

{E}

- 📖 **EL Housseini, N. (2013).** Interet et application clinique de la propolis en medecine buccodentaire .Thèse de Doctorat, Université de Nantes.
- 📖 **Efem, S.E.E. (1993).** Recent advences in the management of Fournier's gangrene: preliminary observations. *Surgery*, 113, n°2, pp 200-204.
- 📖 **Efem, S.E.E. (1988).** Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery.* Vol (75): 679-681.
- 📖 **El Sohaimy, S.A., Masry, S.H.D., et Shehata, G. (2015).** Physico chemical characteristics of honey from different origins. *Annals of Agricultural Science.* Vol 60(2) : 279– 287.
- 📖 **Emmanuelle. (1996).** Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. Apiservices, Galerie Virtuelle apicole.
- 📖 **Evangelist-Rodrigues, A., Carneiro of Cunha. M (2001).** Analise comparative da qualidade da propolis colectado atraves de calços de madeira etela plastica na regiaô do byo paraeibano. *Mensagem Doce* 63 (bis).

{F}

- 📖 **Farmer, J.J., Boatwright, K.D., et Janda, J.M. (2007).** Enterobacteriaceae: Introduction and identification. *Manual of Clinical microbiology.* Washington, DC, USA: ASM press. 9th ed: 649-669.
- 📖 **Ferhoum, F. (2010).** Analyses physicochimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeilles (*Api mellifica intermissa* et *Api mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Université M'hamed Bougara Boumerdès.
- 📖 **Finola, m.s., lasagno, m.c, Marioli, j.m. (2007).** Microbiological and chemical characterization of honeys from central Argentina. *Food chem.* Vol (100):1649-1653.

📖 **Fofana. A. (2004)**, Ertrbe De La Resistance Aux Antibiotiques Des Souc'nes De *Salmonella Sn* et *Escherichia Coli* isolees de la viande de poul~t de chair au Senegal.p24.

📖 **Frankel S., Robinson G.E., Berenbaum M.R. (1998)**. Antioxydant capacity and correlated characteristics of 14 unifloral honey. *Journal of Apicultural Research*. Vol37(1) : 27-31.

{G}

📖 **Gharbi, M. (2011)**. Les produits de la ruche : origines - fonctions naturelles – composition propriétés thérapeutiques apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat, Université Claude-Bernard Lyon1.

📖 **Ghedira, K.P., Goetz, R. (2009)**. Le Jeune..Propolis. Phythothérapie. Vol (7) :100-105.

📖 **Gledel, J. (1978)**. Données épidémiologiques relatives aux toxi-infections alimentaires à *Samonella*. *Médecine et Maladies infectieuses*. Vol (5) : 250-266.

📖 **Gonnet, M. (1982)**. Le miel ; composition, propriétés, conservation. INRA station *expérimentale d'apiculture*. p : 1-18.

{H}

📖 **Hayashi, K., Komura, S., Isaji, N., Ohishi, N., Yagi, K (1999)**. Isolation of oxidative compounds from Brazilian propolis: 3, 5-dihydro-5-prenylcinnamic acid, a novel potent antioxidant. *Chemical Phamacological Bulletin*. Vol (47): 1521-1524.

📖 **Holt, J. (1986)**. Bergey's Manual of Systemic Bacteriology, Williams & Wilkins, Baltimore MD, Vol. I &II.

📖 **Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.K., et Hu, F.L. (2014)**. Recent advances in the chemical composition of propolis. *Journal molecules*. Vol (19) : 19610-19632.

📖 **Huchet, E., Coustel, J., et Guinot, L. (1996)**. Les constituants chimiques du Miel. Méthodes d'analyses chimiques - Département Science de l'Aliment. 2ème Edition. *OPIDA*, pp.168-172.

{I}

📖 **Irlande, D. (2010)**. Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Utilisation dans les plaies cutanées.

{J}

📖 **Janda, J.M., et Abbott, S.L. (2006)**. The Genera *Klebsiella* and *Raoultella*. The *Enterobacteria*. Washington, USA: ASM Press: 115-129.

📖 **Jaureguy, F. (2009)**. Host and bacterial determinants of *Escherichia coli* extra intestinal infections. *Med Sci, Paris*. Vol 25(3): 221-223.

📖 **Journal officiel des Communautés européennes. (2001).** Directive /110/ce du conseil relatif au miel du 20 décembre 2001.

{K}

📖 **Keskin, N., Selc, U.K., Hazin., Hüsnücan Baser, K., Mine Kürkc Uoglu. (2001).** Antibacterial and chemical composition of Turkish propolis. *Z Naturforsch* 56c, 1112-1115. Khenfer, a et fettal, n. (1997). Le miel. Edition el ouafak. P: 23.

📖 **Koo, H., Gomes., Rosalen., Ambrasano., Park., Cury. (2000).** In vitro antimicrobial activity on propolis and *Arnica-montana* against oral pathogens. *Arsh Oral Biol.* Vol 45 (2): 141-148.

📖 **krell, R. (1996).** Edded products from beekeeping *food and agriculture organisation of the United Nations rone* .chapitre 5.

📖 **Krell, R. (1996).** Value-Added products from beekeeping. *FAO Agricultural services. Bulletin* n0 124.

📖 **Krell, R. (2004).** Value-added products from beekeeping. Rome: *FAO agricultural services bulletin.* 395 P.

📖 **Krol, W., Czuda, Z., Scheller, S., Gabry, J., Grabies, S., Shani, J (1990).** Antioxidant property of ethanolic extract of propolis (EEP) as evaluated by inhibiting the chemiluminescence oxidation of luminol. *Biochem Int.* Vol (21): 593-597.

📖 **Küçük M., Kolayh. Karaoglu S., Ulusoy E., Baltaci C. et Candan F. (2007).** Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chem.* 100: 526-530.

📖 **Kwakman, P.H.S., et Zaat, S.A.J. (2012).** Antibacterial components of honey. *IUBMB Life. Janv.* Vol 64(1):48-55.

{L}

📖 **Lahouel, M., Boulkour, S., Segueni, N., Fillastre, J. P (2004).** The flavonoids effect against vinblastine, cyclophosphamide and paracetamol toxicity by inhibition of lipid peroxidation and increasing liver glutathione concentration. *Pathologie Biologie.* Vol (52): 314 22.

📖 **Laouar, H., et Tahar, A. (2017).** Physicochemical analysis of some honeys from humid regions in North East Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences.* Vol (10) : 50-54.

📖 **Laurent, C. (2014).** L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat. Université de Poitiers.

📖 **Lavie, P. (1975).** La propolis. Edition: Apimondia. Bucharest.

- 📖 **Le bihan, A. (2016).** Les pansements au miel dans la cicatrisation des plaies aiguës et chroniques. Thèse Doctorat.
- 📖 **Lepape, E. (2003).** Epidémiologie des infections à *Pseudomonas aeruginosa*. Annales française d'anesthésie et de réanimation. p : 520-522.
- 📖 **Livermore, D.M. (1995).** "Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance." Clin Microbiol Rev. Vol 8(4): 557-584.
- 📖 **Lomberg, H., Hanson, L.A., Jacobson, B., Leffler, H., Svanborg-edén, C. (1983).** Correlation of P blood group, vesicoureteral reflux, and bacterial attachment in patients with recurrent pyelonephritis. *New Engl. J. Med.* P: 308; 311.
- 📖 **Louveaux, J. (1968).** Composition, propriétés et technologie du miel. In: CHAUVIN R. Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie. Paris. Tome 3: 277-324

{M}

- 📖 **Mahlen, S.D. (2011).** *Serratia* infections: from military experiments to current practice. *Clin Microbiol Rev.* Vol (24): 755-791.
- 📖 **Makhloufi, C. (2011).** Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels algériens. Thèse de Doctorat. Ecole nationale supérieure agronomique d'El Harrach.
- 📖 **Makhloufi, C.H. (2010).** «Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels Algérienne». Thèse de doctorat en science agronomiques. Université Alger.
- 📖 **Mandal, M.D., Mandal, S. (2011).** its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac J Trop Biomed.* Vol 1(2):154-60.
- 📖 **Mandell, Douglas, et Bennett's. (2011).** Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th edition, Churchill Livingstone. Vol (2): 236-253.
- 📖 **Marcucci, M.C. (1995).** Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie.* Vol (26): 83-99.
- 📖 **Matsushige, K., Kusumoto, I. T., Yamamoto, Y., Kadota, S., Namba, T. (1995).** Quality evaluation of propolis. 1-a comparative study on radical scavenging effects of propolis and vespaee nidus. *J Trad Med.* Vol (12): 45-53.
- 📖 **Mayer, K., Opal, S., et Medeiros, A. (2000).** Mechanisms of antibiotic resistance. In: **Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., et Nacoulma, O.G. (2005).** Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *Acta Vet. Brno.* Vol (74) : 147-152.
- 📖 **Mazrou, A. (2008).** Effet de la température sur l'évolution de l'hmf dans les miels algériens. Mémoire de fin d'études en vue de l'obtention du diplôme d'études supérieures en biologie. Université Iben-Khaldoun Tiaret.

- 📖 **Mekious, S., Houmani, Z., Bruneau, E., Masseaux, C., Guillet, A., et Hance, T. (2015).** Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol.Agron. Soc. Environ.* **19**, 221-231.
- 📖 **Mendaci, A., et Mihoubi, S. (2015).** Profil de sensibilité aux antibiotiques des Entérobactéries uropathogènes (*Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae*). Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine.
- 📖 **Merah, M.; Bachagha, M., et Boudershem. (2010).** Etude de l'effet antimicrobienne de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algériennes ; Article. Laboratoire de Bioressources Sahariennes : Préservation et Valorisation, Département des Sciences de la Nature et de la Vie, Université Kasdi Merbah Ouargla.
- 📖 **Meziani, M. (2012).** Contribution du diagnostic biochimique bactérien dans l'établissement des parentés phylogénétiques : Cas des *Entérobactéries* et *Pseudomonas*. Mémoire de Magister .Université Mentouri.Constantine
- 📖 **Michel, D. (2013).** les infections nosocomiales et leur prevention par l'hygiene hospitaliere ; DCEM 1.
- 📖 **Mickaël, B. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat en pharmacie. Université de limoges.
- 📖 **Minor, L. (1990).** San sonetti Bacilles à gram negative aérobie-anaérobies facultatifs. *Bacteriologie medicale* .2ed: Med science .Flammration. P.555-594.
- 📖 **Molan, P.C. (1992).**The antibacterial activity of honey: 1.The nature of the antibacterial activity. *Bee World*. Vol 73(1):5-28.
- 📖 **Molan, P.C. (2012).** The ant-inflammatory actvity of honey, [en ligne]. Disponible sur <www.academia.edu> (Consulté le 29.04.18).
- 📖 **Moreno, M. I. N., Isla, M. I., Sampietro, A. R., Vattuone, M. A (2000).** Comparaison of the free radical scavenging activity of propolis from several regions of Argentina. *J Ethnopharmacology*. Vol (71) : 109-114.
- {N}
- 📖 **Nair, S. (2014)** .Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse de Doctorat en Biologie. Université d'Oran. 192p.
- 📖 **Nanda,V., Sarkar, B.C., Sharmab, k., et Bawa, A.S. (2003).** Physicochimicol properties and estimation of miniral content in honey produced from different plants in northen india. *Journal of food composition and analysis*. Vol (16): 613-619.
- 📖 **Nassar, H.M., Li, M., Gregory, R.L. (2012).** Effect of honey on Streptococcus mutans growth and biofilm formation. *Appl Environ Microbiol*.Vol 78(2):536-40.

- 📖 **Nauciel, C. (2000).** Bactériologie médicale. Masson – Pris. Vol 83-86-65,68-125-203.
- 📖 **Ndayisabag, Baziral, Habonimanae. (1992):** Traitement des plaies par le miel, observations. La Presse Médicale. Vol 21 (32) : 1515-8.
- 📖 **Nicolaÿ, J. (2014).** Perspectives d'avenir en apithérapie à l'officine. Thèse de Doctorat. Université Angers.

{O}

- 📖 **Olaitan, P.B., Adeleke, O.E., Ola, I.O. (2007).** Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *Afr Health Sci.* Vol 7(3):159-65.
- 📖 **Oroian, M., Amariei, S., Escriche, I., et He Gutt, G. (2013)** . Rheological Aspects of Spanish Honeys. *Food Bioprocess Technol.* Vol 6:228 –241.
- 📖 **Ouchemoukh, S. (2003).** Caractérisation physico-chimique d'échantillons de miel d'origine locale. Thèse de magister en biochimie-microbiologie. Université Abderrahmane Mira Bejaia. 30p.
- 📖 **Ozcan, M.D., et Anslam, D.A. (2006).** Phenolic profiles and antioxidant capacities of Chinese unifloral honeys from different botanical and geographical sources. *Food Chem.* Vol (99):24-27.

{P}

- 📖 **Philippe, R.J.M. (1994).** Le guide de l'apiculteur. Paris: Episud.
- 📖 **Pérez-Arquillue, C., Conchello, P., Ariño, A., Juan, T. et Herrera, A. (1995).** Physico-chemical attributes and pollen spectrum of some unifloral Spanish honeys. *Food Chem.* Vol (54):167–172.
- 📖 **Pesenti, M.E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J.C., Tegoni, M., et Cambillau, C. (2008).** Structural basis of the honeybee PBP pheromone and pH- induces conformational change. *Journal of Molecular Biology.* Vol 380, 158-169.
- 📖 **Podschun, R., et Ullmann, U. (1998).** *Klebsiella spp.* as nosocomial pathogens: epidemiology, taxonomy, typing methods, and pathogenicity factors. *Clin Microbiol Rev.* Vol (11): 589-603.
- 📖 **Prescott, L.M., Harley, J.P., Klein, D.A. (1995).** Microbiologie. De Boeck ed. p 1014.

{R}

- 📖 **Rajoelina, R T, (2008).** Caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de quelques variétés de miel de Madagascar. Mémoire de D.E.A en biochimie en vue de l'obtention du Diplôme d'Etudes Approfondies. P : 11.

- 📖 **Rebai h, et Saidi sief Ch, (2017)**. Identification d'une souche cariogène Streptococcus sp et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche, Mémoire de Master. Université des Frères Mentouri Constantine. P 21-31, 42.
- 📖 **Remington, J.S., et Schimpff, S.C. (1981)**. Occasional notes. Please don't eat the salads. *N Engl JMed*. Vol (304):p344-5.
- 📖 **Rhajaoui, M., Oumzil, H., Faid, M., Lyagoubi, M., Elyachioui, M. (2001)**. Antibacterial activity of a Moroccan propolis extracts. *Sciences letters*. Vol 3 (3) : 201-207
- 📖 **Robin, F., Gibold, L., and Bonnet, R. (2012)**. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne. *Revue Francophone des laboratoires*. Vol (445): 47-58.
- 📖 **Roman, P., et Gauthier, J.P. (2015)**. Les Abeilles et la fabrication du miel; Editions de l'Astronome, 2009. M. Cuvillier Alexandre Miel, Propolis, Gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire.
- 📖 **Rossant. A. (2011)**. le miel, un compose complexe aux proprietes surprenantes,thèse de doctorat en pharmacie. Universite de limoges france faculte de pharmacie. pages 133.
- {S}
- 📖 **Sahly, H., Ancken, H., Benedi, V.J., Forestier, C., Fussing, V., Hansen, D.S, Ofek, I.,et Podshun, R. (2004)**. Impairment of Respiratory Burst in polymorphonuclear Leukocytes by Extended-Spectrum Beta-lactamase-Producing Strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. Vol (23): 20-26.
- 📖 **Schweitzer, P. (2004)**. Deux ans ? *Revue l'abeille de France* N°988. Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole.05p.
- 📖 **Schweitzer, P. (2005)**. Encore des miels hors normes. *Revue l'abeille de France* N°917. Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 03p.
- 📖 **Schweitzer, P. (2005)**. miel étranger. *Revue l'abeille de France* N°920. Laboratoire d'analyse et d'écologie apicole. 04p.
- 📖 **Segueni, N. (2011)**. Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse de Doctorat. Université Mentouri de Constantine.
- 📖 **Sib, A. (2007)**. «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe». Mémoire de Master en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie).
- 📖 **Stone, P.W., Gupta, A., Loughrey, R.N., Della-Latta, P.H., Cimiotti, R.N., Larson, E., Rubenstein, D., et Saiman, L. (2003)**. Attributable Coast and Length of Stay of an

Extended Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Outbreak In ANeonatal Intensive Care Unit. Vol (24): 601-606.

📖 **Subrahmanyam, M. (1998).** A prospective randomised clinical and histological study of superficial burn wound healing with honey and silver sulfadiazine. *Burns*. Vol 24 (2): 157-161.

📖 **Subrahmanyam, M. (1996).** Honey dressing versus boiled potato peel in the treatment of burns; a prospective randomized study. *Burns*. Vol 22 (6): 491-493.

{R}

📖 **Tagliacollo, V.A., and Orsi, R.O. (2011).** Quality of propolis commercialized in the informal market. *Journal Ciénciae Tecnologia d'Alimentos*. Vol (31): 752-757.

📖 **Tanaka, T., Takahashi, H., Kobayashi, J.M., Ohyama, T., Okabe, N. (2004).** A nosocomial outbreak of febrile bloodstream infection caused by heparinized-saline contaminated with *Serratia marcescens*, Tokyo, 2002. *Jpn J Infect Dis*. Vol (57): 189-192.

📖 **Tarrab, A., Recamales, et Hernans, D. (2004).** Characterisation of spanish thym honeys by their physico-chemical characterisation and mineral content. *Food chemistry*. Vol 65: 34-37.

📖 **Terrab, A., González, A.G., Díez, M.J., et Heredia, F.J. (2003).** Characterization of Moroccan unifloral honeys using multivariate analysis, *Rev, Europ Food Resea and Techn*, 218.pp 88–95.

📖 **Terrab, A., Díez, M.J., Heredia, F.J. (2003).** Palynological, physico-chemical and color characterization of Moroccan honeys: i. River red gum (*eucalyptus camaldulensis* dehn) honey. *International journal of food science and technology*. Vol (38): 379–386.

📖 **Torres, V.A., Fang, F.C. (2001).** *Salmonella* evasion of the nadph phagocyte oxidase. *Microbes infect*.3,1313-132010.1016/s1286-4579 (1)01492-7.

📖 **Tosi, E.A., Ciappini, M.C., Cazzolli, A.F., et Tapiz, L.M. (2006).** Physico-chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *Apiacta.*. Vol (41): 110-120.

{V}

📖 **Vache et Gonnet. (1985).** Le gout de miel.

📖 **Vera, Nancy, Solorzano, Eliana, Ordoñez, Roxana, Maldonado, Luis, Bedascarrasbure, Enrique et ISLA, María I. (2011).** Chemical composition of Argentinean propolis collected in extreme regions and its relation with antimicrobial and antioxidant activities. *Natural Product Communications*. Vol. 6 (6): 823-827. PMID: 21815419.

📖 **Vora, S., et Auckenthaler, R. (2009).** Que signifie «bêtalactamases à spectre élargi» en pratique? *Rev Med Suisse*. Vol (5): 1991-1994.

{W}

📖 **White J.W. (1979).** Composition of Honey, Ed. Crane Honey: A Comprehensive Survey. Heinemann. London .pp 157–158.

{Y}

📖 **Yaghoobi R., Kazerouni A., Kazerouni O. (2013).**Evidence for Clinical Use of Honey in Wound Healing as an Ant-bacterial, Ant-inflammatory, Ant-oxidant and Ant-viral Agent. *A Review. Jundishapur J Nat Phar Prod*. Vol 8 (3):100-4.

📖 **Yamauchi, R., Kato, K., Oida, S., Kanaeda, J., Ueno, Y (1992).** Benzyl caffeate, an antioxidative compound isolated from propolis. *Bioscience Biotechnology and biochemistry*. Vol (56) : 1321-2.

📖 **Yue Yew, J. (2015).** Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*. Thèse de doctorat chirurgie dentaire. Université de Bordeaux. p 23.

{Z}

📖 **Zeghad, N. (2009).** Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*). Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine.

📖 **Zhiri, A., et Baudoux, D. (2008).** Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies, Luxembourg, Inspir développement S.A., 84p.

📖 **Zogheib, E., et Dupont, H. (2005).** Entérobactéries multirésistantes. *Elsevier SAS*. Conférences d'actualisation. 153-165.

2. Sites web:

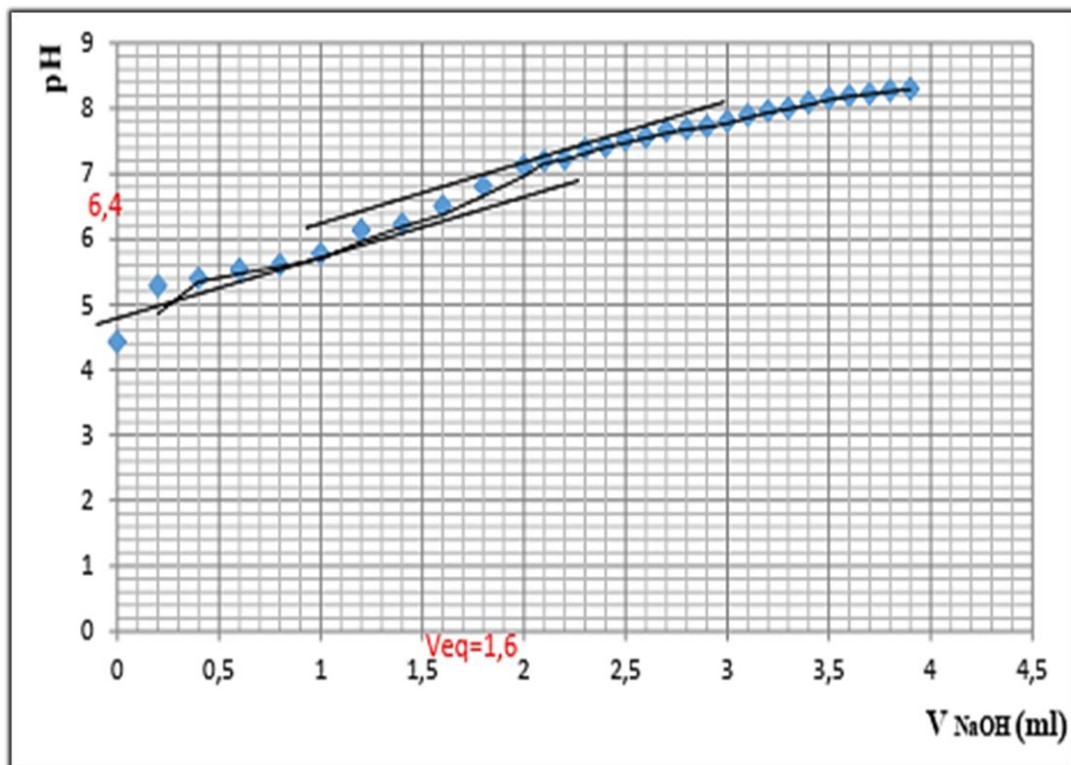
1. www.Beekeeping.com
2. www.01santé.com
3. www.biologiq.nl
4. 15bis Antibacterial dressing MEDIHONEY® [en ligne]. Disponible sur < outsideus.dermasciences.com > (Consulté le 12.04.2018).

Annexe

Annexe

Annexe 1 : Table de Chataway (1935).

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau %
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18.4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1.44795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15.2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

Annexe 2 : Courbe de variation du pH en fonction du volume de NaOH.**Annexe 3** : Coloration de Gram.**1. Préparation de frottis**

- Mettre une goutte de l'eau distillée sur la lame.
- Prélever une colonie bien isolée de la bactérie.
- Mélanger la colonie avec l'eau distillée sur la lame, puis l'étaler en couche mince et régulière.
- Sécher et fixer par la chaleur, puis laisser refroidir.

2. Coloration

- Verser le Violet de Gentiane sur la lame, laisser en contact 1 minute.
- Jeter le colorant et rincer à l'eau.
- Faire couler de l'alcool-acétone sur la préparation environ 15 secondes, puis rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Fuchsine, laisser agir de 30 secondes puis laver abondamment à l'eau.
- Sécher délicatement avec du papier buvard.

- Observer à l'immersion en pleine lumière, mettre une goutte d'huile à immersion sur la lame. Observer à l'objectif x100.

Tableau 4 : Concentrations, diamètres critiques pour l'appréciation de la sensibilité/Résistance des antibiotiques à tester pour *S.aureus* Gram positive (CA-SFM, 2013).

	ATB	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
	Charge du disque	30µg	10µg	10µg	30µg	10µg	15µg	30µg	10µl/6µg	1µg	200µg	30µg	25µg	30µg	10µg	10µg	1.25/23.75µg	10µg	30µg
<i>S. aureus</i>	S	≥23	≥23	≥29	≥22	≥15	≥23	≥17	≥29	≥20	16	≥18	-	≥18	-	-	-	≥24	≥17
	I	-	20-22	-	-	13-14	14-22	-	-	-	13-15	14-17	-	15-17	-	-	-	-	15-17
	R	<23	<21	<28	<21	<12	<13	-	<28	-	<12	<13	-	<14	-	-	-	<24	<14

Tableau 05 : Concentrations, diamètres critiques pour l'appréciation de la sensibilité/Résistance des antibiotiques à tester pour les bactéries Gram négative (CA-SFM, 2013).

	AT	C	TE	AMP	CX	GEN	E	VA	P	OX	FO	K	AMX	CZ	S	CL	SXT	FA	AK
	Charge du disque	30µg	10µg	10µg	30µg	10µg	15µg	30µg	10µl/60µg	1µg	200µg	30µg	25µg	30µg	10µg	10µg	1.25/23.75µg	10µg	30µg
Entérobactérie	S	≥18	≥15	≥17	≥18	≥17	-	-	-	-	≥16	≥18	≥18	≥23	≥15	-	≥16	-	≥18
	I	13-17	12-14	14-16	15-17	15-16	-	-	-	-	13-15	14-17	14-17	20-22	12-14	-	11-15	-	16-17
	R	<12	<11	<13	<14	<14	-	-	-	-	<12	<13	<13	<19	<11	-	<10	-	<15
<i>P. aeruginosa</i>	S	≥18	≥19	-	-	≥15	-	-	-	-	>14	-	-	-	-	≥11	≥16	-	≥17
	I	15-18	15-18	-	-	13-14	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	11-15	-	15-16
	R	<12	<14	-	-	<12	-	-	-	-	<14	-	-	-	-	<10	<10	-	<15

