

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE MOULOU D MAMMERI DE TIZI OUZOU

FACULTE DES SCIENCES BIOLOGIQUES ET DES SCIENCES
AGRONOMIQUES

DEPARTEMENT DE BIOCHIMIE – MICROBIOLOGIE



MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

En vue de l'obtention du Diplôme de Master Académique

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie microbienne

THÈME

Caractérisation et recherche d'effet synergique entre le miel de thym (*Thymus vulgaris* L.) et les antibiotiques.

Réalisé par :

Mr BELHOUAS Djamel et Mlle LATTARI Dehbia

Devant les membres de jury :

Président :	Mr SMAIL R.	MAA	UMMTO
Promoteur :	Mr OUELHADJ A.	Professeur	UMMTO
Examinatrice :	Mme BENZAOUZ K.	MCB	UMMTO

*« Le succès n'est pas la clé du bonheur.
Le bonheur est la clé du succès. Si vous
aimez ce que vous faites, vous
réussirez »*

- Albert Schweitzer

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

1ère partie : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur le miel.....	3
1 Définition	3
2 Origine du Miel.....	3
2.1. Nectar.....	3
2.2. Miellat	3
3 Types de Miels	4
3.1. Miels monofloraux	4
3.2. Miels polyfloraux	4
4 Processus de fabrication.....	4
4.1. Trophallaxie	5
4.2. Enrichissement du miel	5
4.3. Evaporation du miel.....	5
5 Composition chimique du miel	6
5.1. Eau	6
5.2. Hydrates de Carbone.....	6
5.3. Acides	7
5.4. Acides aminés, protéines, enzymes	7
5.5. Vitamines	7
5.6. Sels minéraux	8
6 Autres composantes du miel	8
6.1. Peroxyde d'hydrogène	8
6.2. Polyphénols	8
6.3. Hydroxymethylfurfural.....	8

Table des matières

7	Propriétés biologiques	9
	7.1. Propriétés antibactériennes	9
	7.2. Propriétés antivirales	9
	7.3. Propriétés antioxydantes.....	9
	7.4. Propriétés antifongiques.....	9
Chapitre II : Généralités sur les antibiotiques		10
1	Définition	10
2	Historique des antibiotiques	10
3	Majeures familles d'antibiotiques	10
	3.1. Bêta-lactamines	10
	3.2. Aminosides.....	10
	3.3. Macrolides.....	10
	3.4. Quinolones	11
	3.5. Tétracyclines	11
4	Mécanismes d'action des antibiotiques	11
5	Concentration minimale inhibitrice (CMI)	12
6	Concentration minimale bactéricide (CMB)	12
Chapitre III : Bactéries résistantes		13
1	Définition	13
2	Histoires de la résistance aux antibiotiques	13
3	Mécanisme de résistances	14
	3.1 Résistance intrinsèque	14
	3.2. Résistance acquise	14
	3.3. Multi résistance.....	14
4	Types de mécanismes de résistances	14
	4.1. Inactivation enzymatique de l'antibiotique.....	14
	4.2. Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique	15

Table des matières

4.3. Pompes à efflux	15
4.4. Perméabilité réduite	16
4.5. Protection de la cible de l'antibiotique	16
4.6. Piégeage de l'antibiotique.....	16

2ème partie : Partie expérimentale

I. Matériels et méthodes	21
II. Analyses effectués	22
II.1 Analyses physico-chimiques.....	23
II.1.1. Potentiel d'hydrogène.....	23
II.1.2. Acidité libre	24
II.1.3. Teneur en eau	25
II.1.4. Degré de Brix.....	26
II.1.5. Détermination des hydroxymethylfurfural (HFM)	27
II.1.6. Dosage des composés phénoliques du miel.....	30
II.1.7. Dosage des flavonoïdes	31
II.1.8. Détermination de l'activité antioxydante (Test DPPH)	32
II.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne	34
II.2.1. Méthode de diffusion à travers des disques de papier wattman.....	35
II.2.2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice	35
II.2.3. Préparation des combinaisons entre le Miel de thym et les Antibiotiques.....	36
III. Résultats et discussion	39
III.1. Analyses physico-chimiques	39
III.1.1. Potentiel d'hydrogène (pH).....	39
III.1.2. Acidité libre.....	40
III.1.3. Teneur en eau.....	41
III.1.4. Matière sèche Degré de Brix	42
III.1.5. Teneur en hydroxymethylfurfural (HMF).....	43
III.1.6. Dosages phytochimiques.....	45

Table des matières

III.1.6.1. Dosage des polyphénols totaux	45
III.1.6.2. Dosage des flavonoïdes totaux.....	46
III.1.7. Détermination de l'activité antioxydante par le radical DPPH	47
III.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne	48
III.2.1 Sensibilités des souches bactériennes vis-à-vis du miel utilisé	50
III.2.2 Sensibilités des souches bactériennes aux différentes combinaisons de miel et d'antibiotiques.....	53
III.2.2.1 Miel à 25% et antibiotiques à 75%	53
III.2.2.2 Miel à 50% et antibiotiques à 50%	57
III.2.2.3 Miel à 75% et antibiotiques à 25%	61
IV. Discussion des résultats	65
IV.1 Effet synergique	65
IV.2 Effet antagoniste.....	66
V. Analyses Statistiques	67
V.1 CMI en fonction de la souche	67
V.2 CMI en fonction des combinaisons entre le miel et les antibiotiques	68
V.3 CMI en fonction des interactions entre les antibiotiques et les souches	67
V.4 Analyse Factorielle des Correspondances (AFC).....	68
Conclusion.....	73
Références Bibliographiques	
Annexes	

Liste des abréviations

AFC	Analyse Factorielle des Correspondances
AG	Acide Gallique
AlCl₃	Trichlorure d'Aluminium
CLSI :	Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CMB :	Concentration Minimale Bactéricides
CMI :	Concentration Minimale Inhibitrice
DPPH :	2,2-diphényl 1-picrylhydrazyle
FSM :	Fenêtre de Sélection de Mutants
H₂O₂ :	Peroxyde d'Hydrogène
HDL :	Lipoprotéine de haute densité
HMF :	Hydroxyméthyl Furfural
IR :	Indice de Réfraction
MDR :	Résistance aux Médicaments Multiples (en anglais.....)
mEq :	Milliéquivalent
Na₂CO₃ :	Carbonate de Sodium
NaOH :	Hydroxyde de sodium
NO :	Monoxyde d'azote
pH :	Potentiel hydrogène
SDR :	Résistance Spécifique aux Médicaments
UFC :	Unité formant colonie
UV visible :	Ultraviolet-visible

Liste des figures

Figure 01 : Production de nectar par une fleur de camellia	03
Figure 02 : Une abeille captant la sécrétion d'un puceron.....	04
Figure 03 : Echange de nourriture par trophallaxie	05
Figure 04 : Composition moyenne du Miel	06
Figure 05 : Schéma récapitulatif sur différents mécanismes d'action des antibiotiques sur les bactéries.....	12
Figure 06 : Historique de la découverte des antibiotiques et le développement de la résistance aux antibiotiques	13
Figure 07 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négative	17
Figure 08 : Echantillon de miel de thym.....	21
Figure 09 : Différentes analyses effectuées sur l'échantillon de miel	22
Figure 10 : Protocole de mesure du pH des miels	23
Figure 11 : Protocole de mesure de l'acidité libre.....	25
Figure 12 : Réfractomètre utilisé pour la mesure de l'indice de réfraction et le degré de Brix	25
Figure 13 : Protocole de mesure de la teneur en eau et de l'indice de Brix.....	26
Figure 14 : Protocole de dosage des hydroxyméthylfurfural (HMF)	29
Figure 15 : Protocole de dosage des polyphénols totaux.....	30
Figure 16 : Protocole de dosage des Flavonoïdes.....	31
Figure 17 : Image représentative de la solution du DPPH préparée.....	32
Figure 18 : Protocole de l'activité antioxydante.....	33
Figure 19 : Préparation des combinaisons entre le miel de thym et les antibiotiques	37
Figure 20 : Effet antibactérien du miel pur sur <i>Escherichia coli</i>	50
Figure 21 : Effet antibactérien du miel pur sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	50
Figure 22 : Effet antibactérien du miel pur sur <i>Staphylococcus aureus</i>	51
Figure 23 : Effet antibactérien du miel pur sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	51
Figure 24 : Effet antibactérien du miel pur sur <i>Bacillus cereus</i>	51
Figure 25 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur <i>Escherichia coli</i>	53
Figure 26 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	54

Liste des figures

Figure 27 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur <i>Staphylococcus aureus</i>	55
Figure 28 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% Sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	55
Figure 29 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% Sur <i>Bacillus cereus</i>	56
Figure 30 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur <i>Escherichia coli</i>	57
Figure 31 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	58
Figure 32 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur <i>Staphylococcus aureus</i>	59
Figure 33 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% Sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	59
Figure 34 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% Sur <i>Bacillus cereus</i>	60
Figure 35 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur <i>Escherichia coli</i>	61
Figure 36 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	62
Figure 37 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur <i>Staphylococcus aureus</i>	62
Figure 38 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% Sur <i>Klebsiella pneumoniae</i>	63
Figure 39 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% Sur <i>Bacillus cereus</i>	64
Figure 40 : Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) de variables	68

Liste des tableaux

Tableau I : Proportions des différents sucres constituants des miels.....	07
Tableau II : Caractérisation des différentes familles d'antibiotique	11
Tableau III : Préparation de la solution aqueuse du miel	27
Tableau IV : Souches bactériennes testées vis-à- vis de l'échantillon de miel	34
Tableau V : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme	34
Tableau VI : Préparation des combinaisons de miel avec les antibiotiques.....	37
Tableau VII : Paramètres physico-chimiques du miel analysé	38
Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibitions des souches sur lest témoins positifs.....	47
Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibitions du méthanol vis-à-vis des souches bactériennes testées.....	48
Tableau X : Diamètres des zones d'inhibitions de l'effet du miel en combinaisons avec les antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes testées.	49

INTRODUCTION

Le miel de thym est connu pour ses caractéristiques distinctives et son arôme intense. Il est produit par les abeilles à partir du nectar collecté des fleurs de *Thymus vulgaris*, une plante herbacée aromatique de la famille des Lamiacées, largement répandue dans les régions méditerranéennes. Cette plante, communément appelée thym, est appréciée pour ses qualités culinaires et ses bienfaits pour la santé. Ce miel unique, avec ses nuances florales et sa texture crémeuse, possède une longue histoire d'utilisation à la fois en cuisine et en médecine traditionnelle à travers différentes cultures (Halat et *al.*, 2022).

De plus, il est réputé pour ses multiples vertus thérapeutiques. Il possède des propriétés antiseptiques et antibactériennes puissantes, ce qui en fait un allié précieux pour renforcer le système immunitaire et combattre les infections respiratoires. Ce miel est également reconnu pour ses effets cicatrisants et apaisants, aidant à la guérison des plaies et des brûlures légères. De plus, il favorise la digestion et peut soulager les maux de gorge grâce à ses propriétés anti-inflammatoires. Des études ont démontré que le miel de thym peut être efficace dans la lutte contre certaines bactéries résistantes aux antibiotiques (Manyi-Loh et *al.*, 2011 ; Manzoor et *al.*, 2013).

Cependant, la mal utilisation des antibiotiques au fil des décennies a conduit à de graves conséquences pour la santé mondiale. Les prescriptions excessives et souvent injustifiées d'antibiotiques, ont contribué à l'épuisement de leur efficacité. Cette utilisation irresponsable a perturbé l'équilibre naturel des bactéries dans le corps humain et l'environnement, créant des conditions propices à l'émergence de souches bactériennes résistantes (Ventola, 2015).

En raison de l'augmentation alarmante de l'antibiorésistance, la recherche de solutions alternatives aux antibiotiques traditionnels est devenue une priorité mondiale. Le miel de thym, avec ses puissantes propriétés antibactériennes, offre une réponse prometteuse à ce défi. En particulier, certains chercheurs ont souligné le rôle crucial du peroxyde d'hydrogène, produit par l'action de la glucose-oxydase, dans l'activité antimicrobienne du miel (El-Banna et *al.*, 2014). Ce composé permet au miel de thym de combattre efficacement diverses bactéries, y compris celles résistantes aux traitements conventionnels. Ainsi, l'intégration du miel de thym dans les soins de santé pourrait réduire la dépendance aux antibiotiques et aider à freiner la propagation de l'antibiorésistance, tout en offrant une solution naturelle et efficace pour traiter les infections (Basualdo et *al.*, 2011).

Pour cela, notre travail est mené en vue d'étudier la qualité physico-chimique et les activités antioxydantes et antibactériennes de miel de thym provenant de Biskra en Algérie.

Les objectifs de cette recherche sont multiples :

- Caractérisation des paramètres physico-chimiques du miel de thym.
- Evaluer l'activité antioxydante du miel.
- Estimer l'effet antimicrobien du miel pur et en combinaisons avec des antibiotiques vis-à-vis de : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus*.

SYNTHÈSE
BIBLIOGRAPHIQUE

Chapitre I : Généralités sur Le Miel

1 Définition

Le miel est un produit sucré naturellement élaboré par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar des fleurs. Ou bien à partir du miellat (Bogdanov, 2009).

2 Origine du Miel

2.1. Nectar

Le nectar est une substance sucrée produite par les fleurs grâce à leurs glandes nectarifères ou nectaires (Figure 01). Cette sécrétion est une caractéristique importante des fleurs pollinisées par des insectes ou des oiseaux (Rinderer et Collins , 2019).



Figure 01 : Production de nectar par une fleur de camellia (Azuma, 2006).

Le nectar est principalement composé de sucres, avec des éléments tels que des acides organiques, des protéines, et des composés inorganiques. Chaque plante produit un nectar unique, influençant la saveur du miel (Bonté et Desmolière, 2013).

2.2. Miellat

Le miellat est une substance sécrétée par les cochenilles et les pucerons, parasites des végétaux, qui se nourrissent de la sève des arbres et des arbustes et éliminent l'excès de sucres et d'eau. Les abeilles collectent ce miellat des plantes pour en faire du miel (Figure 02). La production de miellat varie d'une année à l'autre en fonction de la présence des parasites et des conditions climatiques (Adam, 2011 ; Cavelier, 2013).



Figure 02 : Une abeille captant la sécrétion d'un puceron (Dawidi, 2007)

3 Types de Miels

À ce jour, environ 300 variétés de miel ont été identifiées. Ces variétés existent en raison de types variables de nectar récolté par les abeilles (Helmy et El-Soud, 2012).

3.1. Miels monofloraux

Les miels monofloraux sont issus d'une seule espèce végétale, nécessitant une floraison abondante et concentrée. Pour être qualifié de mono-floral, un miel doit contenir au moins 80 % de nectar provenant de cette plante. Des exemples bien connus incluent le miel d'acacia et de lavande, tandis que des variétés plus rares comme le miel de framboisier ou de thym sont limitées en raison de leur territoire restreint (Bonte et *al.*, 2013 ; Clement, 2002 ; Desmouliere et *al.*, 2013).

3.2. Miels polyfloraux

Les miels polyfloraux sont obtenus à partir du nectar de plusieurs espèces végétales, sans qu'une dominante ne se dégage. Par exemple, le miel de forêt résulte d'un mélange de nectars provenant de diverses plantes. Contrairement aux miels monofloraux, ils ne sont pas identifiés par une fleur spécifique, mais plutôt par leur région de production ou leur lieu de récolte, comme la forêt, et peuvent être classés selon la saison (Avisse, 2014 ; Bonte et *al.*, 2013 ; Clement, 2011).

4. Processus de fabrication du miel

La transformation du nectar en miel par les abeilles commence dès le retour de l'abeille butineuse à la ruche. Les réactions enzymatiques dans son tube digestif, notamment avec l'invertase, transforment le saccharose en glucose, fructose et autres sucres simples, facilitant l'assimilation du miel (Desmouliere et *al.*, 2013).

4.1. Trophallaxie

Après son retour à la ruche, l'abeille butineuse transmet le nectar aux abeilles ouvrières. Ces dernières le régurgitent à tour de rôle, le mélangeant avec leurs sucs digestifs pour une digestion optimale des sucres. Ce processus, connu sous le nom de trophallaxie, représente un échange de nourriture au sein de la colonie, formant ainsi une chaîne alimentaire (Contrera et *al.*, 2010).

La figure ci-dessous représente l'échange de nourriture entre les abeilles par trophallaxie :



Figure 03 : Echange de nourriture par trophallaxie (Tourneret, 2015).

4.2. Enrichissement du miel

L'accumulation des sécrétions salivaires riches en enzymes dans le nectar réduit sa teneur en eau, favorisant le développement de la richesse enzymatique et du pouvoir antiseptique du miel. Cette transformation modifie la composition du nectar, permettant la synthèse de sucres plus complexes comme l'érylose ou la raffinose (Ballot-flurin, 2009 ; Desmouliere et *al.*, 2013).

4.3. Evaporation du miel

Le processus de conservation du miel implique une déshydratation soignée, où le nectar est régurgité, étalé sur la langue des abeilles et ventilé dans les alvéoles. Une fois sa concentration en eau réduite à 17-18 %, le miel est scellé dans la cellule avec de la cire. Ce miel, stable et énergétique, sert également d'isolant thermique et est résistant à la fermentation (Marchenay et Berard, 2007 ; Ravazzi, 2007 ; Unaf, 2013).

5 Composition chimique du miel

La composition du miel dépend de facteurs tels que les plantes butinées, la race des abeilles, l'état de la colonie et les conditions climatiques. Sa couleur varie en fonction des plantes visitées, allant du blanc au noir et à différentes teintes de jaune et d'orangé (Cavelier, 2013 ; Rossant, 2011).

La figure suivante résume la composition chimique du miel :

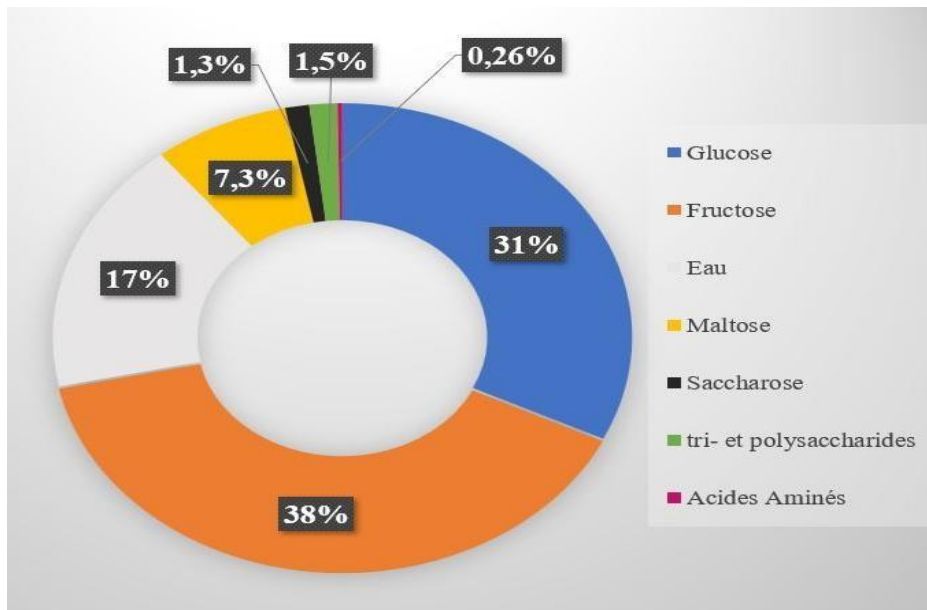


Figure 04 : Composition chimique du Miel (Bruneau, 2002).

5.1. Eau

Les miels ont une teneur en eau de 14 à 25 %. Un miel trop épais est difficile à extraire et à conditionner, tandis qu'un miel trop liquide riche en eau risque de fermenter. L'optimum est d'environ 17 % (Avisse, 2014).

5.2. Hydrates de Carbone

Ils forment à eux seuls 95% et 99% de la matière sèche (Da Silva et al., 2016).

Constitué principalement de monosaccharides tels que le saccharose, le maltose et d'autres tels que l'erlose et la mélézitose. Le glucose et le fructose sont produits par l'action de l'invertase sur le saccharose, tandis que les autres sucres semblent être produits par les plantes qui ont été butinées (Kamal et Klein, 2011).

Les proportions des différents sucres constituant des miels sont représentées dans le Tableau suivant :

Tableau I : Proportions des différents sucres constituant des miels (Schweitzer, 2012).

Sucres	Proportion (%)
Fructose	30-50
Glucose	20-42
Saccharose	1-15
Turanose	0,5-2,5
Maltose	1-3
Isomaltose	1-3

5.3. Acides

Le miel contient principalement de l'acide gluconique, avec la possibilité de trouver d'autres acides comme l'acide acétique et l'acide butyrique. Ces acides organiques influencent la couleur, la saveur et les propriétés chimiques du miel (Da silva et *al.*, 2016 ; Mato et *al.*, 2006).

5.4. Acides aminés, protéines et enzymes

Le miel est riche en acides aminés et en protéines, provenant de l'abeille et des plantes butinées pendant sa maturation. Il contient la protéine Bee-defensine 1 et est particulièrement riche en proline, un indicateur de sa qualité. Les enzymes comme l'invertase, la catalase et la glucose oxydase, provenant du nectar ou de la salive de l'abeille, sont également présentes dans le miel (Domergo, 2009 ; Gharbi, 2011 ; Iglesias et *al.*, 2012 ; Truzzi et *al.*, 2014).

5.5. Vitamines

Les grains de pollen contenus dans le miel apportent des vitamines du groupe B, importantes pour la régénération cellulaire et l'hydratation de la peau. Par exemple, la vitamine B5 favorise la cicatrisation des plaies et renforce les propriétés cicatrisantes du miel en stimulant la croissance cellulaire et la granulation des lésions. Renferme aussi des vitamines liposolubles et parfois de la vitamine C, elle stimule la synthèse de collagène, améliorant la texture de la peau (Nusgens et *al.*, 2001 ; Lequet, 2010).

5.6. Sels minéraux

Environ la moitié des minéraux qui composent le miel est du potassium. On trouve également du calcium, sodium, cuivre, fer, magnésium, du soufre, du chlore ainsi que des oligoéléments. Les miels de miellat contiennent généralement plus de minéraux que les miels de nectar (Bruneau, 2002).

6 Autres composantes du miel

6.1. Peroxyde d'hydrogène

Le miel agit comme un antibiotique naturel en produisant des inhibines génériques, des agents bactériostatiques puissants. Le peroxyde d'hydrogène qu'il contient contribue à nettoyer les plaies en se décomposant en eau et en oxygène, favorisant ainsi un nettoyage mécanique des tissus et du sang (Irlande, 2010 ; Rossant, 2011).

6.2 Polyphénols

Les polyphénols présents dans le miel, notamment les acides phénoliques tels que l'acide benzoïque et cinnamique, ainsi que les flavonoïdes comme, jouent un rôle crucial dans ses propriétés organoleptiques, telles que la couleur et le goût. De plus, ces composés ont des propriétés antioxydantes et biologiques, notamment : germicides, antimicrobiennes et bactériostatique (Gheldof et *al.*, 2002 ; Lequet, 2010 ; Ouchemoukh et *al.*, 2016).

6.3. Hydroxymethylfurfural

L'abréviation conventionnelle pour 5 (hydroxyméthyl)-2-furfural est HMF, qui est produit par la dégradation des monosaccharides, en particulier du fructose, en milieu acide ou après chauffage, est présent dans les miels en vieillissants.

Il est considéré comme un indicateur de qualité du miel. Le miel est meilleur lorsque sa teneur en HMF est inférieure, le taux légal ne doit pas dépasser 40 mg/kg (Gharbi, 2011 ; Nair, 2014).

7 Propriétés biologiques

7.1 Propriétés antibactériennes

Le miel est de plus en plus reconnu pour ses propriétés antibactériennes, en grande partie grâce à la Defensine-1, une protéine produite par les abeilles et présente dans le miel et la gelée royale. Des concentrations de miel de 10 à 20% peuvent éliminer diverses bactéries résistantes aux antibiotiques, y compris celles des infections nosocomiales. Cette activité antibactérienne résulte de la forte acidité du miel, de sa viscosité, et de sa richesse en flavonoïdes et composés phénoliques (Can, 2015 ; Hoyet, 2005 ; Kwakman et *al.*, 2010 ; Petit, 2012 ; Sultanbawa et *al.*, 2015).

7.2 Propriétés antivirales

De plus, il possède des propriétés antivirales grâce à sa teneur en composés phénoliques et flavonoïdes, qui inhibent la réplication virale et renforcent le système immunitaire. Des recherches récentes indiquent que le miel peut réduire la charge virale dans certaines infections, telles que la grippe et les infections respiratoires. Ces qualités font du miel un agent thérapeutique prometteur (Estevinho et *al.*, 2008 ; Eteraf-Oskouei et Najafi, 2013).

7.3 Propriétés antioxydante

Le pouvoir antioxydant du miel est remarquable en raison de sa richesse en flavonoïdes, acides phénoliques et composés phytocides. Ces éléments neutralisent les radicaux libres, diminuant ainsi le stress oxydatif et aidant à prévenir les maladies chroniques. (Alandia et Yañez, 2020).

7.4 Propriétés antifongiques

Le miel présente des propriétés antifongiques notables grâce à ses composants tels que les inhibines, le peroxyde d'hydrogène et les acides organiques, qui limitent la croissance des champignons pathogènes. Il est particulièrement efficace contre des souches comme *Candida albicans* et *Aspergillus niger*, ce qui renforce son utilisation dans le traitement des infections fongiques. En outre, son acidité naturelle et son faible pH contribuent de manière significative à cette activité antifongique (Skadiņš et *al.*, 2023).

Chapitre II : Généralités sur les antibiotiques

1 Définition

Les antibiotiques sont des composés chimiques produits par des micro-organismes pour inhiber ou tuer la croissance d'autres micro-organismes, en particulier des bactéries. Ils sont largement utilisés en médecine pour traiter les infections. Les antibiotiques agissent en ciblant des processus spécifiques ou des structures dans les cellules bactériennes, ce qui entraîne leur mort ou l'inhibition de leur croissance (Finch et *al.*, 2003).

2 Historique des antibiotiques

La pénicilline, découverte par Fleming en 1928, a été produite à grande échelle par Florey et Chain en 1941, démontrant son efficacité contre la septicémie. Les années 1940 et 1950 ont également vu l'émergence d'autres antibiotiques majeurs comme la streptomycine et la tétracycline, améliorant ainsi la santé mondiale (Colin, 1954 ; Waksman, 1954).

3 Les majeures familles d'antibiotiques

3.1. Les bêta-lactamines

Sont parmi les antibiotiques les plus couramment utilisés, comme les pénicillines et les céphalosporines, elles possèdent un effet létal contre les bactéries en perturbant une protéine essentielle à la cohésion de leur paroi cellulaire (Moulin et Orand, 2013).

3.2. Les aminosides

Les aminosides, dérivés des actinomycètes, perturbent la synthèse des protéines chez certaines bactéries Gram-négatives (Toumi, 2008).

3.3. Les macrolides

Les macrolides, tels que la roxithromycine et l'azithromycine. Ils peuvent être utilisés dans une variété de traitements en raison de son efficacité contre un large éventail de bactéries (Bergogne-Bérézin et Bryskier, 2005).

Ces composées inhibent la synthèse des protéines en se liant à la sous-unité 50S des ribosomes bactériens (Fauci et *al.*,2022).

3.4. Les quinolones

Les quinolones, antibiotiques synthétiques, sont classées en différentes générations en fonction de leur activité antimicrobienne (Bush et *al.*,2020).

3.5. Tétracyclines

Les tétracyclines, caractérisées par un noyau tétracène, ont été découvertes dans les années 1940 et agissent en inhibant la synthèse protéique des bactéries (Raykova et *al.*, 2021).

Le Tableau suivant résume les caractéristiques des différentes familles d'antibiotiques :

Tableau II : Caractéristiques des différentes familles d'antibiotiques (Moulin et Orand, 2013).

Famille d'antibiotiques	Structures moléculaire	Mécanismes d'action principal	Spectre d'activité
Bêtalactamines	Noyau β -lactame	Inhibent la synthèse de la paroi bactérienne	Large (Gram+ et Gram-)
Aminosides	Molécule aminée	Inhibent la synthèse des protéines bactériennes	Sur les bactéries Gram-
Macrolides	Macrocycle lactone	Inhibent la synthèse des protéines bactériennes	Sur les bactéries Gram+, certaines Gram- et anaérobies
Quinolones	Structure bicyclique	Inhibent la synthèse de l'ADN bactérien	Sur les bactéries Gram+ et Gram-
Tétracyclines	Structure polycyclique	Agissent sur les bactéries Gram+, certaines Gram- et anaérobies	Sur un large spectre

4 Mécanismes d'action des antibiotiques

Les antibiotiques agissent sur les bactéries en les empêchant de se multiplier ou en les tuant, utilisant diverses méthodes (Figure 05). Certains inhibent la formation de la paroi cellulaire, affaiblissant ainsi la bactérie, tandis que d'autres bloquent la production de protéines

bactériennes essentielles (Fridkin et *al.*,2010 ; Werth, 2022).

Certains perturbent le métabolisme bactérien, tandis que d'autres ciblent des enzymes ou des protéines nécessaires à leur survie. Il est crucial de noter que les antibiotiques ne sont pas efficaces contre les infections virales (Brunton et *al.*,2018).

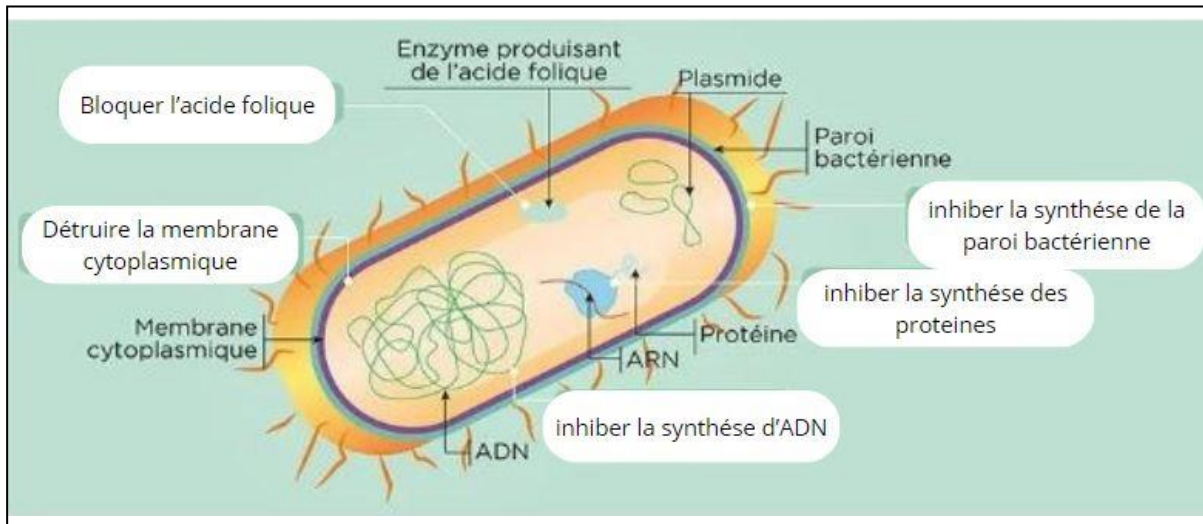


Figure 05 : Schéma récapitulatif sur différents mécanismes d'action des antibiotiques sur les bactéries (Tortora et *al.*,2019).

5 La concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la plus petite quantité d'un antibiotique nécessaire pour empêcher la croissance bactérienne. Déterminée en laboratoire, elle aide à choisir l'antibiotique le plus efficace, à surveiller l'efficacité du traitement, et à détecter la résistance. La CMI peut varier selon la souche bactérienne, l'antibiotique, et les conditions de culture (Amhis et *al.*,2001 ; Isenberg, 1998).

6 La concentration minimale bactéricide (CMB)

La concentration minimale bactéricide (CMB) est la plus faible quantité d'un agent antibactérien nécessaire pour tuer 99,9 % d'une population bactérienne. Elle est déterminée en laboratoire en exposant des échantillons à différentes concentrations de l'agent, puis en analysant la plus faible concentration ayant un effet bactéricide, comparée à un témoin sans agent (Patrick et *al.*,1999 ; Andrews, 2001).

Chapitre III : Bactéries résistantes

1 Définition

La résistance aux antimicrobiens est complexe, avec des critères microbiologiques et cliniques. Microbiologiquement, une souche est résistante si elle se développe en présence d'une concentration plus élevée d'antibiotique. Cliniquement, elle survit au traitement antibiotique. Plusieurs facteurs, tels que la localisation de l'infection, la dose et l'administration de l'antibiotique, ainsi que l'état immunitaire, influent sur la résistance (Guardabassi et Courvalin, 2006).

2 Histoires de la résistance aux antibiotiques

Chaque année, environ 25 000 personnes meurent dans l'Union européenne des suites d'une infection causée par des bactéries résistantes (Codex Alimentarius commission., 2010).

Depuis leur introduction dans les années 1940, les antibiotiques ont révolutionné le traitement des infections bactériennes, mais leur utilisation généralisée a entraîné l'émergence de bactéries résistantes (Figure 06), alimentée par un usage excessif en médecine humaine, vétérinaire. Cette résistance constitue un défi majeur en santé publique, avec une augmentation annuelle des décès et des coûts de santé, malgré les efforts pour la contrôler (Boerlin et White, 2006 ; Harbottle et *al.*, 2006).

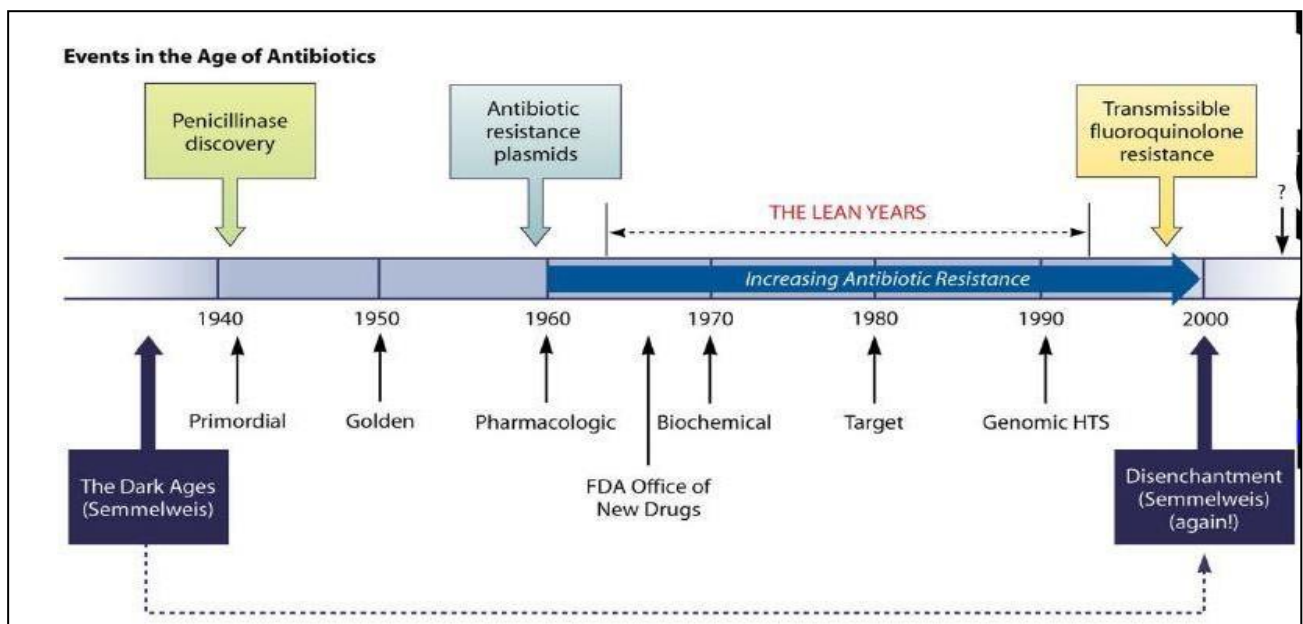


Figure 06 : Historique de la découverte des antibiotiques et le développement de la résistance aux antibiotiques (Davies et Davies, 2010).

3 Mécanisme de résistances

3.1 Résistance intrinsèque

La résistance intrinsèque est une caractéristique inhérente à une espèce bactérienne et présentée dans toutes les souches de cette espèce. Elle peut découler de la présence d'un gène chromosomique partagé par l'ensemble des bactéries de l'espèce (Aleksun et Levy, 2007 ; Faure, 2009).

3.2 Résistance acquise

Contrairement à la résistance intrinsèque présente chez toutes les souches d'un groupe bactérien donné, la résistance acquise est présente seulement chez certaines souches de l'espèce. Cette résistance résulte d'une modification génétique par mutation ou d'une acquisition du matériel génétique étranger (Muylaert et Mainil, 2012).

3.3 La multi résistance

La notion de multirésistance est couramment employée, mais n'a pas de définition précise. On l'emploie habituellement pour désigner une bactérie qui, en raison de l'accumulation de résistances naturelles ou acquises, n'est sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques habituellement efficaces, ou pour désigner une bactérie résistante à au moins trois familles d'antibiotiques. Ce mot est fréquemment lié à des difficultés thérapeutiques majeures (Fajardo et *al.*, 2009).

4 Types de mécanismes de résistances

Il existe divers mécanismes que les bactéries utilisent pour contrecarrer l'action des agents antibactériens

4.1 Inactivation enzymatique de l'antibiotique

La résistance aux antibiotiques est souvent due à des enzymes qui modifient la structure des antibiotiques, les rendant inefficaces. Ces enzymes, comme la Chloramphenicol Acetyl Transférase, altèrent le noyau actif des antibiotiques par des mécanismes tels que l'hydrolyse, l'acétylation ou la phosphorylation. Des exemples incluent les aminoglycosides, inactivés par des enzymes spécifiques dont les gènes sont transférables via des plasmides ou transposons (Liwa et Jaka, 2015 ; Muylaert et Mainil, 2012).

4.2 Modification ou remplacement de la cible de l'antibiotique

La résistance aux antibiotiques peut survenir lorsque la cible de l'antibiotique est modifiée ou remplacée, empêchant son action. Ce mécanisme est fréquent pour les pénicillines, glycopeptides, macrolides, lincosamides, streptogramines, et quinolones. Il peut résulter de l'acquisition de gènes ou de mutations affectant la cible. Par exemple, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline produisent une protéine avec une affinité réduite pour cet antibiotique (Muylaert et Mainil, 2012).

4.3 Pompes à efflux

Les pompes à efflux sont des protéines bactériennes qui expulsent les antibiotiques hors de la cellule, réduisant ainsi leur efficacité. Elles sont classées par spécificité de substrats et source d'énergie, avec les pompes SDR associées à une forte résistance et les pompes MDR à une résistance plus faible. Elles se divisent en transporteurs ABC (utilisant l'ATP) et transporteurs secondaires. (Alekhshun et Levy, 2007 ; Allen et *al.*, 2010 ; Nikaido, 2009).

4.4 Perméabilité réduite

La perméabilité réduite des bactéries Gram négatives limite la pénétration des antibiotiques, contrairement aux bactéries Gram positives qui sont plus perméables. Les antibiotiques hydrophiles pénètrent via des porines, et les hydrophobes à travers la couche phospholipidique. Des mutations des porines peuvent conduire à une résistance, un mécanisme crucial chez *P. aeruginosa* et *Enterobacteriaceae*, ainsi que chez les germes anaérobies, entérocoques, et streptocoques pour les aminoglycosides (Alekhshun et Levy, 2007 ; Muylaert et Mainil, 2012 ; Nikaido, 2009).

4.5 Protection de la cible de l'antibiotique

La résistance par protection de la cible se manifeste avec les tétracyclines, quinolones et fluoroquinolones (Figure 08). Les tétracyclines sont confrontées à huit protéines de protection ribosomiale, tandis que les fluoroquinolones subissent une résistance subclinique due à des gènes plasmidiques. Ces protéines diminuent l'affinité des antibiotiques pour leurs cibles en se liant aux topoisomérases (Robicsek et *al.*, 2006 ; Cavaco et *al.*, 2009).

4.6 Piégeage de l'antibiotique

Les bactéries peuvent contrer un antibiotique en augmentant la production de sa cible ou en produisant une autre molécule qui a une affinité pour l'antibiotique, réduisant ainsi son efficacité. Des mutations chromosomiques entraînant une surproduction des cibles des sulfamidés et du triméthoprime ont été observées chez diverses espèces bactériennes. Ce mécanisme est également responsable d'une résistance réduite aux glycopeptides chez certaines souches de *S. aureus* et à la tobramycine chez *E. coli* (Guardabassi et Courvalin, 2006).

Cette figure résume tous les mécanismes de résistance aux antibiotiques :

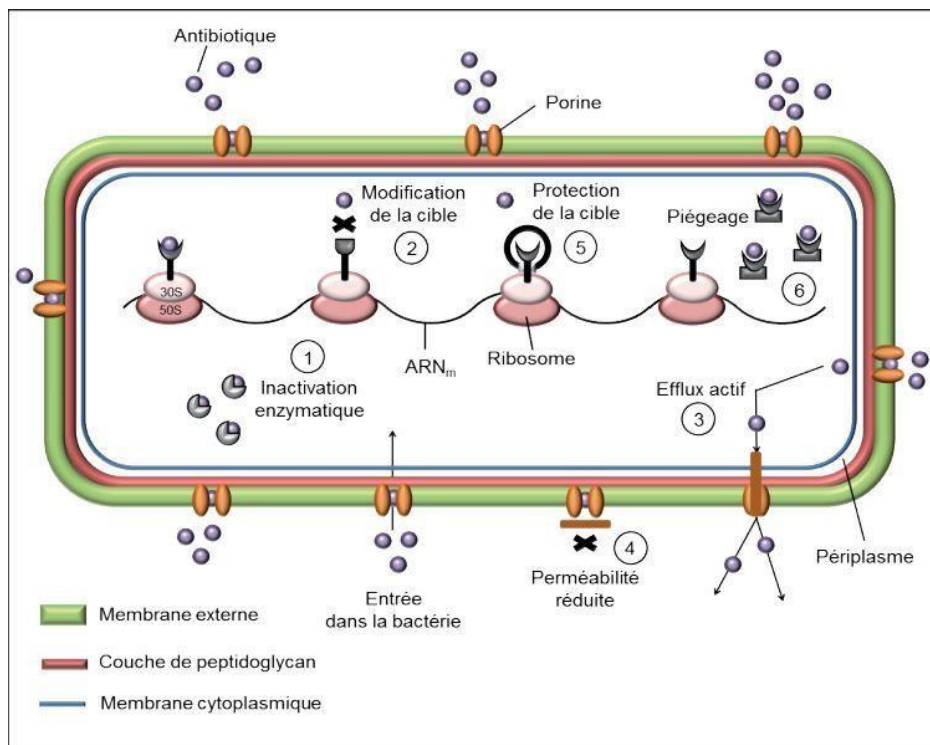


Figure 07 : Différents mécanismes de résistance aux antibiotiques chez une bactérie Gram négative (Guardabassi et Courvalin , 2006).

2^{ÉME} PARTIE

:

**ÉTUDES
EXPÉRIMENTALE**

MATÉRIEL ET MÉTHODES

Les présentes analyses ont eu lieu au niveau du laboratoire commun de physicochimie et du laboratoire commun de microbiologie de la faculté des sciences biologiques et sciences agronomiques de l'Université Mouloud MAMMERY Tizi-Ouzou, allant du 04 mars au 26 mai 2024.

I. Matériel et méthodes

- **Matériel biologique**

- **Echantillon**

Le présent travail a été réalisé sur un échantillon de miel de Thym récolté en Algérie dans la région de Biskra, en mai 2023, tout en ignorant ses conditions de stockage. Il a été recueilli par des apiculteurs et conservés au réfrigérateur (4°C) jusqu'à son analyse.

L'échantillon issu d'une plante portant son nom est représenté dans la figure suivante :



Figure 08 : Echantillon de miel de thym.

II. Analyses effectuées

Cinq analyses physicochimiques ont été effectuées sur l'échantillon de miel à savoir le pH, l'acidité libre, la teneur en eau, le degré de Brix, le taux d'HMF, deux dosages phytochimique à savoir les polyphénols et les flavonoïdes.

De plus, deux activités ont été réalisées respectivement ; l'activité antioxydante et l'activité antimicrobienne sur cet échantillon.

La figure suivante résume les différentes analyses effectuées dans le présent travail :

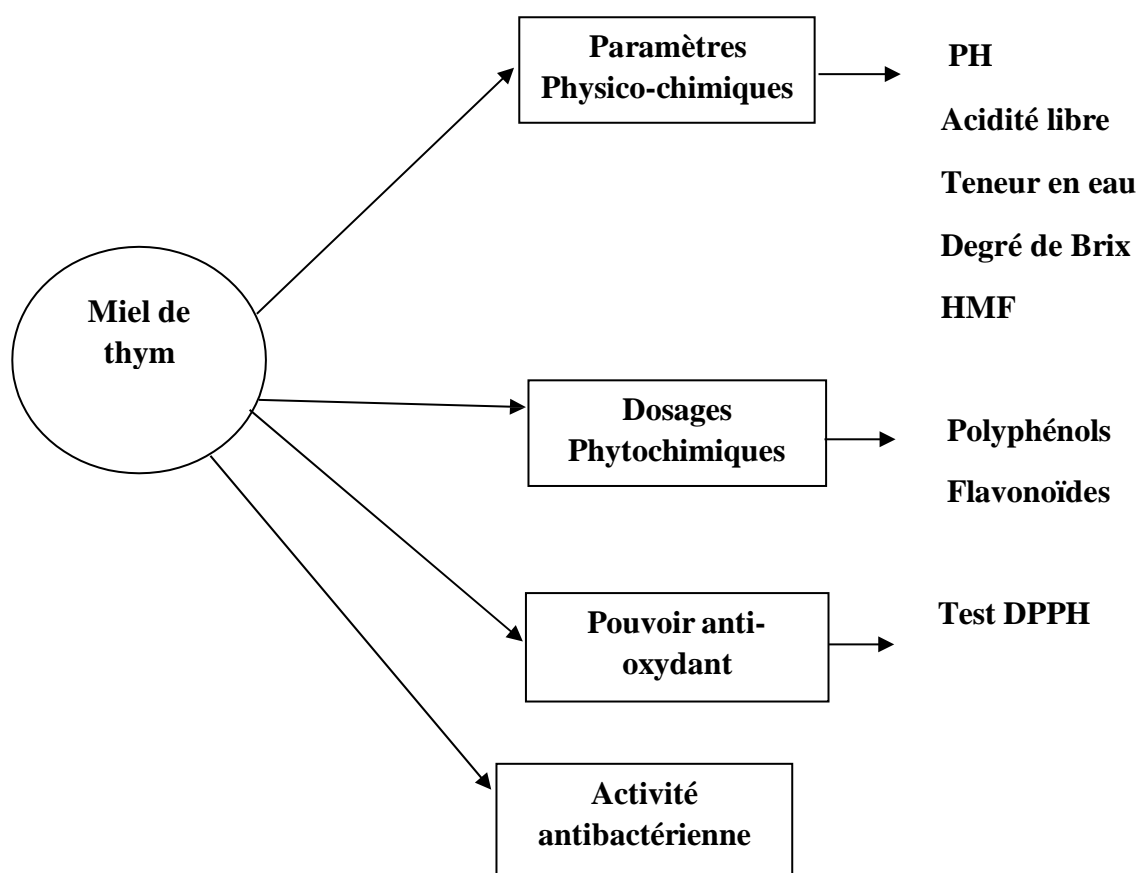


Figure 09 : Différentes analyses effectuées sur l'échantillon de miel.

II.1 Analyses physico-chimiques

II.1.1 Potentiel d'hydrogène (pH)

- **Principe**

La méthode du Codex Alimentarius (2001) permet d'évaluer le pH d'une solution de miel.

Pour cela, nous avons dissous 10 g de miel dans 75 ml d'eau distillée. La solution a ensuite été homogénéisée à l'aide d'un agitateur magnétique, après quoi l'électrode du pH-mètre a été immergée dans la solution. Les mesures de pH ont été effectuées trois fois.

La figure dessous résume le protocole de mesure du pH de miel analysé :

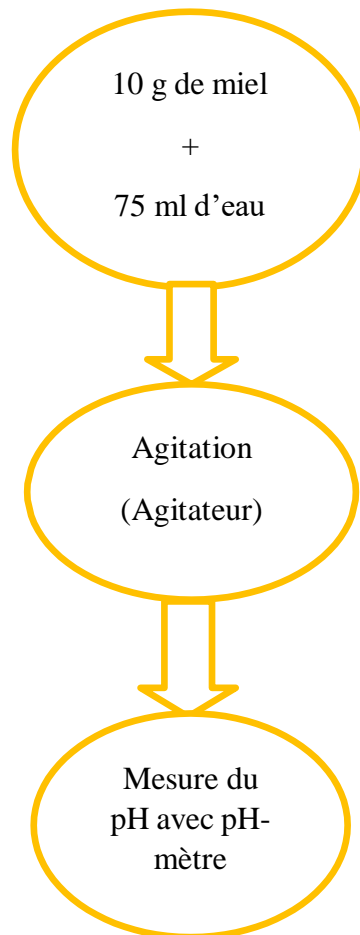


Figure 10 : Protocole de mesure du pH des miels (Codex Alimentarius, 2001).

La valeur du PH est directement lue sur l'écran du PH-mètre.

II.1.2 Acidité libre

- **Principe**

Les échantillons de miel ont été évalués pour leur acidité libre en utilisant un pH-mètre, conformément au protocole décrit par Bogdanov (2009).

On a dissous 10g de miel dans 75ml d'eau distillée. L'électrode du pH mètre a été plongée dans la solution de miel après avoir été agitée avec un agitateur magnétique, et le pH initial est affiché directement sur l'écran de l'appareil.

Par la suite, on a titré la solution avec la solution de soude à 0,1 N jusqu'à ce qu'elle atteigne un pH neutre (pH=8,30-9) et on enregistre les quantités de NaOH utilisées à chaque fois. Les mesures d'acidité ont été effectuées à trois reprises.

Les résultats sont exprimés en milliéquivalent par kilogramme de miel et l'acidité libre est ensuite obtenue en suivant la formule ci-après :

$$\text{Acidité libre (milliéquivalents/kg de miel)} = (1000 \times V \times N) / M$$

Où :

V : volume en ml de la soude à 0,1 N versé pour atteindre le pH équivalent.

N : Normalité de NaOH (0, 1 N).

M : Masse en grammes de Miel (10 g).

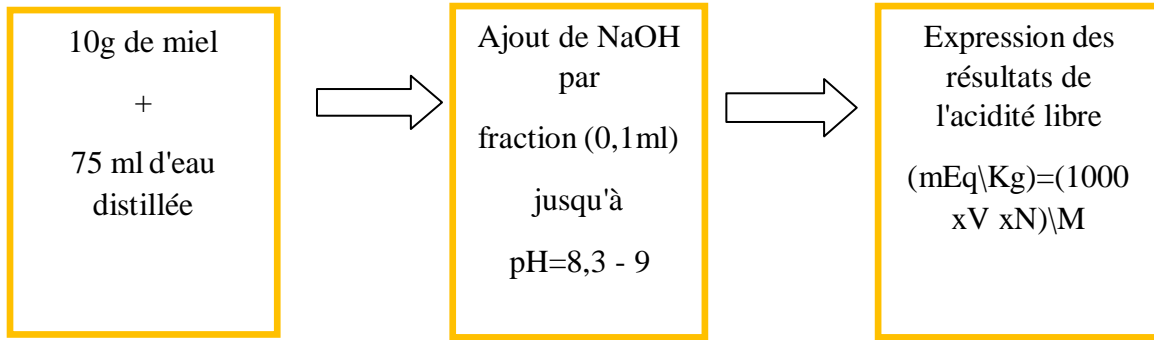


Figure 11 : Protocole de mesure de l'acidité libre (Bogdanov, 2009).

II.1.3 Teneur en eau

- **Principe**

La détermination de la teneur en eau se fait par mesure optique de l'indice de réfraction (IR) du miel à 20°C à l'aide d'un réfractomètre.



Figure 12 : Réfractomètre utilisé pour la mesure de l'indice de réfraction et le degré de Brix.

Après avoir homogénéisé, on dépose une goutte de miel directement sur le prisme du réfractomètre préalablement nettoyé. Par la suite, l'écran du réfractomètre affiche directement les valeurs de l'indice de réfraction.

La table de Chataway (**Annexe II**) est utilisée pour obtenir le pourcentage de la teneur en eau correspondant à l'indice de réfraction (Bogdanov, 1997).

II.1.4 Degré de Brix (matière sèche)

- **Principe**

Le taux de la matière sèche est évalué par la méthode de réfractométrie. Le degré de Brix s'affiche sur l'écran directement après réglage de l'appareil à 20°C (Bogdanov, 1997).

Une goutte de miel est déposée directement après homogénéisation sur le prisme du réfractomètre préalablement nettoyé.

Enfin, la valeur du degré de Brix est directement lue sur l'écran du réfractomètre

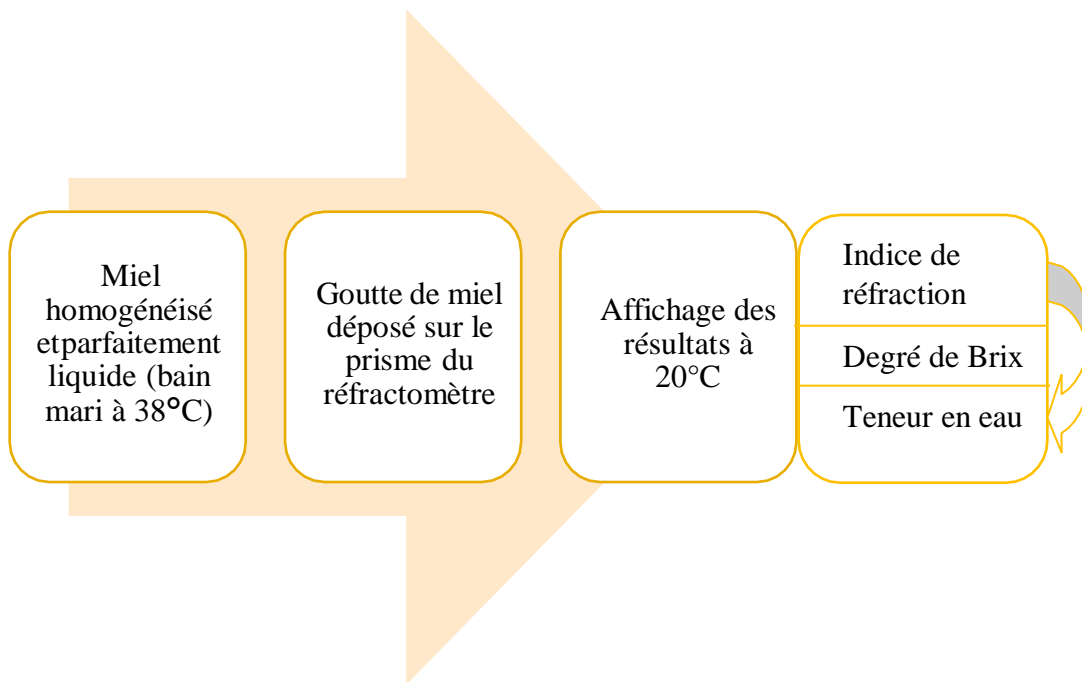


Figure 13 : Protocole de mesure de la teneur en eau et de l'indice de Brix (Bogdanov, 1997).

II.1.5 Détermination des hydroxymethylfurfural (HFM)

- **Principe**

La détermination de la teneur en HFM dans le miel est basée sur la détermination de l'absorbance de la solution échantillon et celle de référence à deux longueurs d'onde différentes (284 nm et 336nm) en utilisant un spectrophotomètre UV-visible (Amri et *al.*, 2007).

Une masse de 5g de miel a été dissoute dans un volume de 25ml d'eau distillée puis transférée dans une fiole de 50ml. Un volume de 0,5ml de la solution de carrez I (hexacyanoferrate de potassium à 15%) a été ajouté, puis mélanger avec la solution.

Un volume de 0,5 ml de la solution du carrez II (acétate de zinc à 30%) a été additionné et mélangé à la solution. Le mélange a ensuite été ajusté avec de l'eau distillée jusqu'au trait de jauge. Quelques gouttes d'éthanol ont été additionnées dans le but d'éliminer la mousse.

La solution a été filtrée par la suite, à l'aide du papier filtre. Après filtration les 1ere dizaines du filtrat sont écartées.

Pipeter 5ml dans 2tubes à essaies :

- Dans le 1er tube on a ajouté 5ml d'eau distillée (solution échantillon).
- Dans le 2eme tube on a jouté 5ml de la solution métabisulfite de sodium (0,2%) (solution référence).

L'ensemble a été homogénéisé et laissé au repos pendant 1h à l'abri de la lumière.

Tableau III : Préparation de la solution aqueuse du miel (Amri et *al.*, 2007).

Solution ajoutée au tube à essai	Solution échantillon (Tube 01)	Solution référence (Tube 02)
Solution initiale de miel	5 ml	5 ml
Eau distillée	5 ml	0 ml
Solution métabisulfite de Sodium	0 ml	5 ml

La lecture de l'absorbance de la solution échantillon et celle de référence se fait à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible à deux longueurs d'onde (284nm et 336nm).

Si la valeur de l'absorbance à 284nm dépasse 0,6 on procède à la dilution de la solution échantillon avec de l'eau distillée et la solution de référence avec le métabisulfite de sodium.

La teneur en HFM est donnée par l'équation suivante :

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

Où :

D : Facteur de dilution (lorsque l'absorbance dépasse 0,6 on procède à la dilution soit avec l'eau distillée lorsque c'est la solution échantillon, ou le métabisulfite de sodium lorsqu'il s'agit de la solution référence).

M : Masse de l'échantillon de miel.

A₂₈₄ et A₃₃₆ : Absorbance respectives à 284nm et à 336nm.

149,7 : Constante.

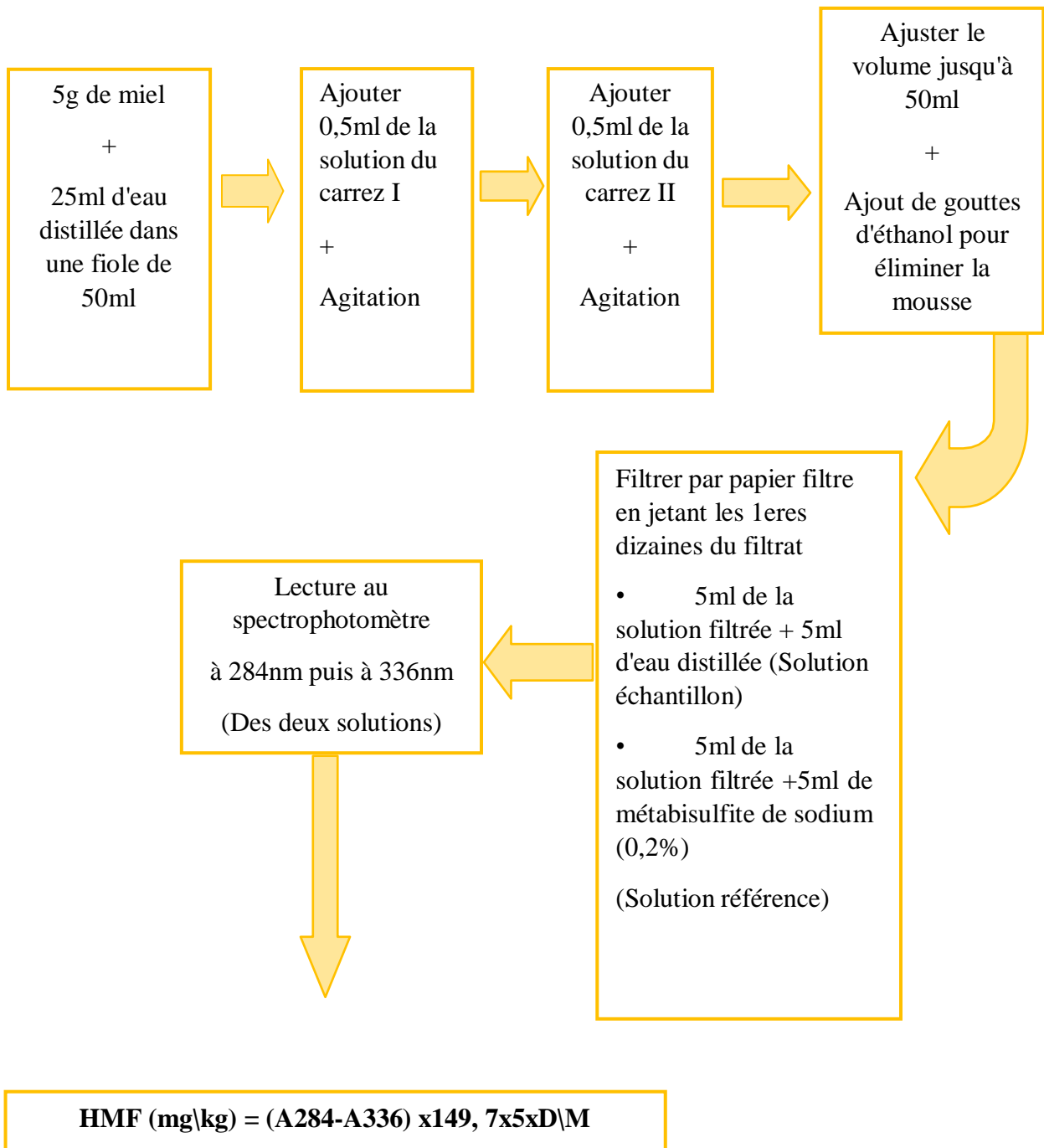


Figure 14 : Protocole de dosage des HydroxyMethylFurfural (HMF) (Amri et *al.*, 2007).

II.1.6 Dosage des composés phénoliques du miel

- **Principe**

La teneur en polyphénols totaux de l'échantillon de miel a été déterminée selon la méthode décrite par (Escuredo et *al.*, 2013) en employant le réactif de Folin- Ciocalteu.

Un volume de 1ml du Folin-ciocalteu et un volume de 10ml d'eau distillée ont été additionnés à 1ml de la solution de miel (0,1 g/ml). Après agitation et un repos de 2min, un volume de 4ml de la solution de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7,5% a été introduit au mélange et puis le volume final a été ajusté à 25ml avec de l'eau distillée.

Le mélange est incubé à l'abri de la lumière pendant 1h. L'absorbance a été mesurée à 765nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Une courbe d'étalonnage est réalisée en parallèle en respectant les mêmes conditions expérimentales que l'échantillon, en employant l'acide gallique (**Annexe III**). La concentration des polyphénols totaux est calculée à partir de l'équation de régression de la gamme d'étalonnage établie avec l'acide gallique. Elle est exprimée en mg équivalent d'acide gallique par 100 g de miel (mg EAG\100 g de miel).

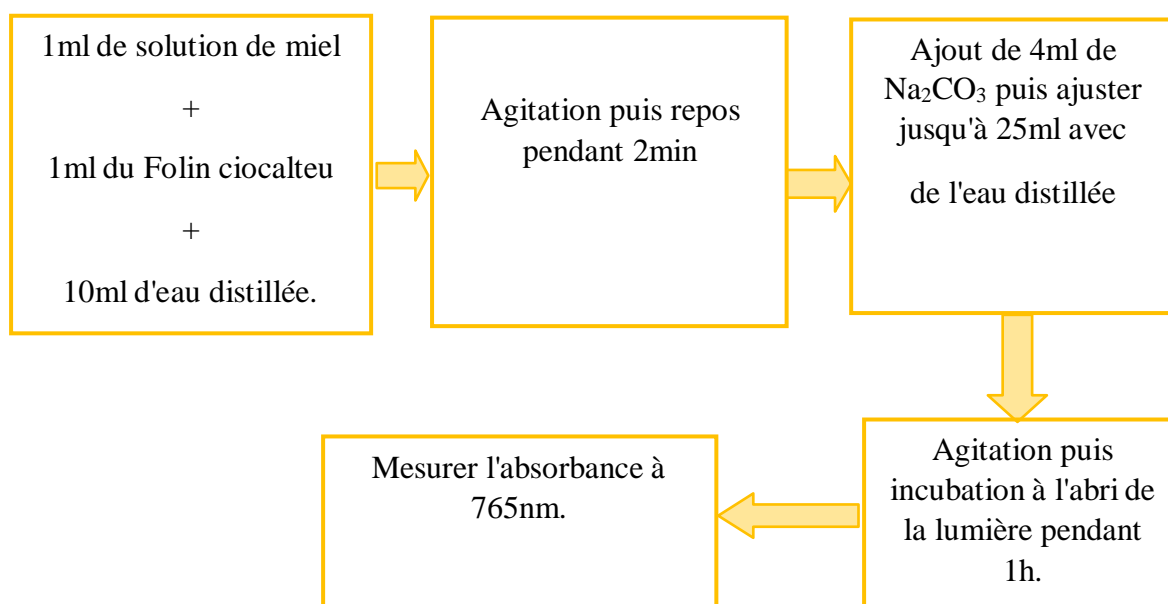


Figure 15 : Protocole de dosage des polyphénols totaux (Escuredo et *al.*, 2013) .

II.1.7 Dosage des flavonoïdes

- **Principe**

Le contenu total en flavonoïdes a été déterminé en utilisant une méthode décrite par (Arvouet-Grand et *al.*,1994).

Dix gramme de miel a été dilué dans 30 ml d'eau distillée. Un total de 0,5 ml de trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$ à 2 %) a été ajouté à 2 ml de solution de miel (0,33 g/ml), et le volume a été complété avec de l'eau distillée jusqu'à atteindre 25 ml. L'absorbance a été mesurée après incubation pendant 30 minutes dans l'obscurité, ensuite l'absorbance a été mesurer en utilisant un spectrophotomètre UV-VIS à 425 nm.

Une courbe d'étalonnage a été obtenue en utilisant différentes concentrations de solution de quercétine (0,01 mg/ml) comme étalon de référence (**Annexe IV**). Les résultats ont été exprimés en mg d'équivalents de quercétine pour 100 g de miel.

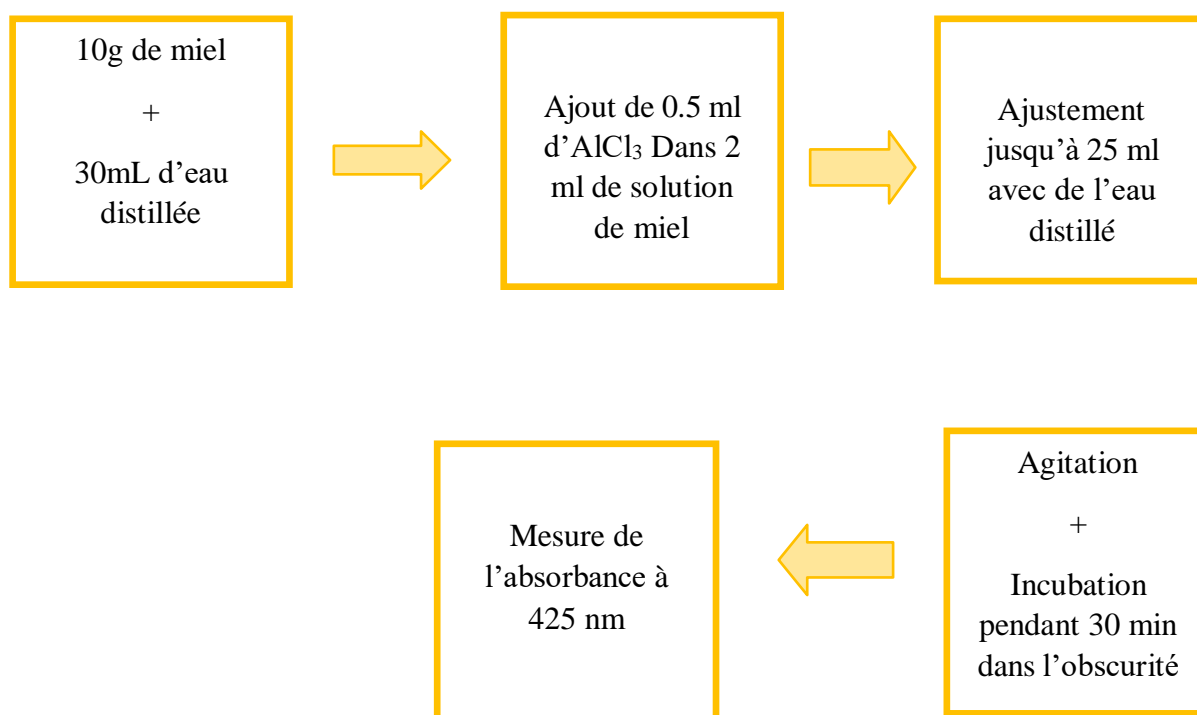


Figure 16 : Protocole de dosage des Flavonoïdes (Arvouet- Grand et *al.*,1994).

II.1.8 Détermination de l'activité antioxydante (Test de DPPH)

- **Principe**

L'échantillon de miel a été testé pour son activité antioxydante. Cette dernière est déterminée par la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH.

L'activité antioxydante est évaluée par l'activité anti-radicalaire au radical DPPH (2,2-diphénylpicrylhydrazyl). Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants présents dans l'échantillon de miel à neutraliser le DPPH (radical libre) (Caravet et *al.*, 2009).

Les antioxydants réduisent le DPPH ayant une couleur violette en un composé jaune, le diphenylpicrylhydrazine, en lui transférant des électrons ou des protons. L'intensité de la couleur est inversement proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le miel (Gadaw et *al.*, 1997).

Le pouvoir anti-radicalaire par la neutralisation du radical DPPH de l'extrait est évalué selon la méthode décrite par (Brand et *al.*, 1995).

Une quantité de 1 g d'échantillon de miel est dissoute dans un volume de 10 ml de méthanol. Une solution de 0,3 ml de miel a été mélangée avec 2,7 ml de la solution du DPPH (0,002 g DPPH dans 100 ml de méthanol) illustrée dans la Figure ci-après :



Figure 17 : Image représentative de la solution du DPPH préparée.

Notre solution préparée a été mise à l'abri de la lumière pendant 30min puis l'absorbance a été mesurée à 517nm.

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH est calculé suivant la formule ci- dessous :

$$I\% = [(A_b - A_a) / (A_b)] \times 100$$

I% : Pourcentage de l'activité anti-radicalaire.

A_b : Absorbance du témoin (solution du DPPH).

A_a : Absorbance de l'échantillon de miel.

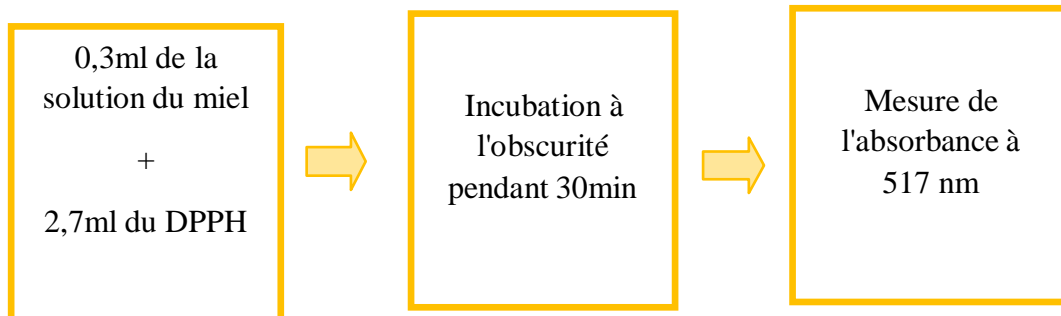


Figure 18 : Protocole de l'activité antioxydante (Caravet et *al.*, 2009).

II.2 Evaluation de l'activité antimicrobienne

L'évaluation de l'activité antimicrobienne *in vitro* d'échantillon de miel a été réalisée par la méthode décrite par (Merah et *al.*, 2010).

L'échantillon est testé sur six souches de référence regroupées dans le tableau ci-dessous :

Tableau IV : Souches bactériennes testées vis-à-vis de l'échantillon de miel.

Groupe bactérien	Souche	Origine
Gram positif	- <i>Staphylococcus aureus</i> (Mu 50)	Laboratoire commun de microbiologie.
	- <i>Bacillus cereus</i> (ATCC 14579)	
Gram négatif	- <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (ATCC 27853)	
	- <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922)	
	- <i>Klebsiella pneumoniae</i> (700603)	

- **Antibiotiques utilisés**

La sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques a été testée par la méthode de l'antibiogramme. Les antibiotiques utilisés sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau V : Antibiotiques utilisés dans l'antibiogramme

Antibiotiques	Forme	Classe
Pénicilline (P10)	Disque	bêta-lactamines
Gentamycine (CN30)	Disque	Aminosides
Vancomycine (50mg/ml)	Liquide	Glycopeptides
Imipenème (100mg/ml)	Liquide	Carbapénèmes
Céfazoline (100mg/ml)	Liquide	Céphalosporines

- **Milieu de culture**

Le milieu Mueller-Hinton (MH) est largement utilisé pour les tests de sensibilité antimicrobienne, notamment les tests de diffusion en disque et les tests de CMI (concentration minimale inhibitrice). Ce milieu est recommandé par diverses organisations telles que l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) et le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) en raison de sa composition équilibrée qui favorise la croissance des bactéries tout en minimisant l'interaction avec les antibiotiques, permettant ainsi une évaluation précise de l'activité antimicrobienne.

II.2.1. Préparation de l'inoculum

Les souches bactériennes ont été repiquées sur milieu gélose nutritive par la méthode des stries serrées puis incubées à 37°C pendant 24h afin d'avoir une culture jeune en phase exponentielle.

A partir de cette culture fraîche et pure de 24h, des colonies isolées sont raclées puis additionnées à un volume de 9ml d'eau physiologique stérile dans le but d'avoir une concentration cellulaire estimée à 10^8 UFC/ml, pour une absorbance de [0,08-0,1] à 625nm.

L'activité antimicrobienne du miel a été testée selon la méthode de diffusion à travers des disques de papier whatman stériles.

II.2.2. Méthode de diffusion à travers des disques de papier wattman (aromatogramme)

La technique de l'évaluation de l'activité antimicrobienne du miel utilise des disques de papier Whatman (6 mm) imprégnés d'une concentration donnée du miel testé. Ces disques sont déposés à la surface d'une gélose spécifique (Mueller-Hinton) coulée dans des boîtes de Pétri uniformémentensemencées d'une suspension microbienne standardisée. Cette méthode permet de mettre en évidence l'effet antimicrobien du miel sur la souche étudiée. Ainsi, la souche sera qualifiée de sensible, très sensible, extrêmement sensible ou résistante (Amhis et *al.*, 2001).

➤ **Protocole expérimental**

Après standardisation, un volume moyen de 150 µl de la suspension bactérienne est prélevé puis étalé avec un écouvillon sur les milieux MH, en réalisant des stries serrées. Ensuite, un disque de papier whatman stérile, imprégné d'environ 10 µl de la suspension de notre échantillon (1 g de miel dans 10 mL de méthanol), est déposé.

Un contrôle positif est établi en ensemençant les cinq souches bactériennes dans cinq boîtes contenant un milieu Muller-Hinton à l'aide d'un écouvillon, en réalisant des stries serrées. Par la suite, des disques d'antibiotiques et de papier whatman imprégnés de 10 µL de solutions d'antibiotiques liquides sont déposés sur chacune des boîtes en fonction de la soucheensemencée (deux répétitions ont été effectuées).

Un contrôle négatif est établi en plaçant un disque de papier whatman imprégné de 10 µL de méthanol sur toutes les souchesensemencées. Puis les boîtes sont mises au réfrigérateur à 4°C pendant environ 2h pour permettre la bonne diffusion des substances bioactives. Ensuite elles sont incubées dans une étuve à 37°C pendant 24h.

La sensibilité bactérienne est déterminée par la mesure des diamètres de zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques pour le témoin et les disques de papier whatman stériles pour les échantillons de miel.

Le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en mm en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par (Ponce et *al.*, 2003) (**Annexe IV**).

II.2.3 Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est définie comme la plus faible concentration d'un échantillon capable d'inhiber la croissance des micro-organismes, en l'occurrence des bactéries, après une période d'incubation de 18 à 24 heures (Andrews., 2001).

II.2.4 Préparation des combinaisons entre le miel de thym et les antibiotiques

La méthode utilisée pour évaluer l'activité antibactérienne de l'association du miel avec l'antibiotique est celle de diffusion sur milieu solide préconisée par Halawani (2009) et Mandal et *al.*, (2010).

Trois combinaisons ont été effectués pour l'échantillon de miel (25%, 50%, 75%) en l'associant avec des antibiotiques sous forme liquide pour obtenir un volume final de 400 μ L. Elles sont illustrées dans le tableau et la figure ci- dessous :

Tableau VI : Préparation des combinaisons de miel avec les antibiotiques.

Combinaisons	Volume de miel (μ l)	Volume d'antibiotiques (μ l)
25%	100	300
50%	200	200
75%	300	100

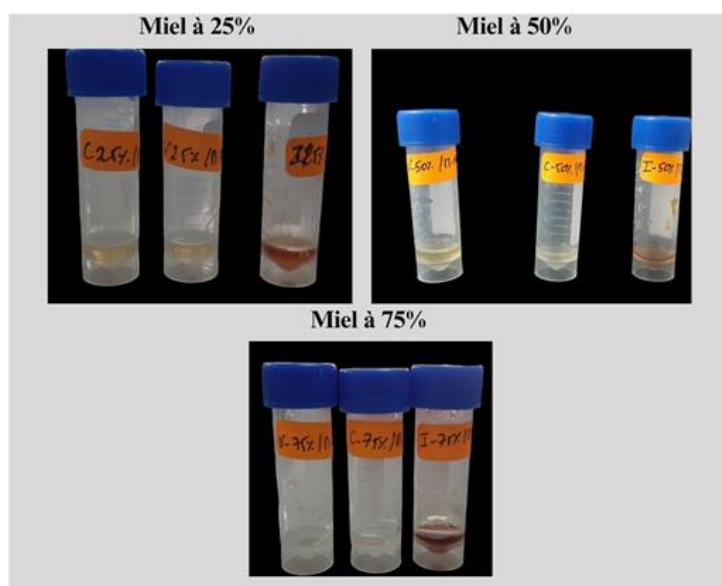


Figure 19 : Préparation des combinaisons entre le miel de thym et les antibiotiques.

Après avoirensemencé nos boîtes de Pétri contenant un milieu Mueller-Hinton avec les souches bactériennes à l'aide d'un écouvillon, nous déposons des disques de papier Whatman stériles imprégnés de 10 μ l de chaque combinaison réalisée (25%, 50%, 75%). Ces boîtes sont ensuite placées au réfrigérateur à 4°C pendant 2 heures, suivies d'une incubation à 37°C pendant 24 heures.

Après l'incubation de 24h une lecture a été faite comme site précédemment dans l'aromatogramme.

Selon Molan (2001), il existe quatre effets antimicrobiens possibles lors de la combinaison du miel avec des antibiotiques :

- **Indifférent** : (Effet (A+B)) = Effet A ou Effet B)
- **Additif** : (Effet (A+B)) = Effet A + Effet B)
- **Synergique** : (Effet (A+B)) > Effet A + Effet B)
- **Antagoniste** : (Effet (A+B)) < Effet A ou Effet B)

RÉSULTATS
ET
DISCUSSION

III. Résultats et discussion

III.1. Analyses physico-chimiques

➤ Caractéristiques physico-chimiques

Les analyses physico-chimiques ont permis d'obtenir des résultats quantitatifs, présentés sous forme de moyennes et d'écart-types, afin d'évaluer la variabilité des paramètres étudiés. Ces données ont été comparées à celles issues de la littérature scientifique portant sur des miels de différentes origines géographiques et botaniques. De plus, une confrontation avec les normes internationales du Codex Alimentarius a été réalisée afin d'évaluer la conformité du miel analysé.

Le tableau ci-après résume les résultats obtenus concernant l'ensemble des analyses physicochimiques réalisées.

Tableau VII : Paramètres physico-chimiques du miel analysé

Echantillon	PH	Acidité Meq /kg	Teneur en eau (%)	Indice de Brix (%)	HMF (mg /Kg)	DPPH (%)	Dosage des polyphénols mg GAE /100g	Dosage des flavonoïdes g QE /100g
Miel de thym	4,5 ±0,3	17±0,9	14,2 ±0,6	88,01±0, 00	33.08 ±0,7	72.58±0,2	61.03	0.52
Normes	3,5- 5,5	<50	<20	45-60	40	<50		

III.1.1 Potentiel d'hydrogène (pH)

Le pH d'un miel est un indicateur de sa qualité, déterminé par la présence d'acides ionisables (ions H⁺) et sa composition minérale. Il fournit des informations précieuses sur son origine et sur sa capacité à résister à la dégradation pendant le stockage (Jeanne, 2005). En effet, les miels de nectar ont tendance à avoir un pH plus bas (entre 3,3 et 4,0), tandis que ceux de miellat ont un pH légèrement plus élevé (entre 4,2 et 5,5) (Bogdanov et al., 1995). Ainsi, des valeurs de pH en dehors de ces plages peuvent indiquer une dégradation biochimique due à des conditions de récolte ou de conservation inadéquates (Yaiche et al., 2014).

La valeur de pH mesurée pour le miel analysé est de $4,5 \pm 0,3$, ce qui est conforme à la recommandation du Codex Alimentarius (2001). De plus, notre résultat est en étroite corrélation avec ceux de Harbane et *al.*, (2024) concernant les miels d'Algérie (3,5 à 5,1), ainsi qu'avec ceux rapportés par Ouchemoukh (2007) qui se situent entre 3,43 et 4,49. En outre, il est similaire aux résultats de Alqarni (2016) sur les miels d'Arabie Saoudite, Abselami et *al.*, (2018) sur les miels du Maroc (3,53 à 4,94), Chakir et *al.*, (2011) sur les mêmes miels (3,91 à 4,93), et Abdul-Rahman et *al.*, (2016) sur les miels de la République du Yémen (3,83 à 6,97).

Cependant, notre résultat diffère de celui de Shobham (2017) sur les miels de Telangana (3,7 à 3,9). En revanche, il s'éloigne significativement de celui rapporté par Haderbache (2013) pour les miels algériens, qui a obtenu une valeur de $4,96 \pm 0,91$ pour le miel de thym.

La diminution du pH est l'un des facteurs cruciaux qui inhibent la croissance des microorganismes et contribuent à la stabilité d'un miel. Cette baisse est attribuable à la production d'acide gluconique par l'enzyme glucose oxydase lors de l'oxydation du glucose (Baroni et *al.*, 2009). De plus, même au sein de la même région, ces variations du pH peuvent être attribuées à la diversité de la flore butinée, à la sécrétion salivaire des abeilles et aux processus enzymatiques et fermentatifs intervenant pendant la transformation de la matière première (Belhadj et *al.*, 2015).

III.1.2 Acidité libre

L'acidité libre est un paramètre crucial pour évaluer la qualité du miel. Elle est déterminée par la présence d'acides organiques en équilibre avec les lactones, les esters internes et certains ions inorganiques tels que les phosphates, les sulfates et les chlorures (Gomes et *al.*, 2010). Le Comité du Codex Alimentarius (2001) a fixé une limite maximale de 50,00 mEq/kg pour l'acidité libre dans le miel, et affirme que des valeurs qui dépassent cette limite indique une fermentation des sucres en acides organiques.

La valeur de l'acidité libre obtenue après l'analyse de notre échantillon est de $17 \pm 0,9$ meq/kg, ce qui implique que notre miel testé n'a pas dépassé la limite autorisée, donc il n'y a pas de fermentation indésirable des sucres en acides organiques, ces résultats obtenus se rapprochent de celles trouvées par Abselami et *al.*, (2017) sur les miels de l'est du Maroc, qui ont enregistré une acidité libre entre 5,77 et 19,47 mEq/kg, ainsi que de celles de Benkhoucha et *al.*, (2020), concernant d'autres types du miel comme le jujubier algériens, les valeurs étaient comprises entre 9,21 et 23 mEq/kg.

En effet, contrairement à l'étude d'Alqarni et *al.*, (2016) qui a révélé des valeurs d'acidité libre supérieures à 50 meq/kg, cela peut être un indice d'une fermentation par des levures osmotiques, selon Ajlouni et *al.*, (2010). Au cours de cette fermentation, le glucose et le fructose sont convertis en alcool. Ce dernier est ensuite hydrolysé en présence d'oxygène et transformé en acide acétique, contribuant ainsi à l'augmentation de l'acidité libre (Ajlouni et *al.*, 2010).

III.1.3 Teneur en eau (Humidité)

La teneur en eau est une caractéristique essentielle du miel, régulée par des normes internationales comme le Codex Alimentarius. Elle est cruciale pour évaluer le degré de maturité et la stabilité biochimique du miel, notamment en termes de fermentation et de cristallisation pendant le stockage. En utilisant des valeurs de l'indice de réfraction obtenues par réfractomètre et la table Chataway, il est possible de déterminer les teneurs en eau pour chaque type de miel. Cette teneur en eau joue un rôle clé dans la conservation du miel, car une augmentation peut entraîner sa fermentation et la perte de sa qualité. Elle dépend de divers facteurs tels que les conditions météorologiques, l'humidité dans la ruche et les conditions de récolte (Delphine, 2010 ; Fahim et *al.*, 2014 ; Kucuk et *al.*, 2007).

La valeur de la teneur en eau de notre miel analysé était de $14,2 \pm 0,6\%$. Ce résultat est inférieur à la limite de 20% établie par la Commission Européenne (2002) et le Codex Alimentarius (2001). Le résultat obtenu est similaire à ceux de Harbane et *al.*, (2024) sur différents miels d'Algérie (13% à 23%), ainsi qu'à ceux de Makhloufi et *al.*, (2010) sur les miels de l'Algérie (13,9% à 20,2%), mais inférieur à ceux rapportés par Can et *al.* (2015) sur les miels de la Turquie (16% à 20%).

En revanche, l'étude d'Azonwade et *al.*, (2018) sur les miels du Bénin a révélé des valeurs inférieures, allant de 12,1 à 13,2%. Les résultats d'Abselami et *al.*, (2018) (15,39 à 19,37%) ainsi que ceux rapportés par Bettar et *al.*, (2015) sur les miels du Maroc (15,80 à 21,70%) sont supérieurs aux nôtres, mais ils sont inclus dans l'intervalle obtenu par Kazimir et *al.* (2018) sur les miels de Serbie (14,00 à 19,22%).

Selon Ouchemoukh (2016), la teneur en eau du miel dépend des conditions environnementales, de l'origine florale et de la période de récolte. Elle peut varier d'une année à une autre, ce qui explique les différences observées entre les miels.

III.1.4 Matière sèche (degré de Brix)

Le miel est principalement constitué de glucides, exprimés en degrés Brix. Ce paramètre est étroitement lié à la quantité de sucres présents dans le miel, ce qui en fait un indicateur essentiel de son authenticité. La composition en glucides du miel est influencée par l'origine botanique des plantes à partir desquelles le nectar ou le miellat ont été récoltés, ainsi que par l'environnement, le climat et les conditions de stockage (Conti et *al.*, 2014 ; Habib et *al.*, 2014 ; Ouchemoukh et *al.*, 2012).

La teneur en glucides de l'échantillon analysé, était de $88,01 \pm 0,8\%$. Cette valeur dépasse l'intervalle établi par le Codex Alimentarius (2001) et se rapproche des valeurs observées pour les miels du centre de l'Algérie (80,17 à 84,73%) rapportées par Zerrouk et *al.*, (2011). Elle est également similaire à celles des miels indiens (77,95 à 80,02%) étudiés par Kumar et *al.*, (2018), aussi ceux des régions arides des Émirats Arabes Unis (77,90 à 83%) selon Habib et *al.*, (2014), ainsi que des miels irlandais (65,42 à 85,42%) analysés par Kavanagh et *al.*, (2019).

En revanche, notre résultat est énormément supérieur à ceux des miels du Bangladesh (42,8 à 60,6 %) rapportés par Islam et *al.*, (2012) ainsi qu'à ceux des miels malaisiens (55,33 à 64,93%) rapportés par Moniruzzaman et *al.*, (2013). Cette légère différence constatée peut être expliquée par le phénomène de transglycosylation qui se produit pendant le stockage (Pascoal et *al.*, 2013).

III.1.5 Teneur en hydroxyméthylfurfural (HMF)

L'hydroxyméthylfurfural (HMF) est un indicateur important de la fraîcheur et du traitement thermique du miel. Cette molécule se forme au fil du temps lors du vieillissement du miel, et sa production est accélérée lorsque le miel est chauffé ou s'il est très acide (Pita-calvo et Vazquez, 2017). En ce qui concerne les limites réglementaires, le Codex Alimentarius a établi une limite de 40 mg/kg pour l'HMF dans le miel, sauf pour les miels provenant de régions à températures tropicales (limite de 80 mg/kg) et les miels à faible activité enzymatique (limite de 15 mg/kg).

L'analyse de l'échantillon de miel a révélé une teneur en HMF de $33,08 \pm 0,07$ mg/kg. Cette valeur est inférieure à la limite fixée par le Codex Alimentarius (2001). Bien que notre miel date de l'année précédente (mai 2023) et que les conditions de stockage soient inconnues, notre résultat se situe dans l'intervalle rapporté par différentes études. Par exemple, Yaiche et *al.*, (2014) ont signalé des valeurs allant de 1,64 à 76,34 mg/kg pour les miels d'Algérie, tandis que Belhaj et *al.*, (2015) ont trouvé des valeurs de 3,87 à 100 mg/kg pour les miels du Maroc. De même, Alqarni et *al.*, (2016) ont rapporté des teneurs allant de 2,21 à 229,6 mg/kg.

Notre résultat diffère des études menées par Khalil et *al.*, (2012) sur les miels algériens (15,23 à 24,21 mg/kg) ainsi que de ceux trouvés par Matovic et *al.*, (2017) pour les miels du Maroc (2,20 à 25,93 mg/kg). De plus, il se distingue de l'étude de Boussaid et *al.*, (2018) sur les miels de Tunisie (12,07 à 25,49 mg/kg). Cependant, il est inclus dans l'intervalle rapporté par Abdulaziz (2012) pour les miels de l'Arabie saoudite (2,21 à 168 mg/kg) et par Habib et *al.*, (2014) pour les miels des régions arides (0,17 mg/kg à 79,26 mg/kg).

L'étude menée par Ouchemoukh (2012) confirme que la formation d'HMF est rapide lorsque les miels sont acides.

III.1.6 Dosages phyto-chimiques

III.1.6.1 Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols dans le miel sont des composés bioactifs reconnus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, contribuant à la qualité et aux bienfaits du miel pour la santé (Alvarez-Suarez et *al.*, 2020).

La valeur des polyphénols totaux obtenue est de $61,03 \pm 1,42$ mg GAE/100 g de miel. Sime et *al.*, (2015) ont observé que les miels de teinte rouge foncé contiennent généralement une concentration plus élevée de composés phénoliques totaux par rapport aux miels jaunâtres clairs, tandis que les miels de teinte blanchâtre ont une teneur phénolique plus faible. Notre étude confirme cette tendance : notre échantillon, de couleur marron clair, présente une concentration moyenne en composés phénoliques.

Notre résultat se rapproche de ceux rapportés par Harbane et *al.*, (2024), qui oscillent entre 19,7 et 464,1 mg GAE/100 g, bien qu'il soit inférieur à ceux rapportés par Ouchemoukh et *al.*, (2016), variant de 90 à 318 mg GAE/100 g. Il est également inférieur aux valeurs rapportées par Liben et *al.*, (2018) pour les miels d'Éthiopie, allant de 45,4 à 73,5 mg GAE/100 g.

L'étude de Saba et *al.*, (2011) a démontré que les teneurs en composés phénoliques varient en fonction de la localisation géographique des différentes origines florales. Cette variation peut aussi être due aux procédures et techniques de conservation. Le climat, particulièrement dans une région semi-aride caractérisée par des températures élevées, pourrait également jouer un rôle dans la variation des teneurs en polyphénols totaux. De plus, les polyphénols seraient plus disponibles dans les plantes en saison des pluies qu'en saison sèche, ce qui explique la valeur moyenne obtenue pour notre échantillon de miel récolté au printemps, dans le nord-sud algérien (Azonwade et *al.*, 2017).

III.1.6.2 Dosage des flavonoïdes totaux

Les flavonoïdes dans le miel sont des composés phytochimiques ayant des effets antioxydants et anti-inflammatoires, contribuant aux propriétés thérapeutiques du miel (Pasupuleti, 2020).

La teneur en flavonoïdes totaux que nous avons obtenue, soit $0,52 \pm 0,2$ mg GAE/100 g de miel, est similaire à celle rapportée par Harbane et *al.*, (2024), qui a enregistré des taux de flavonoïdes allant de 0,3 à 11 mg EQ/100 g. Cependant, notre résultat est inférieur à ceux rapportés par d'autres études. Par exemple, Yolanda et *al.*, (2011) ont trouvé des teneurs en flavonoïdes variant entre 29,5 et 187,08 mg EQ/100 g dans les miels du Mexique, Diafat et *al.*, (2017) ont rapporté des quantités en flavonoïdes qui oscillent entre 10,48 et 93,86 mg EQ/100g pour quelques miels algériens de la région de Bordj Bou Arreridj. Pham et *al.*, (2022) ont enregistré des teneurs en flavonoïdes qui varient entre 9,79 et 75,54 mg EQ/100g pour les miels vietnamiens de différentes origines botaniques.

En revanche, notre résultat est légèrement inférieur à celui rapporté par Yayini et *al.*, (2022), qui ont trouvé des teneurs en flavonoïdes comprises entre 0,71 et 5,80 mg EQ /100 g pour les échantillons de miel de l'Éthiopie. En fin, La concentration en flavonoïdes présente dans le miel varie en fonction de plusieurs facteurs tels que la source florale, la région géographique, la saison et le site de collecte (Česksterty et *al.*, 2006).

III.1.7 Détermination de l'activité antioxydante par le radical DPPH

Le radical DPPH est un composé chimique utilisé pour évaluer la capacité antioxydante des substances en mesurant leur capacité à neutraliser les radicaux libres (Molyneux, 2020). Notre miel a présenté un pouvoir antioxydant qui est d'une valeur de $72,58\% \pm 0,2$, ceci étant dû à la composition de ce dernier en polyphénols totaux ($61,03 \pm 1,42$ mg GAE/100 g de miel).

Cependant, De-melo et *al.*, (2018) ont rapporté des valeurs similaires à notre résultat sur les miels du Maroc, variant de 10,00% à 110%. De même, notre résultat est très proche de ceux rapportés par Harbane et *al.*, (2024) sur les miels algériens, qui oscillent entre 3,0 et 87%. En revanche, il est supérieur à ceux obtenus par Oliveira (2017) sur les miels du Brésil, dont les valeurs varient de 25,39% à 51,44%.

L'étude de Bouyahya et *al.*, (2017) a démontré que les composés phénoliques ont une implication linéaire dans l'activité antioxydante. Cette observation est appuyée par les résultats d'une recherche menée par Al-Mamary et *al.*, (2002), qui ont établi que l'activité antioxydante de divers types de miel provenant de différentes régions dépend principalement de leur teneur en composés phénoliques. Notre propre étude sur l'activité antioxydante du miel a également abouti à cette conclusion. Enfin, le potentiel antioxydant d'un miel ne dépend pas seulement de son contenu en composés phénoliques, mais aussi d'autres composés chimiques, notamment les enzymes (Bouyahya,2016).

III.2. Évaluation de l'activité antimicrobienne

Cette évaluation repose sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition (en mm) des différentes concentrations de l'échantillon de miel sur un milieu solide autour de chaque disque, à l'aide d'une règle.

Les résultats pour les différentes souches testées sont résumés dans les tableaux suivants, incluant les diamètres des disques d'antibiotiques.

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibitions de l'activité des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes testées

Souche bactérienne	ATB	Résultat (mm)
<i>E.coli</i>	Pénicilline	8,5mm±0,7
	Gentamycine	23mm±2,8
	Vancomycine	11,5mm±1.8
	Céfazoline	39mm±4.2
	Imipenème	37mm±1
<i>P.aeruginosa</i>	Pénicilline	06mm±0.00
	Gentamycine	15mm±0,00
	Vancomycine	8.5mm±0,5
	Céfazoline	8mm±0,00
	Imipenème	25mm±0.00
<i>S.aureus</i>	Pénicilline	06mm±0.00
	Gentamycine	31mm±1,41
	Vancomycine	23mm±0,00
	Céfazoline	9.5mm±2.00
	Imipenème	37mm±0.00
<i>K.pneumoniae</i>	Pénicilline	06mm±0.00
	Gentamycine	12.5mm±0.5
	Vancomycine	24.5mm±0,5
	Céfazoline	29.5mm±3.5
	Imipenème	34mm±0.00
<i>B.cereus</i>	Pénicilline	18mm±1.00
	Gentamycine	24mm±0.5
	Vancomycine	40mm±1.5
	Céfazoline	49.5mm±2.1
	Imipenème	06mm±0.00

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des zones d'inhibition.

Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibitions du méthanol vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Souche bactérienne	Témoin négatif	Résultats (mm)
<i>E.coli</i>	Méthanol	13mm±1.5
<i>P.aeruginosa</i>		08mm±0.00
<i>S.aureus</i>		06 mm±0.00
<i>K.pneumoniae</i>		06mm±0.00
<i>B.cereus</i>		06mm ±0.00

Les diamètres des disques (6mm) sont inclus dans les mesures des zones d'inhibition.

Le **Tableau X** présente un récapitulatif des différentes combinaisons testées entre l'échantillon de miel de thym et trois antibiotiques : la céfazoline, l'imipénème et la vancomycine. Pour chaque antibiotique, trois concentrations différentes ont été étudiées en combinaison avec le miel de thym. Les concentrations testées sont les suivantes :

- Miel à 25% + Antibiotique à 75% : Cette combinaison explore l'effet d'une faible concentration de miel associée à une concentration élevée de l'antibiotique.
- Miel à 50% + Antibiotique à 50% : Ici, les concentrations de miel et d'antibiotique sont équilibrées, permettant de tester un effet synergique possible.
- Miel à 75% + Antibiotique à 25% : Cette dernière combinaison examine l'effet d'une concentration élevée de miel associée à une faible concentration d'antibiotique.

L'objectif de ces tests est d'évaluer l'interaction entre le miel de thym et chaque antibiotique, en fonction des différentes concentrations utilisées. Les résultats obtenus permettront de mieux comprendre l'effet combiné du miel de thym et des antibiotiques sur les activités antibactériennes

Tableau X : Diamètres des zones d'inhibitions de l'effet du miel en combinaisons avec les antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes testées.

Échantillon	Miel et vancomycine (mm)			Miel et céfazoline (mm)			Miel et imipénème (mm)			Miel pur
	C0	C1	C2	C0	C1	C2	C0	C1	C2	C3
<i>E.coli</i>	14±3	16±0,0	6±0,0	41±0,5	29±0,0	40±3	6±0,0	6±0,0	8±0,0	26±0,0
<i>P.aeruginosa</i>	8±0,0	13±0,5	11±0,0	10±1	12±1,4	12±1,5	9±1	18±1	10±0,6	6±0,0
<i>S.aureus</i>	10±1,5	30±0,0	28±0,0	29±0,5	37±1,4	49±1,4	6±0,0	12±2	6±0,0	6±0,0
<i>K.pneumoniae</i>	15±0,5	14±2,2	15±1,4	25±0,0	23±0,0	28±0,0	6±0,0	8±0,5	6±0,0	13±1,4
<i>B.cereus</i>	26±0,8	30±2,8	31±0,0	27±3,0	31±2	26±2,4	6±0,0	6±0,0	6±0,0	11±0,0

NB : Le diamètre de disque de papier Wattman est inclus dans les mesures.

mm : Unité de mesure en millimètre.

Concentrations des combinaisons de miel testés avec les antibiotiques :

C0 : 25% de miel de thym et 75% d'antibiotiques.

C1 : 50% de miel de thym et 50% d'antibiotiques.

C2 : 75% de miel de thym et 25% d'antibiotiques.

C3 : Miel pur.

Selon les données du **Tableau X** l'échantillon du miel a présenté un effet varié sur les souches testés. Les zones d'inhibition présentent une variabilité en fonction des effets antimicrobiens lors de la combinaison du miel avec des antibiotiques et la souche microbienne spécifique, ce qui suggère un large spectre d'action antibactérien pour le miel de thym. Cette diversité d'action peut être attribuée à plusieurs facteurs, notamment l'acidité, l'osmolarité, le peroxyde d'hydrogène et les composés phénoliques Molan (2001).

De plus, plusieurs recherches antérieures ont confirmé l'action antimicrobienne du miel de thym. Par exemple, Boukraâ et *al.*, (2013) ont montré que le miel de thym possède des propriétés bactéricides significatives contre *Staphylococcus aureus*, attribuées à sa haute teneur en composés phénoliques. Kwakman et *al.*, (2010) ont également observé une inhibition de la croissance de *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* même à des concentrations relativement faibles. Enfin, Alvarez-Suarez et *al.*, (2014) ont suggéré que le miel de thym pourrait être utilisé comme alternative aux antibiotiques, en raison de la résistance croissante des bactéries aux traitements traditionnels.

III.2.1 Sensibilités des souches bactériennes vis-à-vis du miel utilisé

Les figures suivantes illustrent l'effet antibactérien du miel pur sur les cinq souches bactériennes testées :



Figure 20 : Effet antibactérien du miel pur sur *Escherichia coli*.

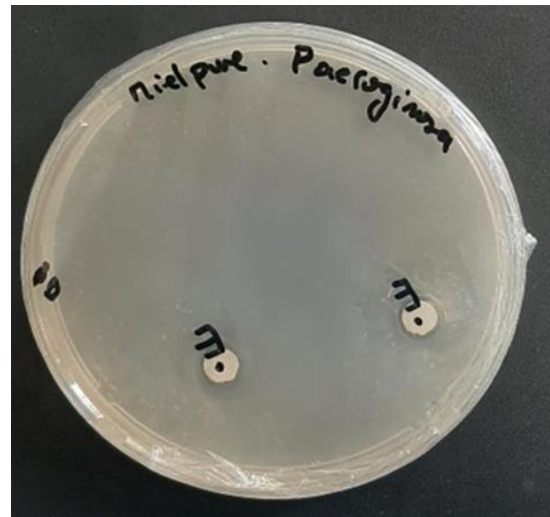


Figure 21 : Effet antibactérien du miel pur sur *Pseudomonas aeruginosa*.



Figure 22 : Effet antibactérien du miel pur sur *Staphylococcus aureus*.

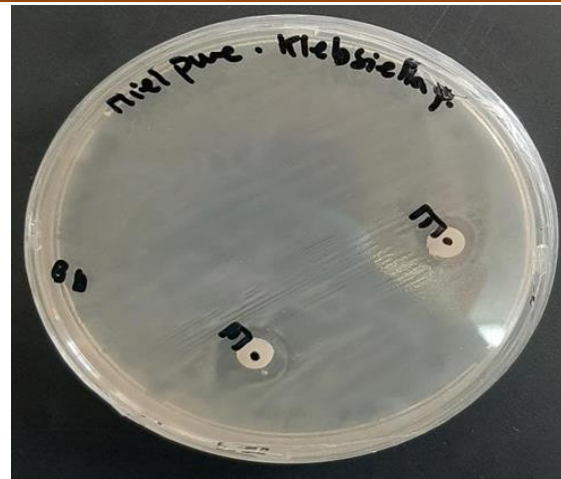


Figure 23 : Effet antibactérien du miel pur sur *Klebsiella pneumoniae*.



Figure 24 : Effet antibactérien du miel pur sur *Bacillus cereus*.

Selon l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne et d'après nos résultats, nous observons que *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* sont insensibles à l'échantillon de miel pur qui a montré aucune zone d'inhibition. En revanche, *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus* montrent une sensibilité modérée, tandis qu'*Escherichia coli* présente une sensibilité extrême.

Ces différences de sensibilité peuvent s'expliquer par plusieurs facteurs intrinsèques aux caractéristiques des bactéries et par les propriétés physico-chimiques du miel. D'un point de vue structural, *Pseudomonas aeruginosa* est une bactérie à Gram négatif, connue pour la robustesse de sa paroi cellulaire, qui est souvent moins perméable aux agents antimicrobiens. Cette paroi complexe, composée d'une membrane externe riche en lipopolysaccharides, agit comme une barrière physique, réduisant ainsi l'efficacité du miel (Livermore, 2002). *Staphylococcus aureus*, quant à elle, est une bactérie à Gram positif, mais sa capacité à former des biofilms et à résister à divers agents antimicrobiens pourrait expliquer son insensibilité au miel de thym (Otto, 2013).

En revanche, la sensibilité modérée observée chez *Klebsiella pneumoniae* avec un diamètre de zone d'inhibition de 13 ± 1.41 et 11 ± 0.00 chez *Bacillus cereus* (bactérie à Gram positif) pourrait être due à des différences dans la perméabilité de leurs parois cellulaires ou à une variation dans l'expression des mécanismes de résistance. *Escherichia coli*, une autre bactérie à Gram négatif, a montré une sensibilité extrême avec un diamètre égal à 26 ± 0.00 , ce qui peut paraître paradoxal. Cependant, des études antérieures ont suggéré que certaines souches d'*E. coli* possèdent des altérations spécifiques dans leur membrane externe, qui les rendent plus vulnérables aux effets des substances antimicrobiennes contenues dans le miel de thym (Chung et Wong, 2011).

Les propriétés spécifiques de notre miel, telles que sa forte concentration en composés phénoliques, joue un rôle crucial dans son action antimicrobienne. Selon une étude de Molan (1992), les composés phénoliques présents dans le miel peuvent déstabiliser les membranes bactériennes et perturber leurs fonctions métaboliques essentielles. De plus, Al-Waili et al., (2011) ont démontré que l'efficacité du miel varie en fonction de la souche bactérienne, ce qui corrobore nos observations (Kaper et al., 2004).

Ainsi, la variabilité de la sensibilité des souches bactériennes au miel de thym peut être attribuée à la complexité des interactions entre les composants bioactifs du miel et les mécanismes de résistance propres à chaque espèce bactérienne (Molan, 2001).

III.2.2 Sensibilités des souches bactériennes aux différentes combinaisons de miel et d'antibiotiques

III.2.2.1 Miel à 25% et Antibiotiques à 75% :

Chez *Escherichia coli* :

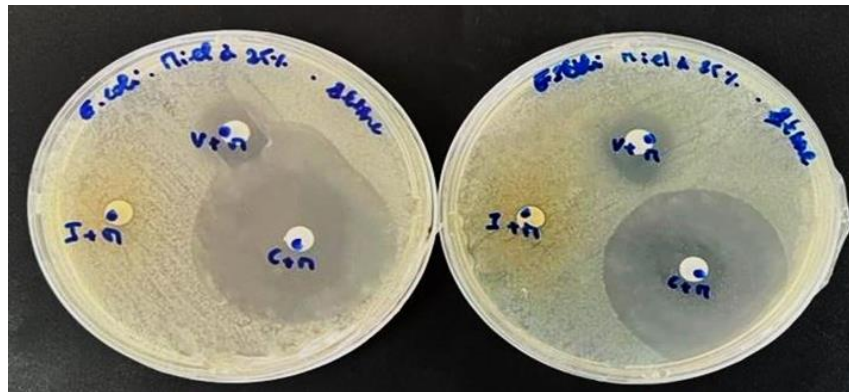


Figure 25 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur *Escherichia coli*.

L'effet combiné avec la céfazoline, mesuré à $41 \pm 0,5$ mm, est supérieur à l'effet du miel seul ($26 \pm 0,0$ mm) et à l'effet de l'antibiotique seul ($39 \pm 0,0$ mm). Cependant, cet effet combiné est inférieur à la somme des effets individuels des deux agents, qui est de 65 mm (26 mm + 39 mm). Cette observation suggère que l'interaction entre le miel et l'antibiotique produit un effet additif. Autrement dit, l'effet observé lorsque les deux agents sont utilisés ensemble est le résultat de la combinaison des effets individuels, sans augmentation significative de l'efficacité au-delà de la simple addition des effets des deux agents pris séparément. En d'autres termes, cette combinaison n'entraîne pas un effet synergique mais plutôt une addition des effets individuels.

Pour la vancomycine, le diamètre de la zone d'inhibition obtenu en combinaison avec le miel de thym était de 14 ± 3 mm, ce qui témoigne d'une diminution de l'effet comparé à la somme des effets observés individuellement pour chaque agent. Cet effet antagoniste suggère que la combinaison n'améliore pas l'efficacité antibactérienne.

En ce qui concerne l'association de l'imipénème avec le miel de thym, aucune zone d'inhibition n'a été observée, ce qui indique l'absence totale d'effet antibactérien pour cette combinaison. Cela renforce l'hypothèse d'un antagonisme marqué, où l'interaction entre le miel et l'imipénème neutralise l'efficacité de chacun des agents.

Chez *Pseudomonas aeruginosa*



Figure 26 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur *Pseudomonas aeruginosa*.

L'effet combiné du miel et de la céfazoline, mesuré à 10 ± 1 mm, est légèrement inférieur à l'effet du miel seul (6 mm) et à celui de l'antibiotique seul ($8 \text{ mm} \pm 0,00$ mm). Cependant, cet effet combiné dépasse la somme des effets individuels des deux agents, qui est de 14 mm (6 mm + 8 mm). Cette observation suggère une interaction synergique entre le miel et l'antibiotique.

En revanche, pour la vancomycine, le diamètre de la zone d'inhibition en combinaison avec le miel de thym est de $8 \pm 0,00$ mm, ce qui représente une diminution par rapport à la somme des effets observés individuellement pour le miel (6 mm) et la vancomycine (8,5 mm), soit 14,5 mm ($8,5 \text{ mm} + 6 \text{ mm}$). Cet effet antagoniste indique que la combinaison ne renforce pas l'efficacité antibactérienne.

Quant à l'association de l'imipénème avec le miel de thym, la zone d'inhibition obtenue est de 9 ± 1 mm, ce qui est inférieur à la somme des effets individuels des deux agents, totalisant 31 mm ($25 \text{ mm} + 6 \text{ mm}$). Cela suggère un antagonisme marqué, où l'interaction entre le miel et l'imipénème semble neutraliser l'efficacité de chacun des agents.

Chez *Staphylococcus aureus*

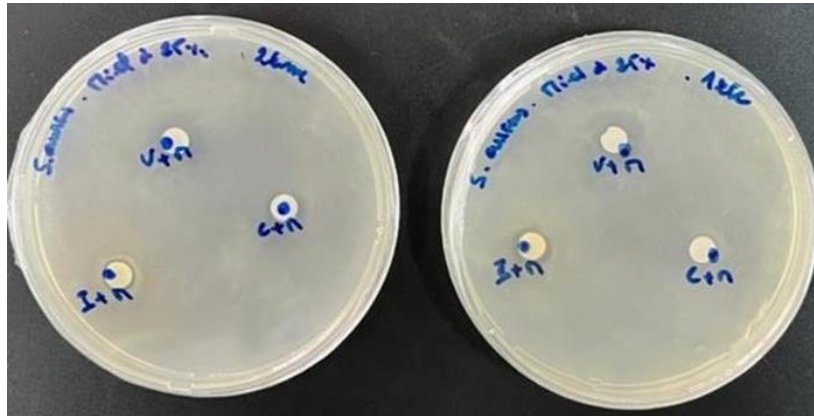


Figure 27 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur *Staphylococcus aureus*.

L'effet synergique a été observé avec la céfazoline, où l'association avec le miel de thym a produit une zone d'inhibition de $29 \pm 0,5$ mm, supérieure à la somme des effets individuels. Cependant, pour la vancomycine, l'effet combiné ($10 \pm 1,5$ mm) a été significativement réduit par rapport aux effets observés séparément pour le miel (6 ± 0 mm) et l'antibiotique (23 ± 0 mm), ce qui révèle un antagonisme.

Aucun effet antibactérien n'a été détecté pour la combinaison miel-imipénème, suggérant que cette interaction neutralise l'efficacité des deux agents.

Chez *Klebsiella Pneumoniae*

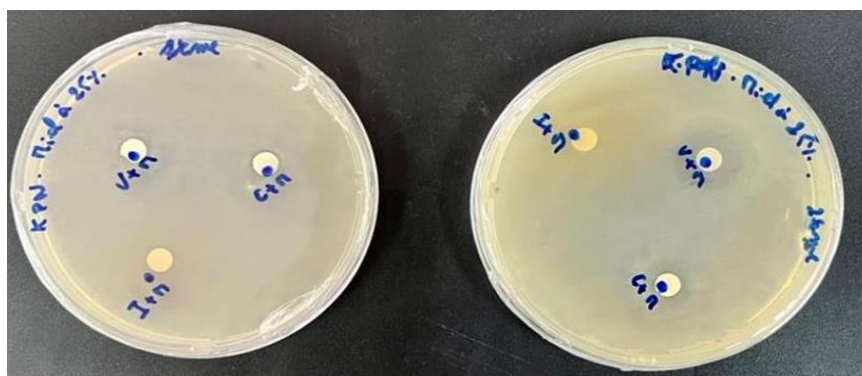


Figure 28 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur *Klebsiella pneumoniae*.

Dans le cas de *Klebsiella pneumoniae*, la céfazoline combinée avec le miel a donné une zone d'inhibition de 25 ± 0 mm, inférieure à la somme des effets observés séparément, indiquant un antagonisme.

La même tendance antagoniste a été constatée avec la vancomycine, où l'effet combiné a été réduit à $15 \pm 0,5$ mm. Pour l'imipénème, aucune zone d'inhibition n'a été observée, confirmant que l'association avec le miel de thym annule l'efficacité antibactérienne des deux agents.

Chez *Bacillus cereus*



Figure 29 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 25% avec les antibiotiques à 75% sur *Bacillus cereus*.

L'association céfazoline-miel a produit une zone d'inhibition de 27 ± 3 mm, inférieure à ce qui aurait été attendu en additionnant les effets individuels, indiquant un antagonisme.

Pour la vancomycine, une diminution similaire a été observée, avec une zone d'inhibition de $26 \pm 0,8$ mm. Aucune inhibition n'a été détectée pour la combinaison miel-imipénème, ce qui suggère que l'imipénème neutralise l'effet antibactérien du miel.

III.2.2.2 Miel à 50% et Antibiotiques à 50% :

Chez *Escherichia coli* :

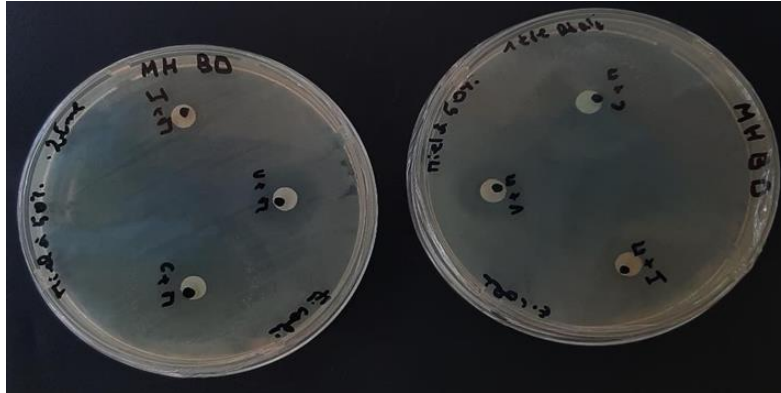


Figure 30 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur *Escherichia coli*.

L'effet combiné du miel de thym et de la céfazoline, mesuré par un diamètre de zone d'inhibition de $29 \pm 0,0$ mm, est inférieur à celui obtenu avec le miel ou avec l'antibiotique. Cette observation indique une interaction antagoniste entre le miel de thym et la céfazoline, réduisant l'efficacité antibactérienne lorsqu'ils sont utilisés ensemble.

En ce qui concerne la vancomycine, la combinaison avec le miel de thym génère une zone d'inhibition de $16 \pm 0,0$ mm. Bien que cette valeur soit inférieure à celle du miel (26 mm), elle dépasse légèrement celle de la vancomycine seule (11,5 mm). Cependant, l'effet combiné reste inférieur à la somme des effets individuels des deux agents (26 mm + 11,5 mm), ce qui suggère également un effet antagoniste plutôt qu'une synergie antibactérienne.

Enfin, l'association du miel de thym avec l'imipénème ne montre aucune zone d'inhibition, ce qui indique un antagonisme prononcé. L'interaction entre le miel et l'imipénème semble neutraliser l'efficacité de chacun des agents, réduisant ainsi leur potentiel antibactérien lorsqu'ils sont utilisés conjointement.

Chez *Pseudomonas aeruginosa* :



Figure 31 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% » sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Les résultats de cette configuration démontrent une synergie intéressante entre la céfazoline et le miel dans l'inhibition de *Pseudomonas aeruginosa*. L'association de ces deux agents a induit une zone d'inhibition significativement plus large que celle observée avec chacun des produits utilisés seul, suggérant un effet de potentialisation mutuelle.

Des résultats similaires ont été obtenus avec la vancomycine, confirmant l'effet synergique du miel avec cet antibiotique. En revanche, l'association de l'imipénème avec le miel a montré un effet antagoniste. Bien que l'imipénème seul ait inhibé la croissance bactérienne, l'ajout de miel a réduit cette inhibition, suggérant une interférence du miel avec l'activité de cet antibiotique.

Chez *Staphylococcus aureus* :

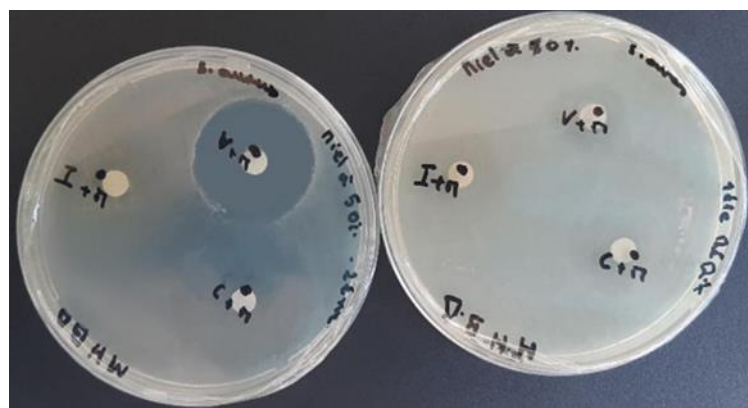


Figure 32 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur *Staphylococcus aureus*.

Les résultats observés avec *Staphylococcus aureus* confirment l'effet synergique observé avec les autres souches bactériennes. En effet, la combinaison de céfazoline et de miel a entraîné une augmentation significative de la zone d'inhibition, bien supérieure à la somme des effets individuels de chaque agent. Cette synergie suggère une potentialisation de l'activité antibiotique de la céfazoline en présence de miel

La vancomycine a également montré une synergie marquée avec le miel, renforçant ainsi l'hypothèse d'un effet bénéfique de l'association de ces substances sur l'activité antibactérienne. En revanche, l'association de l'imipénème avec le miel a conduit à une diminution de l'activité antibactérienne, mettant en évidence un effet antagoniste.

Chez *Klebsiella pneumoniae*

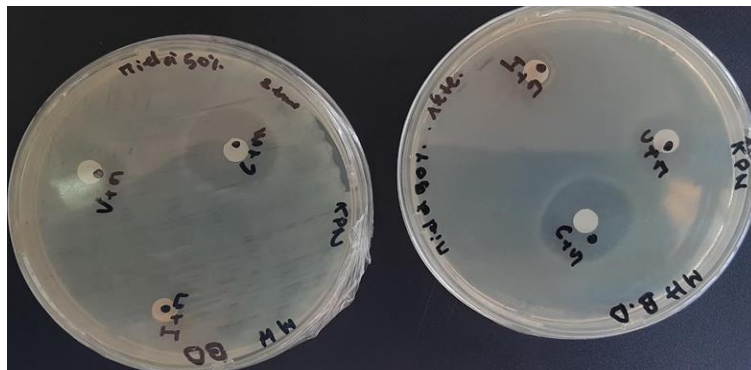


Figure 33 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50 % avec les antibiotiques à 50% sur *Staphylococcus aureus*.

L'association de la céfazoline et du miel de thym révèlent un effet antagoniste. La zone d'inhibition observée pour cette combinaison est inférieure à celle attendue en additionnant les effets individuels de chaque substance. Cela suggère que le miel de thym interfère avec l'activité antibactérienne de la céfazoline.

De manière similaire, l'association de la vancomycine et l'imipénème avec le miel de thym a entraîné une diminution de l'activité antibactérienne par rapport à ce qui était attendu. Ces résultats confirment l'effet antagoniste du miel de thym avec ces antibiotiques sur la bactérie.

Chez *Bacillus cereus*

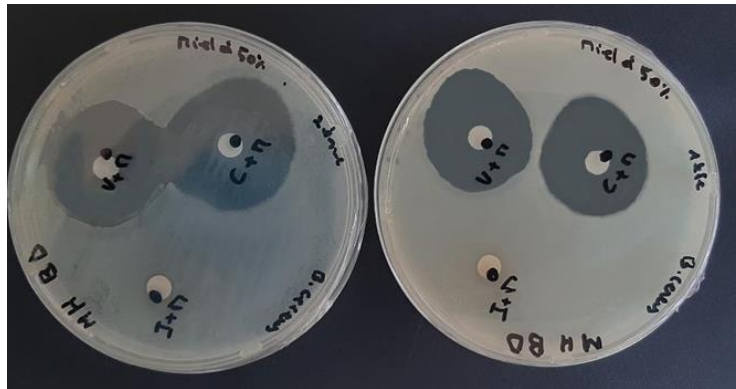


Figure 34 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 50% avec les antibiotiques à 50% sur *Bacillus cereus*.

Les résultats obtenus avec les combinaisons céfazoline-miel, vancomycine-miel et imipénème-miel ont systématiquement montré une synergie négative, ou antagonisme. La zone d'inhibition observée pour ces associations était inférieure à celle attendue en additionnant les effets individuels de chaque substance. Ces résultats indiquent que le miel interfère avec l'activité antibactérienne de ces trois antibiotiques, réduisant ainsi leur efficacité.

III.2.2.3 Miel à 75% et Antibiotiques à 25% :

Chez *Escherichia coli* :

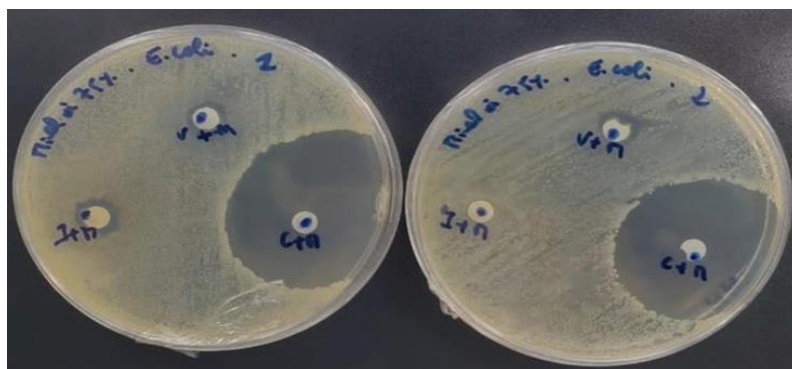


Figure 35 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur *Escherichia coli*.

L'effet combiné du miel de thym et de la céfazoline révèle un antagonisme. La zone d'inhibition observée pour cette combinaison est significativement inférieure à celle attendue en additionnant les effets individuels de chaque agent, suggérant une inhibition mutuelle de leurs activités antibactériennes sur *Escherichia coli*.

Plus visiblement encore, aucune zone d'inhibition n'a été détectée lors de l'association vancomycine-miel de thym, indiquant une inactivation complète de l'activité antibactérienne de la vancomycine en présence de miel. Enfin, l'association imipénème-miel de thym a également montré un antagonisme prononcé, avec une zone d'inhibition nettement inférieure à celle attendue.

Chez *Pseudomonas aeruginosa* :



Figure 36 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur *Pseudomonas aeruginosa*.

Nos résultats démontrent une synergie marquée entre la céfazoline et le miel dans la lutte contre *Pseudomonas aeruginosa*. L'association de ces deux agents a significativement amplifié leur activité antibactérienne. Des résultats similaires ont été observés avec la vancomycine. En revanche, une synergie négative a été constatée avec l'imipénème, le miel réduisant son efficacité.

Chez *Staphylococcus aureus* :

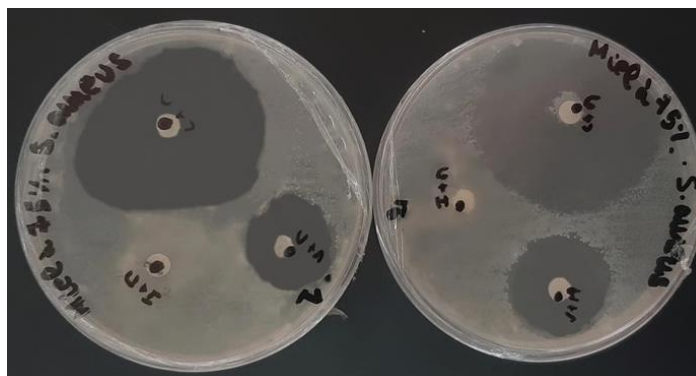


Figure 37 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75 % avec les antibiotiques à 25% sur *Staphylococcus aureus*.

L'étude de *Staphylococcus aureus* a mis en évidence une potentialisation significative de l'activité antibiotique de la céfazoline en présence de miel de thym, se traduisant par une augmentation notable de la zone d'inhibition. Cette synergie a également été observée avec la vancomycine. En revanche, l'imipénème a montré une inactivation complète en présence de miel, suggérant un mécanisme d'interférence direct.

Chez *Klebsiella pneumoniae* :

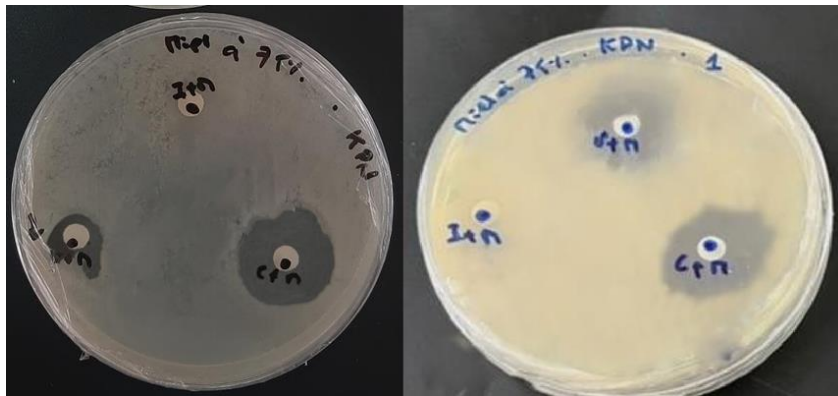


Figure 38 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur *Klebsiella pneumoniae*.

Nos résultats montrent que l'association de la céfazoline, de la vancomycine et de l'imipénème avec le miel de thym entraîne un effet antagoniste significatif. Dans chaque cas, l'activité antibactérienne de l'antibiotique est réduite en présence de miel, suggérant une interférence avec son mécanisme d'action.

Chez *Bacillus cereus* :

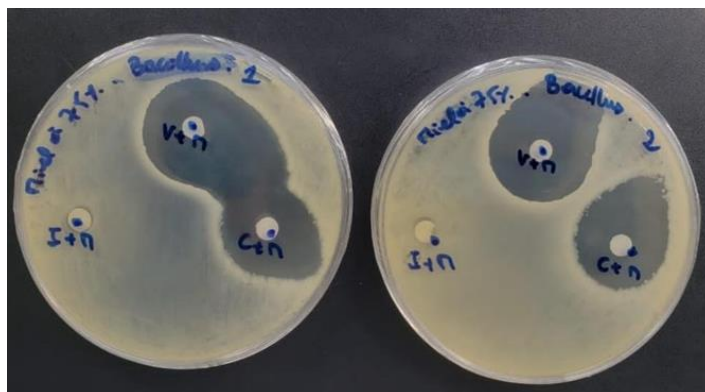


Figure 39 : Effet antibactérien des combinaisons du miel à 75% avec les antibiotiques à 25% sur *Bacillus cereus*.

Nos résultats révèlent une synergie négative entre le miel et les antibiotiques testés. L'activité antibactérienne de la céfazoline, de la vancomycine et de l'imipénème est inhibée en présence de miel, suggérant un mécanisme d'interférence direct.

IV. Discussion des résultats

D'après les résultats de l'activité antimicrobienne de la combinaison du miel et des antibiotiques, les conclusions suivantes ont été tirées :

L'étude a montré que les effets des combinaisons de miel et d'antibiotiques varient en fonction de la souche bactérienne et de la concentration de miel. Des effets additifs ont été principalement observés avec la céfazoline contre *Escherichia coli*. Une synergie notable a été constatée avec la céfazoline et la vancomycine contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Cependant, un antagonisme a dominé pour ces mêmes antibiotiques à des concentrations plus élevées de miel. *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus* ont montré des effets principalement antagonistes, où le miel a souvent réduit l'efficacité des antibiotiques. En résumé, les interactions entre le miel et les antibiotiques révèlent une tendance générale vers l'antagonisme, avec des exceptions selon la combinaison spécifique et la concentration de miel.

IV.1 Effets synergiques :

La combinaison du miel et de la céfazoline a montré un effet synergique dans certaines études, où la zone d'inhibition combinée était supérieure à celle attendue par la simple addition des effets individuels (Ganal et *al.*, 2014 ; Khalil et *al.*, 2016). Cette potentialisation peut être attribuée à des mécanismes tels que la modulation de la perméabilité de la membrane bactérienne par le miel, facilitant ainsi l'entrée de l'antibiotique.

De plus, nos résultats concordent avec l'étude menée par Jenkins et *al.*, (2015), qui a démontré que l'association du miel et de la céfazoline améliore significativement l'efficacité antibactérienne contre des souches telles que *Staphylococcus aureus*. Les résultats ont montré que cette combinaison réduit la concentration minimale inhibitrice (CMI) de la céfazoline, suggérant que le miel potentialise l'effet de l'antibiotique. Cette synergie est attribuée aux propriétés uniques du miel, telles que sa teneur en peroxyde d'hydrogène, qui peut augmenter la perméabilité bactérienne et faciliter l'entrée de la céfazoline dans les cellules bactériennes.

Par ailleurs, l'effet synergique du miel avec la vancomycine, observé dans notre étude, est également soutenu par une recherche menée par Maddocks et *al.*, (2012), qui a montré que l'association du miel et de la vancomycine augmentait significativement l'efficacité antimicrobienne, réduisant la concentration minimale nécessaire pour inhiber la croissance bactérienne. Cette combinaison a été particulièrement efficace contre les souches de SARM (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), où le miel a potentialisé l'effet de la vancomycine, probablement en perturbant la paroi cellulaire des bactéries et en facilitant l'action de l'antibiotique. Ces résultats suggèrent que l'utilisation combinée de miel et de vancomycine pourrait offrir une stratégie alternative pour traiter les infections bactériennes résistantes, réduisant ainsi la nécessité d'utiliser des doses élevées d'antibiotiques et minimisant les risques de résistance.

IV.2. Effets antagonistes :

En revanche, nos résultats montrent un antagonisme marqué lorsque le miel est combiné avec l'imipénème, ce qui est en accord avec les observations d'autres études (Ghanem et *al.*, 2011). Cette interaction pourrait être due aux sucres et aux composés phénoliques présents dans le miel, qui peuvent former des complexes avec l'antibiotique, limitant ainsi son efficacité (Jenkins et *al.*, 2011).

L'antagonisme observé avec certaines combinaisons, comme le miel et la vancomycine chez *Klebsiella pneumoniae* et *Bacillus cereus*, reflète les résultats de plusieurs études montrant que le miel peut interférer avec l'action de certains antibiotiques (Khan et *al.*, 2013 ; Saleh et *al.*, 2014). Les mécanismes possibles incluent des interactions avec les sites d'action des antibiotiques ou des effets sur les mécanismes de résistance bactérienne. Il est important de noter que les bactéries Gram+ et Gram- diffèrent par la structure de leur paroi cellulaire, ce qui peut influencer leur sensibilité au miel et aux antibiotiques. Par exemple, les bactéries Gram- possèdent une membrane externe supplémentaire qui peut limiter l'efficacité des traitements, tandis que les Gram+ sont plus exposées.

De plus, l'imipénème agit partiellement en générant des radicaux libres qui endommagent les parois cellulaires des bactéries. Les propriétés antioxydantes du miel de thym pourraient neutraliser ces radicaux libres, réduisant ainsi l'efficacité de l'imipénème. Des recherches antérieures ont montré que les composés antioxydants présents dans le miel peuvent neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ERO) produites par certains antibiotiques, comme le suggère l'étude d'Alvarez-Suarez et *al.*, (2014).

V. Analyses statistique

Les résultats ont été présentés sous forme de moyenne \pm écart-type afin d'évaluer les variations entre les valeurs des Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) et leurs répétitions. Une analyse de variance (ANOVA) a été conduite à l'aide du logiciel R pour examiner les différences entre les résultats de CMI. Les tests de Shapiro-Wilk et de Kruskal-Wallis ont été effectués pour évaluer la normalité des données et les différences entre les groupes respectivement. Un seuil de signification de 5% ($p\text{-value} < 0.05$) a été utilisé pour toutes les analyses.

Pour renforcer la validité des résultats, une Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) a été réalisée pour examiner les relations entre les variables et les individus. Cette approche permet une corrélation plus approfondie entre les différentes mesures et caractéristiques étudiées, offrant ainsi une compréhension plus holistique des résultats obtenus.

V.1 Analyse de la variance

Pour interpréter ces résultats statistiques, commençons par le test de normalité de Shapiro-Wilk appliqué à la variable CMI (Concentration Minimale Inhibitrice). Le test montre un faible $p\text{-value}$ ($p < 0,05$), suggérant ainsi que la distribution des données de CMI n'est pas normalement distribuée.

V.2 CMI en fonction de la souche

Ensuite, nous avons utilisé le test de Kruskal-Wallis pour évaluer les différences de CMI en fonction de la Souche. Le résultat montre un $p\text{-value}$ significatif ($p = 0,01074$), indiquant des différences statistiquement significatives entre les souches testées. En analysant les groupes, nous constatons que la CMI varie considérablement entre les souches, tels que *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* qui présentent des valeurs significativement plus élevées que d'autres.

V.3 CMI en fonction des combinaisons entre le miel de thym et les antibiotiques

De même, le test de Kruskal-Wallis appliqué à la variable Traitement (combinaisons) révèle des différences significatives ($p < 0,05$) de CMI entre les différents traitements testés. Les groupes de traitements sont également différents les uns des autres en termes de valeurs de CMI, certains traitements montrant des valeurs plus élevées que d'autres.

V.4 CMI en fonction de l'interaction entre les antibiotiques et les souches

Enfin, ce test pour l'interaction entre les facteurs montre également des différences significatives ($p < 0,05$) de CMI. Cela suggère que l'effet du traitement sur la CMI peut varier en fonction de la souche ou d'autres facteurs d'interaction.

Ces résultats soulignent l'importance des variables telles que la souche et le traitement dans la détermination de la CMI. Ils indiquent également que certaines souches peuvent être plus résistantes à certains traitements que d'autres, ce qui pourrait avoir des implications importantes en termes de sélection et d'utilisation appropriée des agents antimicrobiens.

V.5. Analyse Factorielle des Correspondances (AFC)

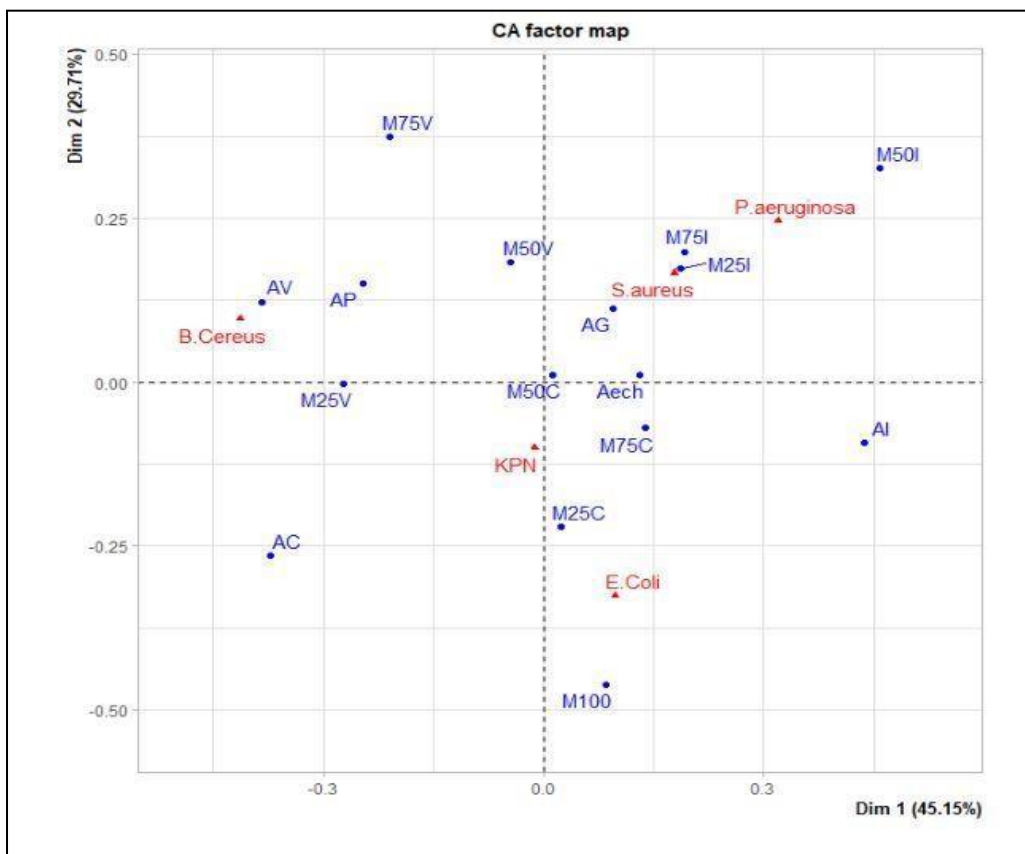


Figure 41 : Analyse Factorielle des Correspondances (AFC) de variables.

NB :

A ech : échantillon du miel de thym

AC : antibiotique Céfazoline

AG : Antibiotique gentamicine

AI : Antibiotique imipenème

AP : Antibiotique Pénicilline

AV : Antibiotique Vancomycine

KPN : *Klebsiella pneumonia*

M100 : Miel pur

M25C : Miel à 25% et céfazoline à 75%

M25I : Miel 25% et Imipenème à 75%

M25V : Miel à 25% et Vancomycine à 75%

M50C : Miel à 50% et céfazoline à 50%

M50I : Miel à 50% et Imipenème à 50%

M50V : Miel à 50% et Vancomycine à 50%

M75C : Miel à 75% et céfazoline à 25%

M75I : Miel à 75% et Imipenème à 25%

M75V : Miel à 75% et Vancomycine à 25%

Le graphique des individus permet d'étudier la relation entre les différents types d'antibiotiques en association avec différentes concentrations de miel, afin de déduire l'effet antimicrobien contre différentes bactéries. Cela permet d'obtenir une analyse factorielle des correspondances suivantes :

- ***Bacillus cereus***

Cette bactérie présente plusieurs points de conjonction positive. Cependant, elle est plus étroitement liée à l'antibiotique vancomycine (AV) et à la pénicilline (AP) qu'aux combinaisons du miel à 75% et vancomycine à 25% (M75V) et du miel à 50% et la vancomycine à 50% (M50V). Cela signifie que ces antibiotiques sont susceptibles d'être efficaces contre cette bactérie. Elle est en quadrature avec les combinaisons du miel à 50% et l'imipenème à 50% (M50I), miel à 75% et l'imipenème à 25% (M75I) et de miel à 25% et l'imipenème à 75% (M25I). Il est possible que l'imipenème (AI) ne soit pas aussi efficace contre *Bacillus cereus*. Cette dernière est en opposition avec l'antibiogramme de céfazoline (AC) et la combinaison miel 25% / vancomycine 75% (M25V), ce qui en déduit que ces antibiotiques peuvent ne pas être appropriés pour le traitement de cette bactérie.

- ***Staphylococcus aureus et Pseudomonas aeruginosa***

Ces bactéries présentent une conjonction positive avec les combinaisons du miel à 75% et l'imipénème à 25% (M75I) et du miel à 25% et l'imipénème à 75% (M25I). Cela suggère que l'imipénème pourrait être efficace contre ces bactéries. Elles sont également en quadrature avec plusieurs autres combinaisons (miel à 50% / imipénème 50% (M50I), miel 50% / céfazoline 50% (M50C)), la gentamicine (AG) et l'échantillon dilué dans le méthanol (Aech), ce qui indique que ces antibiotiques pourraient ne pas être aussi efficaces contre ces deux bactéries. En outre, elles sont en opposition avec l'imipénème (AI), la combinaison du miel à 25% et de la céfazoline à 75% (M25C), et le miel pur (M100). Il est possible que cet antibiotique et l'échantillon de miel pur ne conviennent pas au traitement.

- ***Klebsiella pneumoniae***

Cette bactérie est positivement liée à la combinaison du miel à 25% / vancomycine à 75% (M25V) et à la céfazoline (AC). Cela implique que cette bactérie est réceptive à ces combinaisons. Elle est en opposition avec la combinaison du miel à 75% et la vancomycine à 25% (M75V), ce qui implique que cette dernière est inefficace contre cette bactérie. Par ailleurs, elle est en quadrature avec les combinaisons miel 25% / imipénème 75% (M25I), miel 75% / imipénème 25% (M75I) et l'imipénème (AI), ce qui pourrait indiquer une certaine résistance ou une réponse mitigée à ces traitements.

- ***Escherichia coli***

Cette souche présente une conjonction positive avec la combinaison du miel à 25% et de la vancomycine à 75% (M25C) et le miel pur (M100), avec un lien plus significatif que les combinaisons miel 75% / céfazoline 25% (M75C) et l'antibiotique imipénème (AI). Cela signifie qu'*Escherichia coli* est sensible à ces traitements. Elle est en quadrature avec la céfazoline (AC) et la combinaison du miel à 25% et la vancomycine à 75% (M25V), ce qui mène à constater que ces antibiotiques n'ont pas d'effet antimicrobien sur cette bactérie. Elle est en opposition avec l'échantillon (Aech), la combinaison miel 50% / céfazoline 50% (M50C), les combinaisons miel / imipénème (M25I, M50I, M75I) et la gentamicine (AG), donc tous ces traitements ne sont pas convenables comme antibactériens pour cette souche.

En synthèse, l'analyse factorielle des correspondances a permis de visualiser les relations entre différents types d'antibiotiques associés à différentes concentrations de miel, dans le but d'évaluer leur effet antimicrobien sur différentes souches bactériennes.

Ces conclusions soulignent la nécessité d'une sélection appropriée des traitements antimicrobiens en fonction de la souche bactérienne ciblée, mettant en évidence les options les plus prometteuses et identifiant celles qui pourraient être moins efficaces ou inefficaces.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Le miel, en tant que substance naturelle, constitue une source fiable de principes actifs reconnus pour leurs vertus thérapeutiques. Sa richesse en composés bioactifs, notamment flavonoïdes, acides phénoliques et enzymes, lui confère des propriétés antimicrobiennes, antioxydantes et anti-inflammatoires. Face à la montée des résistances bactériennes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus considéré comme une alternative thérapeutique prometteuse et un complément potentiel dans les traitements antimicrobiens.

La présente étude a permis d'analyser les caractéristiques physico-chimiques d'un échantillon de miel de thym, en se concentrant notamment sur son pH, son acidité libre, sa teneur en eau, son degré de Brix, ainsi que son contenu en flavonoïdes et polyphénols. L'activité antioxydante a été évaluée à l'aide du test DPPH. Les résultats obtenus se sont conformés aux normes internationales du Codex Alimentarius, à l'exception du degré de Brix (indiquant la matière sèche), qui s'est avéré supérieur aux exigences. Cette anomalie pourrait être attribuée à des conditions climatiques particulières de la région de Biskra favorisant une concentration accrue des sucres.

L'activité antibactérienne du miel de thym a été examinée principalement par la méthode de diffusion en milieu gélosé, permettant de mesurer les diamètres des zones d'inhibition autour des disques imprégnés de miel. Cela a permis de déterminer les effets bactériostatiques ou bactéricides du miel. Une étude complémentaire portant sur la combinaison du miel avec trois antibiotiques sous forme liquide (vancomycine, céfazoline et imipénème) a révélé un effet synergique significatif contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*, ainsi qu'un effet indifférent contre *Bacillus cereus*.

Plus précisément, la combinaison du miel avec la céfazoline et la vancomycine a montré des effets synergiques importants à deux concentrations différentes : 50% de miel + 50% d'antibiotique, et 75% de miel + 25% d'antibiotique, vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. En revanche, la combinaison du miel avec l'imipénème a produit un effet antagoniste contre toutes les souches testées, sauf *Bacillus cereus*, où un effet indifférent a été observé avec une concentration de 25% de miel et 75% d'imipénème.

Ces résultats suggèrent que la combinaison du miel de thym provenant de la région de Biskra, en Algérie, avec certains antibiotiques, présente un effet plus marqué que leurs utilisations seules vis-à-vis les bactéries.

Les résultats de cette étude ouvrent des perspectives intéressantes pour de futures recherches. Afin d'approfondir la compréhension des propriétés antibactériennes du miel de thym et de ses synergies avec les antibiotiques, plusieurs axes pourraient être explorés :

- Évaluer l'efficacité de ces combinaisons sur un panel plus large de souches bactériennes, en particulier celles présentant des multirésistances aux antibiotiques.
- Comparer l'activité antibactérienne de différentes variétés de miel provenant de diverses régions géographiques afin d'identifier les composés actifs spécifiques responsables des synergies observées.
- Effectuer des études *in vivo* pour valider les résultats obtenus *in vitro* et évaluer l'efficacité thérapeutique de ces combinaisons dans un organisme vivant.

En conclusion, bien que les résultats de cette étude soient prometteurs, ils ouvrent également la voie à de nouvelles recherches visant à optimiser et à mieux comprendre les combinaisons thérapeutiques de miel de thym et d'antibiotiques. Ces efforts sont cruciaux pour développer des stratégies efficaces contre les infections résistantes aux traitements conventionnels et représentent un pas important vers des solutions durables dans la lutte contre l'antibiorésistance.

RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques

- ABDELLI S.K, BEDIAR. K, BEDRI. K. (2019).** Effet antibactérien du miel utilisé seul et additionné aux antibiotiques sur *Pseudomonas aeruginosa*. Thèse de master. *Univéristé d'Ibn khaldoun, tiaret*.
- ABDULAZIZ M. Q. A. (2012).** An Economic Analysis of Honey Production Performance in Al-Baha Region.Kingdom of Saudi Arabia.MSc. *Thesis, King Saud University, Department of Agricultural Economics*.
- AJLOUNI S., SUJIRAPINYOKUL P. (2010).** Hydroxymethylfurfural aldehyde and amylase contents in Australian honey. *Food Chemistry.119 :1000-1005*.
- ALEKSHUN M.N., LEVY S.B., (2007).** Molecular mechanisms of antibacterial multidrug resistance. *Cell, 128, 1037-1050*.
- ALI, M. N., RUMPA, N. E., ISLAM, M. T., UDDIN, M. S. (2013).** In vitro synergy between honey and Vancomycin against *Staphylococcus aureus* isolated from wound swab. *Bangladesh Journal of Medical Microbiology. 07(02), 28-31*.
- ALLEN, H.K., DONATO, J., WANG, H.H., CLOUD-HANSEN, K.A., DAVIES, J., HANDELSMAN, J., (2010).** Call of the wild : antibiotic resistance genes in natural environments. *Nat. Rev. Microbiol. 8, 251–259. doi :10.1038/nrmicro2312*.
- AL-MAMARY M., AL-MEERY A., AL-HABORI M. (2002).** Antioxidant activities and total phenolic of different types of honey. *Nutrition Research 22 :1041–7*.
- ALQARNI A., OWAYSS A., MAHMOUD A. (2016).** Physicochemical characteristics, total phenols and pigments of national and international honeys in Saudi Arabia. *Journal of Chemistry 9, 114–120*.
- ALVAREZ-SUAREZ, J. M., GIAMPIERI, F., & BATTINO, M. (2014).** Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability, and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Current Medicinal Chemistry, 21(5), 679-691. doi:10.2174/0929867320666131216104516*
- ALVAREZ-SUAREZ, J.M., GASPARRINI, M., FORBES-HERNANDEZ, T.Y., MAZZONI, L., & GIAMPIERI, F. (2020).** The Composition and Biological Activity of Honey : A Focus on Manuka Honey. *Foods, 9(11), 1282*.
- AL-WAILI, N. S. (2004).** Investigating the antimicrobial activity of natural honey and its effects on the pathogenic bacterial infections of surgical wounds and conjunctiva. *Journal of medicinal food, 7(2), 210-222*.

Références bibliographiques

- Al-Waili, N., Salom, K., Al-Ghamdi, A., & Ansari, M. J. (2011).** Antibiotic, Pesticide, and Microbial Contaminants of Honey: Human Health Hazards. *The Scientific World Journal*, *11*, 1307-1318.
- AMHIS W., BENSLIMANE A., TIOUIT D. ET NAIM M., 2001.** Tests de sensibilité utiles au traitement antibiotique. *Médecine du Maghreb* n°91.
- AMRI A., ADJAMA A., TAHAR A. (2007).** Étude de quelques miels produits à l'est Algérien : Aspect physico-chimique et biochimique. *Revue Synthèse* .17 :57-63.
- ANDREWS, J. M. (2001).** Determination of minimum inhibitory concentrations. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, *48(suppl_1)*, 5-16.
- ARVOUET-GRAND, A. ; VENNAT, B. ; POURRAT, A.; LEGRET, P. (1994) .** Standardization of propolis extract and identification of principal constituents. *J. Pharm. Belg.* 1994, *49*, 462–468.
- AYESHA, N., AYESHA, F., & MYRENE, R. D. (2016).** Journal of Chemical, Biological and Physical Sciences.
- AZONWADE F., ARMAND A., COKOU P., AGBANGNAND., DOUGNON T., N'TCHA C., MOUSSE W., BABA-MOUSSA L. (2017).** Polyphenolic profile, and antioxidant and antifungal activities of honey products in Benin. *African Journal of Microbiology Research*. 9-18, 7.
- AZONWADE F.E., PARAISO A., DOSSA CPA ET AL. (2018).** Physicochemical characteristics and microbiological quality of honey produced in Benin. *Journal of Food Quality*. 2018 :1–13.
- BALLOT-FLURIN C. (2009).** Les bienfaits de l'apithérapie. 1 ère Edition. *Eyrolles* .158 p.
- BARONI, M.V., ARRUA, C., NORES, M.L., FAYE, P., DEL PILAR DIAZ, M., CHIABRANDO, G.A., WUNDERLIN, D.A. (2009).** Composition of honey from Cordoba (Argentina) : assessment of North/South provenance by chemometrics. *Food Chemistry*. *114*, 727-733.
- BASUALDO, C., SGROY, V., FINOLA, M. S., & MARIOLI, J. M. (2007).** Comparison of the antibacterial activity of honey from different provenance against bacteria usually isolated from skin wounds. *Veterinary Microbiology*, *124(3-4)*, 375-381.
- BELHAJ O., OUMATO J., ZRIRA S. (2015).** Etude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Marocan science Agronomy and Veterinary*.3(3),71-7.

Références bibliographiques

- BENKHOUCHA K., CHENAWI K., MAZOUNI R., (2020).** Analyses Physico-chimique et Polliniques de Quelques Miels d'Algérie. Mem de Master microbiologie appliquée. *Université Djilali Bounaama de Khemis-Miliana.*
- BETTAR I., GONZALEZ-MIRET M., HERNANZ D., MARCONI A., HEREDIA F.J. AND TERRAB A. (2015).** Characterisation of Moroccan Spurge (Euphorbia) honeys by their physicochemical characteristics, mineral contents and colour. *Advanced Journal of chemistry.*
- BLAIR, S. E., COKCETIN, N. N., HARRY, E. J., & CARTER, D. A. (2009).** The unusual antibacterial activity of medical-grade *Leptospermum* honey: antibacterial spectrum, resistance and transcriptome analysis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 28(10), 1199-1208.
- BOERLIN P., REID-SMITH R.J (2008).** Antimicrobial resistance: its emergence and transmission. *Anim. Health Res. Rev.*, 9, 115-126.
- BOGDANOV S. (1997).** « Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey ». *Lebensm.-Wiss. . Technologie.* 748–753.
- BOGDANOV S., BEIRI K., FIGAR M., FIGUEIREDO V., IFF D., KANZING A., STOCHLI H., ZURCHER K. (1995).** Miel : définition et directives pour l'analyse et l'appréciation. *Livre Suisse des denrées alimentaires.* 1-26.
- BOGDANOV, S., JURENDIC, T., SIEBER, R., GALLMANN, P. (2008).** Honey for nutrition and health. *Journal of the American college of nutrition.* 27 :677-689.
- BONTÈ F, DESMOLIÈRE A (2013),** Le miel : origine et composition, *Actualités Pharmaceutiques*, Volume 52, Issue 531, 2013.
- BOUKRAA, L., & SULAIMAN, S. A. (2013).** Honey and microbial infections: a review supporting the use of honey for microbial control. *Journal of Medicinal Food*, 16(2), 85-96. doi:10.1089/jmf.2012.0025
- BOUSSAID, A., CHOUAIBI, M., REZIG, L., HELLAL, R., DONSI, F., FERRARI, G. ET HAMDI, S. (2018).** Propriétés physicochimiques et bioactives de six échantillons de miel de diverses origines florales de Tunisie. *Journal arabe de chimie*, 11 (2), 265-274.
- BOUYAHYA A. (2016).** ALICAMENTS : des aliments aux médicaments, quel apport pour la santé ? *Universel Sciences Sante* 1:1–3.
- BRAND -WILLIAMS W., CUVELIER M. E. ET BERSET C. (1995).** Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie Food sciences technology. Technology.* 28 : 25- 30.

Références bibliographiques

- BRUNEAU E (2002).** Les produits de la ruche. In Le traité rustica de l'apiculture. Paris, *Rustica*, 2002, p. 354-384.
- BUENO-COSTA F., ZAMBIAZI R., WENDT BOHMER B., CHAVES F., DA SILVA W., ZANUSSO J., DUTRA I. (2016).** Antibacterial and antioxidant activity of honey from the state of Rio Grande, Brazil. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie-Food science and Technology*, 65:333-340.
- BUSH, K., & FISHER, J. F. (2011).** Epidemiological expansion, structural studies, and clinical challenges of new β -lactamases from Gram-negative bacteria. *Annual review of microbiology*, 65, 455-478.
- BUSH, N. G., DIEZ-SANTOS, I., ABBOTT, L. R., MAXWELL, A. (2020).** Quinolones :Mechanism, Lethality and Their Contributions to Antibiotic Resistance.
- CAILLAS A. (1974).** Le rucher de rapport, Les produits de la ruche, Traité pratique d'apiculture moderne, Edition. *Syndicat national d'apiculture, Paris*, .497.
- CAN Z., YALDIZ O., SAHIM H., TURUMTAY E., SILICI S., KOLAYLI S. (2015).** Anvestigation of Turkish honeys : their Physic-chemical Properties, antiorycht capacities and phenolic profiles. *Food Chemistry*, 180 : 133-141.
- CARDOT MARTIN, E., DUMITRESCU, O., LESPRIT, P. (2019).** La résistance aux antibiotiques. *Publié le 06.12.19*.
- CAVACO L.M., HASMAN H., XIA S., AARESTRUP F.M. (2009).** qnrD, a novel geneconferring transferable quinolone resistance in Salmonella enterica sérovar Kentucky and Bovismorbificans strains of human origin. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2009, 53, 603- 608.
- CAVARET C. (2009).** Physicochemical characteristics and sensory profile of honey samples from stingless bees (Apidae: Meliponiane) submitted to a dehumidification process .*Anais de academia Brasileira de Ciências*. 143-149.
- CAVELIER, E. (2013).** Le miel : composition et techniques de production. Mémoire de master de traduction italien-français. *Université Sorbonne Nouvelle–Paris*, 3, 121.
- ČESKSTERYTE, V., KAZLAUSKAS, S., RACYS, J., (2006).** Composition of flavonoids in Lithuanian honey and bee bread. *Biologija*, 2 : 28-33.
- CHAKIR A., ROMANE A., MARCAZZAN G.L., FERRAZZI P. (2011).** Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco, *A.Journal food chemistry*.

Références bibliographiques

- CHATAWAY H.D. (1935).** Honey tables, showing the relationship between various hydrometer scales and refractive index to moisture content and weight per gallon of honey. *The American bee Journal*.43 : 215–220.
- CHUNG, P. Y., & WONG, C. W. (2011).** Antimicrobial activity of chemical constituents from the root of *Astragalus membranaceus* against *Escherichia coli*. *PLoS One*, 6(9), e25147.
- CLEMENT H. (2002).** Guide des miels. Paris, *Rustica*, 64 p.
- CLEMENT H. (2011).** Le traité Rustica de l'apiculture. *Rustica*,528 p.
- CODEX ALIMENTARIUS COMMISSION (2010).** Draft guidelines for risk analysis of foodborne antimicrobial resistance. In : Report of the fourth session of the Codex ad hoc Intergovernmental Task Force on Antimicrobial Resistance, Muju, *Republic of Korea*, 18–22 October 2010, 2011, 25-49.
- COMMISSION EUROPEENNE. (2002).** Directive 2001/110/EC du 20 décembre 2001 relative au miel. *Journal Officiel des Communautés Européennes*, L10, 47-52.
- CONTI M., FINOIA M., FONTANA L., MELE G., BOTRE F., IAVICOLI I. (2014).** Caractérisation of Argentine honeys on the basis of their mineral content and some typical quality parameters. *Chemistry Central Journal*, 8(1), p : 44.
- CONTRERA, F. A. L., IMPERATRIZ-FONSECA, V. L., & KOEDAM, D. (2010).** Trophallaxis and reproductive conflicts in social bees. *Insectes sociaux*, 57, 125-132.
- COOPER, R. A., MOLAN, P. C., & HARDING, K. G. (2002).** Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *Journal of the Royal Society of Medicine*, 95(9), 326-329.
- CUSHNIE.T-T., LAMB.A-J. (2005).** Antimicrobial activity of flavonoids. *International Journal of Antimicrobien Agents* .26(5) : 343.
- DA SILVA P., GAUCHE C., GONZAGA L.V., OLIVEIRA COSTA, A.C., FETT R. (2016).** Honey chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196 :309-323.
- DARRIGOL J. (2007).** Apithérapie : miel, pollen, propolis, gelée royale. *Dangles*, 271 p.

DAS, S . , RICHARDS,S . , AZIZ,N . , BALE,S . , BICK,D . , GASTIER-FOSTER,J . , GRODY,W.,HEGDE,M .,LYON,E .,SPECTRO,E .,VOELKERDING,K .,REHM .H-L.(2015). Standards and guidelines for the interpretation of sequence variants : a joint consensus recommendation of the American College of Medical Genetics and Genomics and the Association for Molecular Pathology. *Genetics in medicine*,17, 405.

DAVIES J, DAVIES D. (2010)., Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev.* ;74(3) :417-33. doi : 10.1128/MMBR.00016-10.

DELPHINE I. (2010). « Le miel et ses propriétés thérapeutiques ». *Thèse de doctorat*.23-25.

DE-MELO, A. A. M., ESTEVINHO, L. M., MOREIRA, M. M., DELERUE-MATOS, C., FREITAS, A. D. S. D., BARTH, O. M., & ALMEIDA-MURADIAN, L. B. D. (2018). Phenolic profile by HPLC-MS, biological potential, and nutritional value of a promising food: Monofloral bee pollen. *Journal of Food Biochemistry*, 42(5), e12536.

DIAFAT A., BENOUADAH A., BAHLOUL A., MERIBAI A., MEKHALFI H., BOUAZIZ F., TECHACHE D., LAABACHI H. ARRAR L. (2017). Physicochemical properties and pollen analyzes of some Algerian honeys. *International Food Research Journal* 24(4): 1453-1459.

DOMERGO R. (2009). Santé,bien-etre,Apitherapie.

ELBACHIRI A. (2018). Physicochemical Properties of some Honeys Produced from Different Flora of Eastern Morocco. *Journal Materials and Environmental Sciences.* 9(3),879-889.

ESCUREDO O., SILVA-LUIS R., VALENTAO P., SEIJO M., ANDRADE P. (2013). « Assessing. Rubus honey value : pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity ». *Food chemistry*, 671-678.

ESTEVINHO, L., AFONSO, S. E., FEAS, X., & ESTEVINHO, L. M. (2008). Antifungal effect of lavender honey against *Candida albicans*, *Candida krusei* and *Cryptococcus neoformans*. *Journal of Food Science and Technology*, 3(6), 377-383.

ETERAF-OSKOU EI, T., & NAJAFI, M. (2013). Traditional and modern uses of natural honey in human diseases: A review. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 16(6), 731-742.

EUCAST. (2003). « Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) of antibacterial agents by agar dilution ». *European Committee for antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) of the European society of clinical microbiology and infection diseases (ESCMID). Definitive Document E. 3.1.2000.*

- FAHIM H., DASTI J., ALI I., AHMED S., NADEEM M. (2014).** Physico-chemical, analysis and antimicrobial potential of *Apis dorsata*, *Apis mellifera* and *Ziziphus jujube* honey samples from Pakistan. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 633–641.
- FAJARDO, A., LINARES, JF., MARTINEZ, JL. (2009).** Towards an ecological approach to antibiotics and antibiotic resistance genes. *Clin Microbiol*, 15: 14-16.
- FANNY BALAS. (2015).** Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale : revue de la littérature. *Médecine humaine et pathologie*.
- FAURE, S. (2009).** Transfert d'un gène de résistance aux B-lactamines bla.CTX-M-9 entre *Salmonella* et les entérobactéries de la flore intestinale humaine : impact d'une Antibiothérapie, unité Pharmacocinétique-Pharmacodynamie, *AFSA Ecole Doctorale. Vie- Agro-Santé*, 75 :103-108.
- FINCH, R. C., GREENWOOD, D., LENTINO, J. (2003).** Antibiotic and chemotherapy: anti-infective agents and their use in therapy.
- GADAW A., JOUBERT C., HANSMANN F. (1997).** Comparaison of the antioxidant activity of aspalathin with that of other plant phenols of rooibos tea (*aspalathus linearis*), a tocopherol, BHT, and BHA. *Journal of Agricultural Food Chemistry*. 45 : 632-638.
- GHARBI M. (2011).** Les produits de la ruche : origines, fonctions naturelles, composition, propriétés thérapeutiques, apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. *Vetagro sup, campus vétérinaire de Lyon*, 234p.
- GHELDOLF N. AND ENGESETH, N.J. (2002) :** Antioxidant capacity of honeys from various floral sources based on the determination of oxygen radical absorbance capacity and inhibition of in vitro lipoprotein oxidation in human serum samples. *Journal of Agricultural Food Chemistry*, 50, 3050–3055.
- GOMES S., DIAS L., MOREIRA L., RODRIGUES P., ESTEVINHO L. (2010).** Physicochemical, microbiological and antimicrobial properties of commercial honeys from Portugal. *Food and Chemical Toxicology*. 48 : 544-548.
- GOUT, J. (2008),** 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles. *Ed. Gerfaut : Paris*. P216.
- GUARDABASSI L., COURVALIN P., (2006).** Modes of antimicrobial action and mechanisms of bacterial resistance. In : Aarestrup F.M. (Ed.), *Antimicrobial resistance in bacteria of animal origin. ASM Press : Washington*, 1-18.

- HABIB, H. M., AL MEQBALI, F. T., KAMAL, H., SOUKA, U. D., & IBRAHIM, W. H. (2014).** Bioactive components, antioxidant and DNA damage inhibitory activities of honeys from arid regions. *Food chemistry*, 153, 28-34.
- HADERBACHE L., BOUSDIRA M., ET MOHAMMEDI A. (2013).** Ziziphus lotus and euphorbia bupleuroides Algerian honeys. *World Applied Sciences Journal* 24 (11): 1536-1543.
- HALAWANI E., 2009.**Antibacterial Activity of Thymoquinone and Thymohydroquinone of Nigella sativa L. and Their Interaction with Some Antibiotics. *Advan. Biol. Res.* 3 (5-6), 148-152.
- HALIMI, H. (2018).** Etudes melissopalynologique, physico-chimique et antibactérienne de quelques échantillons DE miels du sud algérien. *Thèse de doctorat. Univ. Kasdimerbah. Ouargla.*111 pp.
- HAMMOUDI HALAT, D., KRAYEM, M., KHALED, S., YOUNES, S. (2022).** A focused insight into thyme: Biological, chemical, and therapeutic properties of an indigenous Mediterranean herb. *Nutrients*, 14(10), 2104.
- HARBANE, S., ESCUREDO, O., SAKER, Y., GHORAB, A., NAKIB, R., RODRIGUEZ-FLORES, M. S., ... & SEIJO, M. C. (2024).** The Contribution of Botanical Origin to the Physicochemical and Antioxidant Properties of Algerian Honeys. *Foods*, 13(4), 573.
- HOOPER, D. C., SHENOY, E. S., ELSHABOURY, R. H. (2022).** Treatment and Prophylaxis of Bacterial Infections. In : Loscalzo J, Fauci A, Kasper D, Hauser S, Longo D, Jameson J. eds. Harrison. *Principles of Internal Medicine*, 21e. McGraw-Hill Education.
- IGLESIAS A., FEAS A., RODRIGUES S., SEIJAS J., DIAS L., ESTEVINHO L. (2012).** Comprehensive study of honey with protected denomination of origin and contribution of enhancement of legal specifications. *Molecules*.8561-8577.
- IRLANDE D. (2010).** Le miel et ses propriétés thérapeutiques. Mémoire en pharmacies. *Université de Paris France*.
- ISLAM A., KHALIL I., ISLAM N., MONIRUZZAMAN M., MOTTALIB A., SULAIMAN S.A. ET JAGANATHAN S.K., & MANDAL M. (2009).** Antiproliferative effects of honey and its 404 polyphenols: A review. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*,2009, 1-13.

- JENKINS, R., BURTON, N., & COOPER, R. (2015).** Effect of manuka honey on the in vitro activity of β -lactam antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(6), 667-672. doi:10.1016/j.ijantimicag.2015.09.013
- JOSE ÁNGEL P.Á., (2011).** « Antioxidant Activity of Artisanal Honey from Tabasco, Mexico. » *International Journal of Food Properties*, Vol : 14 :2, P. 459-470.
- KAPER, J. B., NATARO, J. P., & MOBLEY, H. L. (2004).** Pathogenic *Escherichia coli*. *Nature Reviews Microbiology*, 2(2), 123-140.
- KAVANAGH S., GUNNOO J., PASSOS T., JANE C., STOUT M. AND WHITE B. (2019).** Physicochemical properties and phenolic content of honey from different floral origins and from rural versus urban landscapes. *Journal Food Chemistry*, 272 : 66–75.
- KUÇUK M., KOLYLIS S., KARAOLU S., ULUSOY E., BALTACIC AND CANDAN F.(2007).** Biological activities and chemical composition of the honeys of different types of Anatolia. *Journal Food Chemistry*, 100 : 526-534.
- KUMAR A., SINGH GILL J.P., SINGH BEDI J., MANAV M., ANSARI M.J. AND SINGH WALIA G. (2018).** Sensorial and physicochemical analysis of Indian honeys for assessment of quality and floral origins. *International food research journal*, 108 : 571–583.
- KWAKMAN P., TE VELDE A., DE BOER L., SPEIJER D., VANDENBROUCKE-GRAULS C., ZAATS.A.(2010).** How honey kills bacteria. *The FASEB Journal*.2576-2582.
- KWAKMAN, P. H. S., & ZAAT, S. A. J. (2010).** Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*, 62(1), 48-55. doi:10.1002/iub.290.
- LAURA LASLO, STEFAN BOGDANOV (2009).** Physico-chemical and bioactive properties of different floral origin honeys from Romania, *Food Chemistry*, Volume 112, Issue 4, 2009.
- LECLERCQ, R. (2008).** Mechanisms of resistance to glycopeptide antibiotics. *Infection and Drug Resistance*, 1, 49-57.
- LEQUET L. (2010).** Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils, pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. *L'université Claude-Bernard- Lyon1 (médecine-pharmacie)*. P185
- LIBEN T., ATLABACHEW M., A ABEBE A. (2018).** Total phenolic, flavonoids and some selected pathogenic bacteria. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 4: 1475925.

- LIVERMORE, D. M. (2002).** Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clinical Infectious Diseases*, 34(5), 634-640.
- LIWA, A.C., JAKA, H., (2015).** Antimicrobial resistance : Mechanisms of action of antimicrobial agents. Battle Against Microb. Pathog. *Basic Sci. Technol. Adv. Educ. Programs* 876–885.
- LOUAILECHE H. (2016).** Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Lebensmittel-Wissenschaft & Technologie Food Science and Technology*.S0023-6438(16)30774-5DOI: 10.1016.
- MADDOCKS, S. E., & LOPEZ, M. S. (2016).** Honey-mediated inhibition of *Pseudomonas aeruginosa* biofilm formation and virulence factor production. *Microbiology*, 162(1), 84-91.
- MADDOCKS, S. E., LOPEZ, M. S., ROWLANDS, R. S., & COOPER, R. A. (2012).** Manuka honey inhibits the development of *Streptococcus pyogenes* biofilms and causes reduced expression of two fibronectin binding proteins. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 67(12), 2695-2702. doi:10.1093/jac/dks301
- MAKHLOUFI CH. (2010).** Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels Algérienne. Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en science agronomiques. *Université Alger*35-39.
- MANDAL S, DEBMANDAL M, PAL N.K ET SAHA K., 2010.** Synergistic anti *Staphylococcus aureus* activity of amoxicillin in combination with *Emblica officinalis* and *Nymphae odorata* extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*: 711-714.
- MANDAL, M. D., & MANDAL, S. (2011).** Honey : its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 1(2), 154-160.
- MANGIN, L. (2016).** Antibiotiques et résistances : enquête sur les connaissances et les comportements du grand public. Thèse de doctorat. *Univ.Lorraine. France*.101 pp.
- MANYI-LOH, C. E., CLARKE, A. M., & NDIP, R. N. (2011).** An overview of honey: Therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. *African Journal of Microbiology Research*, 5(8), 844-852.
- MANZOOR, M., SHAH.G-H-N., MATHIVANAM, V., MIR.G M., SELVISABHANAYAKAYAM, M. (2013).** chemical analysis of honey of *Apis mellifera* and *Apis dorsata* from plains of jammu and kashmir and tamilnadu, *Internationale de la science et de la recherche agricoles*.3 :141.

MARCHENAY P., BERARD L. (2007). L'homme, l'abeille et le miel. *Editions de Borée.*, p.98.

MATO I. S., HUIDOBRO J. F., SIMAL-LOZANO J. S., SANCHO M. T. (2006). Rapid determination of nonaromatic organic acids in honey by capillary zone electrophoresis with direct ultraviolet detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry.*1541–1550

MATOVIC, K., ĆIRIC, J., KALJEVIC, V., NEDIC, N., JEVTIC, G., VASKOVIC, N., & BALTIC, M. Ž. (2018). Physicochemical parameters and microbiological status of honey produced in an urban environment in Serbia. *Environmental Science and Pollution Research*, 25, 14148-14157.

MERAH M., BENSACI B., BOUDERHEM A. (2010). Étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Annales des Sciences et Technologie* .115-125.

MOLAN P.C. (1992). « The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity ». *Bee world.*59-76.

MOLAN, P. C. (2001). Honey as a topical antibacterial agent for treatment of infected wounds. *World Wide Wounds*.

MOLYNEUX, P. (2020). The Use of the Stable Free Radical Diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Journal of Science and Technology*, 26(2), 211-219).

MONIRUZZAMAN M., SULAIMAN S.A., KHALIL M.I., GAN S.H. (2013). Evaluation of physicochemical and antioxidant properties of sourwood and other Malaysian honeys: a comparison with Manuka honey. *Central Journal Chemistry*, 7 : 138.

MOULIN, G., ORAND, J. P. (2013). Antibiorésistance : quelle stratégie pour l'ANMV à trois ans ? *Les cahiers de la Recherche : Santé, Environnement, Travail*, 2013, 3, pp.62-64.

MUYLAERT A., MAINIL J.G., (2012). Résistances bactériennes aux antibiotiques les mécanismes et leur « contagiosité ». *Ann. Med. Vet.* 156, 109–123.

NAKIB R., OUELHADJ A., SEJOCOELLO M.C. (2022).Evaluation des caractéristiques physico-chimiques, antimicrobiennes et antiradicalaires de certains miels algériens d'origines florales et géographiques différentes. *Phytotherapie DOI 10.3166\pho-2022- 0325.p.5*.

Références bibliographiques

- NAQVI, S. A. R., & DRLICA, K. (2017).** Fluoroquinolones as imaging agents for bacterial Infection.
- NIKAIDO H., (2009).** Multidrug resistance in bacteria. *Annu. Rev. Biochem.*, 78, 119-146.
- NUSGENS B.V., HUMBERT P., ROUGIER A. (2001).** Topically applied vitamin C enhances the mRNA level of collagens I and III, their processing enzymes and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 in the human dermis. *Journal of Investigative Dermatology*. p.853-859
- OTTO, M. (2013).** Staphylococcal infections: mechanisms of biofilm maturation and detachment as critical determinants of pathogenicity. *Annual Review of Medicine*, 64, 175-188.
- OUCHEMOUKH S. (2012).** Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miel algérien. Thèse doctorat, Biochimie. *Université Abderrahmane Mira de Bejaia*, p 162.
- OUCHEMOUKH S., AMESSIS-OUCHEMOUKH N., GOMEZ-ROMERO M., ABOUD F., GUISEPPE A., FERNANDEZ-GUTIERREZ A., SEGURA CARRETERO A., LOUAILECHE H (2016).** Characterisation of phenolic compounds in Algerian honeys by RP-HPLC coupled to electrospray time-of-flight mass spectrometry. *Lebensmittel- Wissenschaft & Technologie Food Science and Technology*.S0023-6438(16)30774-5DOI : 10.1016.
- OUCHEMOUKH S., LOUAILECHE H., SCHWEITZER P. (2007).** Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food chemistry* ,18:52-5.
- PASCOAL A., LOPES S., ESTEVINHO L., CARVALHO M. (2013).** Effect of temperature on quality of honey Mountain Research Centre (CIMO), *School of Agriculture*.
- PASUPULETI, V.R., SAMMUGAM, L., RAMESH, N., & GAN, S.H. (2020).** Honey, Propolis, and Royal Jelly: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2020, 1259510).
- PETIT N (2012).** Le miel au secours de la médecine conventionnelle. www.sacreeplanete.com/PDF/M52P572.
- PHAM T.N., NGUYE T.V. LE, D.T., DIEP L.M.N., NGUYEN K.N., TO T.H.N., LE T.H., NGUYEN Q.V., (2022).** Phenolic Profiles, Antioxidant, Antibacterial Activities and Nutritional Value of Vietnamese Honey from Different Botanical and Geographical Sources. *Agrin Engineering*. 4,1116–1138.

Références bibliographiques

- PITA-CALVO C., VAZQUEZ M. (2017).** *Trends in Food Science & Technology* 59 79.
- PONCE, A. G., FRITZ, R., DEL VALLE, C., ROURA, S. I. (2003).** Antimicrobial activity of essential oils on the native microflora of organic Swiss chard. *LWT-Food Science and Technology*, 36(7), 679-684.
- RANDRIANARISOA, T. (2018).** Résistance bactérienne aux antibiotiques [Présentation PowerPoint].
- RAVAZZI J (2007) :** « L'abeille et l'apiculture ». *Ed. De Vecchi, P 155.*
- RINDERER, T. E., & COLLINS, A. M. (2019).** Foraging behavior and honey production. In *The African Honey Bee* (pp. 235-257). *CRC Press.*
- ROBICSEK A., JACOBY G.A., HOOPER D.C. (2006).** The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect.*
- ROSSANT A (2011).** Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. *Université Limogne : faculté de pharmacie. N85.132P.*
- SABA Z.H., YUSOFF K.M., MAKPOL S., YUSOFF M.A. Y. (2011).** Antioxidant Capacities and Total Phenolic Contents Increase with Gamma Irradiation in Two Types of Malaysian Honey. *Journal molecules*, 16, 6378-6395.
- SHOBHAM K., KUMAR CH. ET JYOTHI N. (2017).** Physico-Chemical Analysis of Some Commercial Honey Samples from Telangana. *Indian Journal of Nutrition Volume 4, Issue 1.*
- SKADINS, I., LABSVARDS, K. D., GRAVA, A., AMIRIAN, J., TOMSONE, L. E., RUSKO, J., ... & BRANGULE, A. (2023).** Antimicrobial and antibiofilm properties of Latvian honey against causative agents of wound infections. *Antibiotics*, 12(5), 816.
- SMYTH H (2015).** Infrared spectroscopy as a rapid tool to detect methylglyoxal and antibacterial activity in Australian honeys. *Food Chemistry*, 172 : 207-212.
- TOOUMI, A. (2008).** Service des Maladies Infectieuses CHU Fattouma Bourguiba Monastir.
- TOULLEC, A.N.K (2008) :** Abeille noire, Apis mellifère. Historique et sauvegarde. *Thèse de Doctorat Vétérinaire. Faculté de Médecine de Créteil. 168p.*
- TOURNERET E (2015).** Le peuple des abeilles. Disponible sur : www.thehoneygatherers.com.
- UNAF (2013).** Les trésors de la ruche : tous les bienfaits des abeilles. *Abeilles et Fleurs horssérie Spécial*, p.7.

Références bibliographiques

- VENTOLA, C. L. (2015).** The antibiotic resistance crisis: part 1: causes and threats. *Pharmacy and Therapeutics*, 40(4), 277-283.
- WAKSMAN, S. A. (1954).** The story of antibiotics. *Revue d'histoire des sciences*, 7(2), 124-138.
- WALSH, C. (2003).** Antibiotics: Actions, origins, resistance. Washington.
- YAICHE A., KHALI M. (2014).** « Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques ». *Afrique Science*. 127 – 136.
- YAYINIE M., ATLABACHEW M., TESFAYE A., HILLUF W., RETA C., ALEMNEHT., (2022).** Polyphenols, flavonoids, and antioxidant content of honey coupled with chemometric method: geographical origin classification from Amhara region, Ethiopia, *International Journal of Food Properties*, 25:1, 76-92, DOI: 10.1080/10942912.2021.2021940.
- ZERROUK S, FALLICO G., ARENA E., BALLISTRERI G., BOUGHEDIRI L. (2011).** Quality Evaluation of Some Honey from the Central Region of Algeria. *Jordan Journal of Biological Sciences* .4. 4 : 243 – 248.
- ZHAO X., DRLICA K. A (2008).** unified anti-mutant dosing strategy. *J. Antimicrob. Chemother.*, 62,434-436. Alandia, L., & Yañez, S. (2020). "Antioxidant Activity of Honey and Its Potential in Preventing Oxidative Stress." *Journal of Apicultural Research*, 59(5), 785-793.

ANNEXES

• Annexe I

Tableau I : Réactifs et solutions utilisés dans les analyses du miel

Réactifs	Protocole de preparation
Métabisulfite de Sodium (0, 2%)	0,2 g de métabisulfite de sodium dissout dans l'eaudistillée en rapportant le volume à 100 ml.
Solution Carrez I (15%)	15 g de $K_4Fe(CN)_6$, dissout dans l'eau distillée en rapportant le volume à 100 ml.
Solution Carrez II (30%)	30g de $Zn(CH_3COO)_2$ dissout dans l'eau distillée en rapportant le volume à 100 ml.
DPPH	0,002 g de DPPH dissout dans du méthanol en rapportant le volume à 100 ml.
Carbonates de sodium (7, 5%)	7,5 g de Na_2CO_3 dissout dans l'eau distillée en rapportant le volume à 100 ml.
Acide gallique	0,01 g d'acide gallique dissout dans l'eau distillée en rapportant le volume à 100 ml.
Quercétine	0.01 mg de quercétine dissout dans l'eau distillée en rapportant le volume à 100 ml

- Annexe II

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

• Annexe III

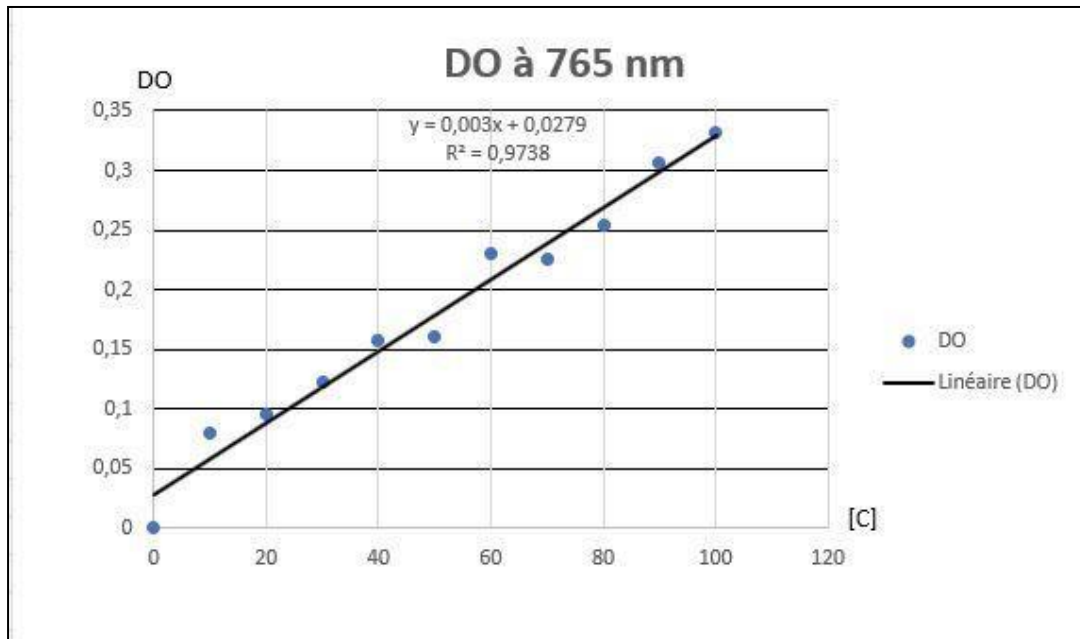


Figure 02 : Courbe d'étalonnage des polyphénols

Tableau III : Préparation des dilutions de l'acide gallique

[C]($\mu\text{g/ml}$)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
AC.gallique (μl)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
E.distillée (μl)	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0

• Annexe IV

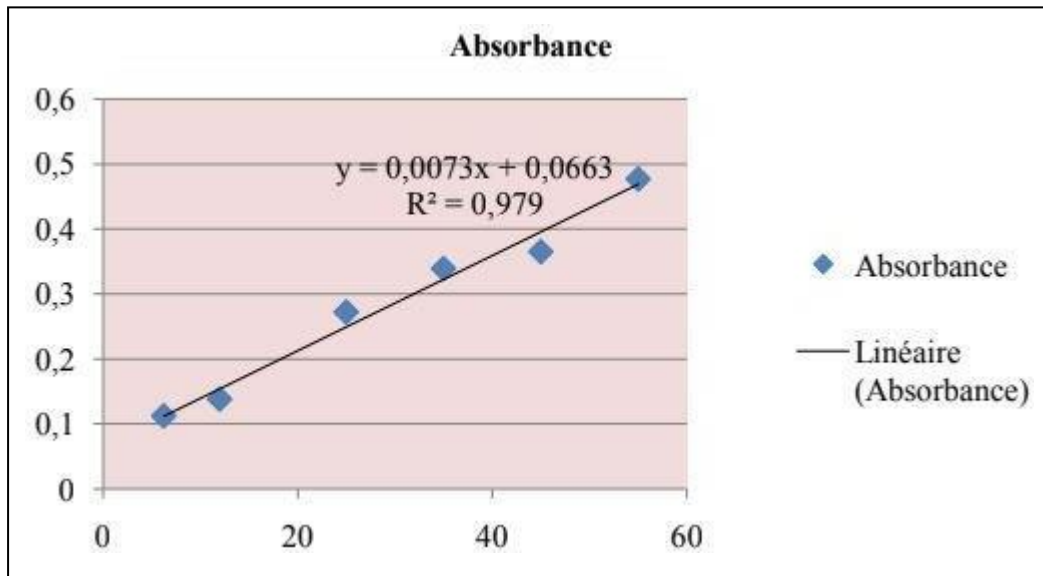


Figure 03 : Courbe d'étalonnage des Flavonoïdes

Tableau IV : Préparation des dilutions de la Quercétine

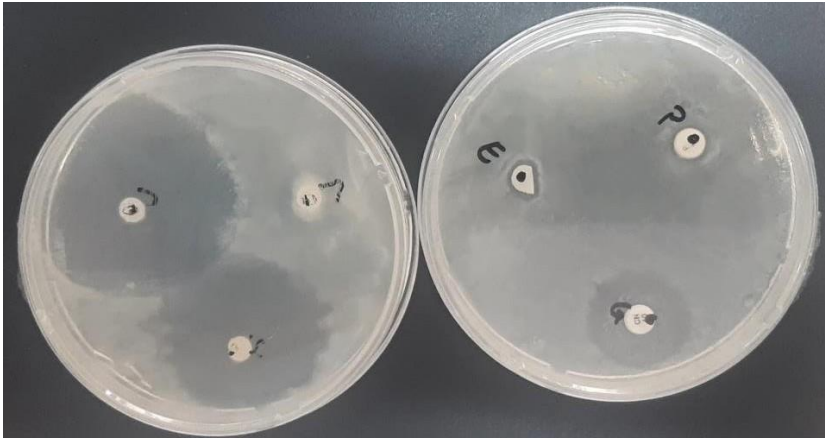
[C](µg/ml)	0	10	20	30	40	50	60	70	80	90	100
Quercétine(µl)	0	100	200	300	400	500	600	700	800	900	1000
E.distillée (µl)	1000	900	800	700	600	500	400	300	200	100	0

- **Annexe V**

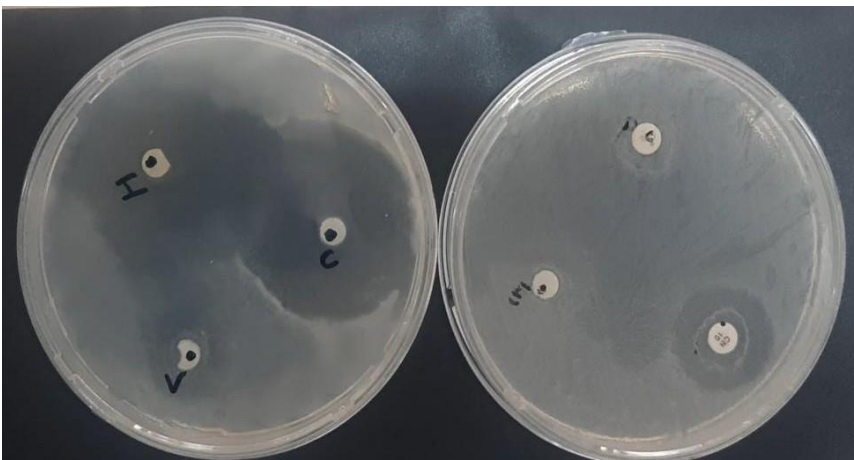
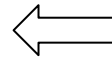
Tableau V : Échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne (Ponce *et al.*, 2003)

Activité antimicrobienne	Degré de sensibilité	Diamètre de la zone d'inhibition
Extrêmement sensible	+++	Plus de 20 mm
Très sensible	++	15mm à 19 mm
Sensible	+	8mm à 14mm
Non sensible	\	Moins de 8mm

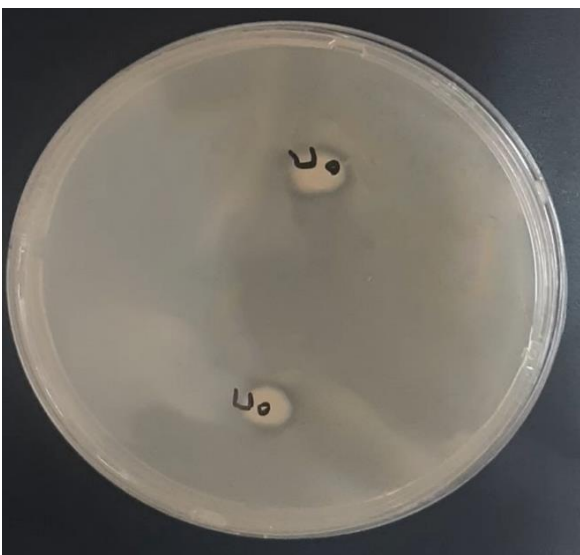
- Annexe VI



Antibiogramme
E.coli
(1ère répétition)



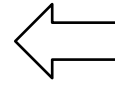
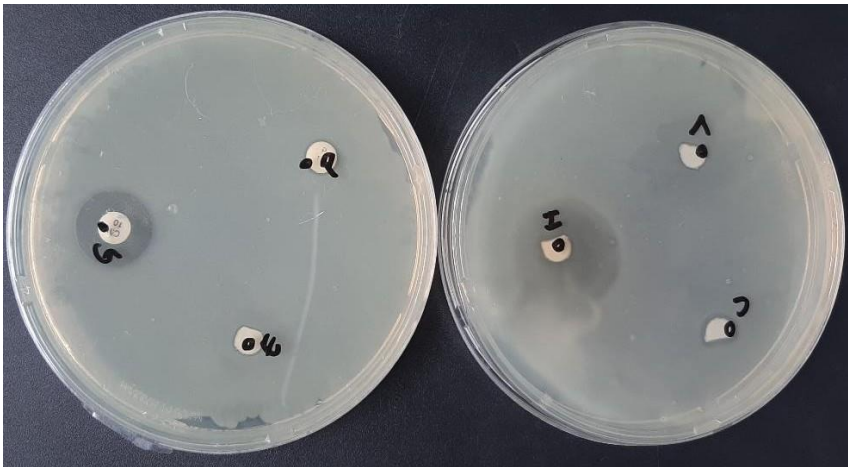
Antibiogramme
E.coli
(2ème répétition)



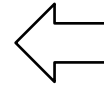
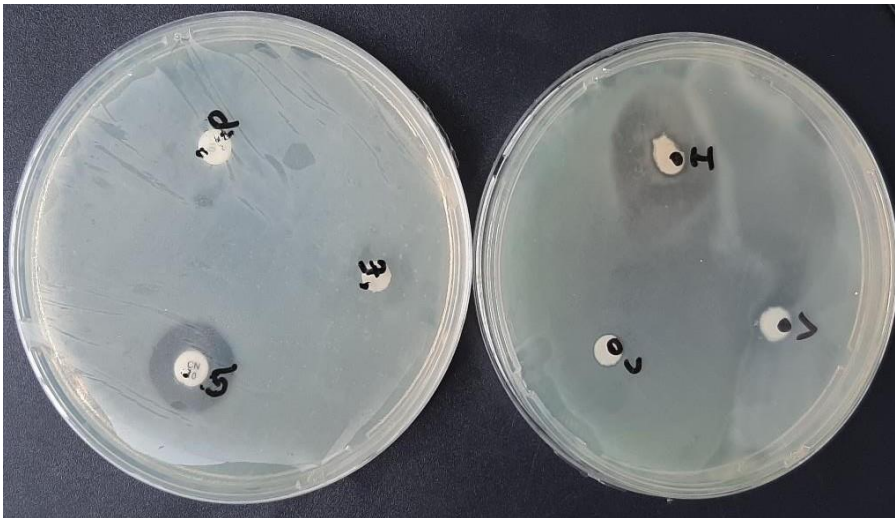
Témoin
négatif
E.coli



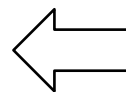
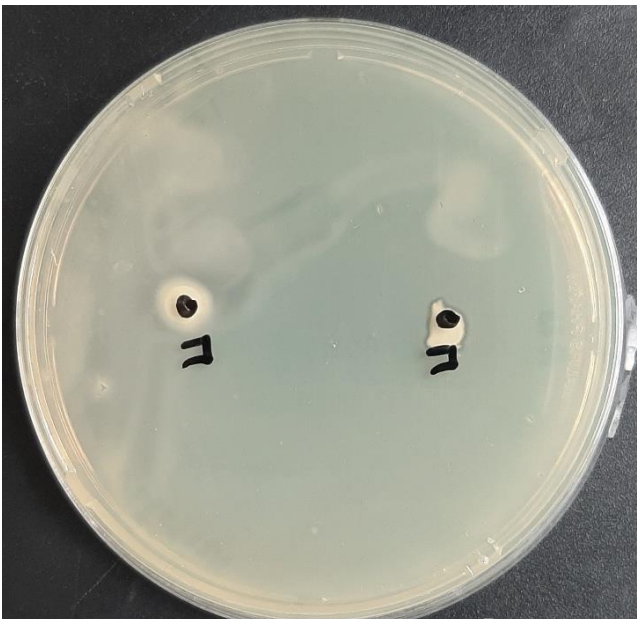
Figure 04 : Effet antibactérien du miel dilué dans le méthanol et les antibiotiques testés sur *Escherichia Coli*.



Antibiogramme
P.aeruginosa
(1ère répétition)

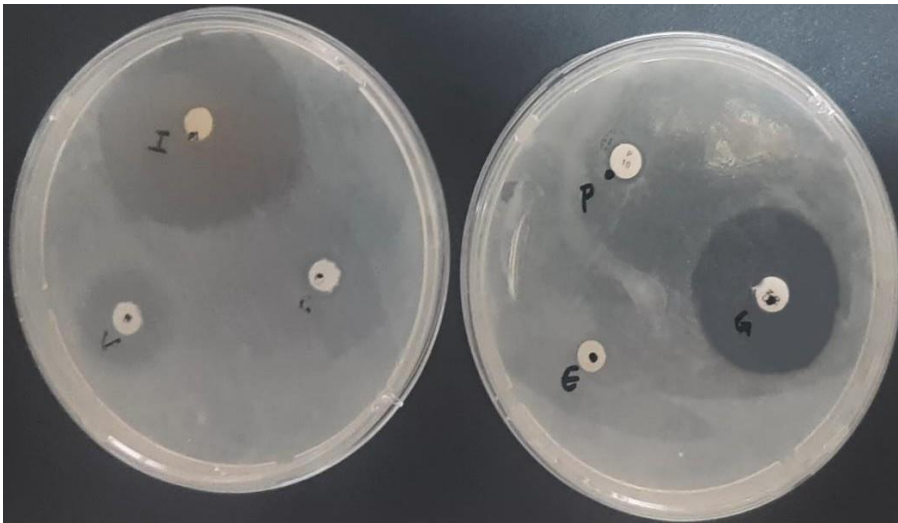


Antibiogramme
P.aeruginosa
(2ème répétition)

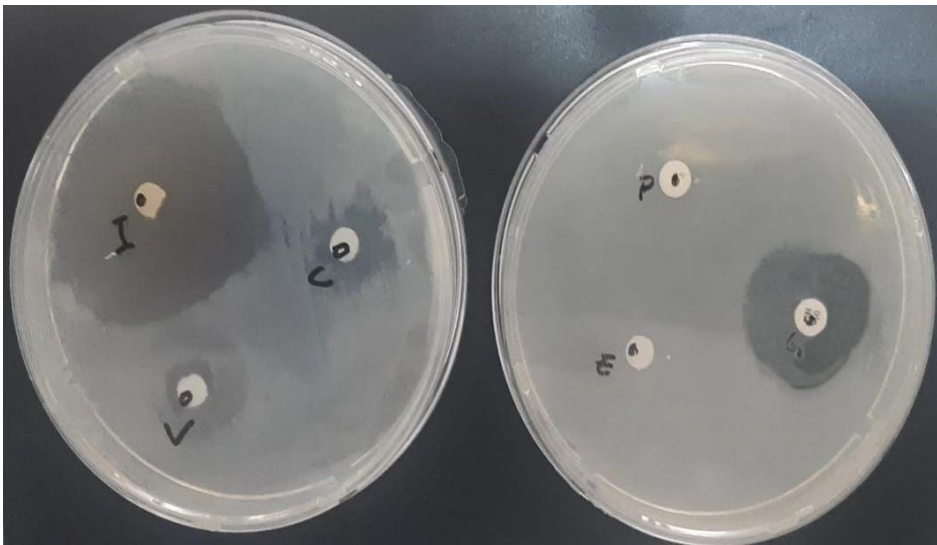


Témoin
négatif
P.aeruginosa

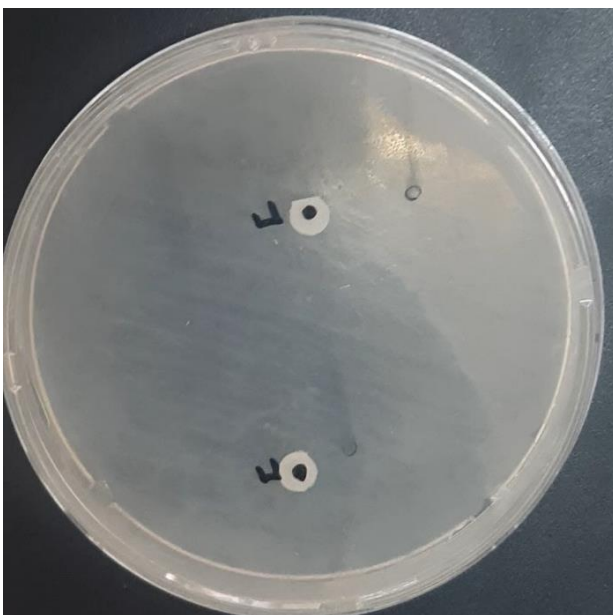
Figure 05 : Effet antibactérien du miel dilué dans le méthanol et les antibiotiques testés sur *Pseudomonas aeruginosa*.



←
Antibiogramme
S.aureus
(1ère répétition)



←
Antibiogramme
S.aureus
(2ème répétition)



←
Témoign
négatif
S.aureus

Figure 06 : Effet antibactérien du miel dilué dans le méthanol et les antibiotiques testés sur *Staphylococcus aureus*.

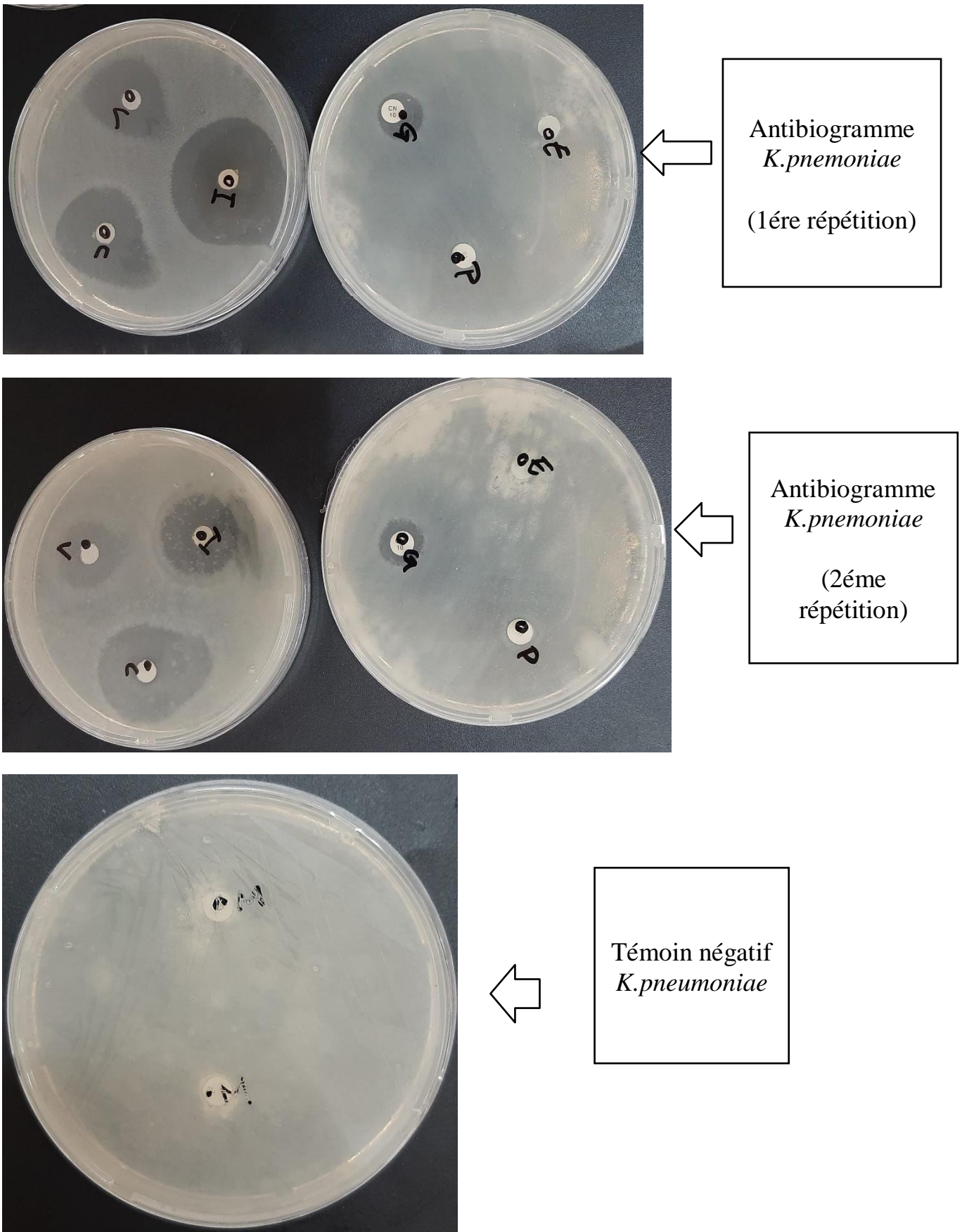


Figure 07 : Effet antibactérien du miel dilué dans le méthanol et les antibiotiques testés sur *Klebsiella pneumoniae*.

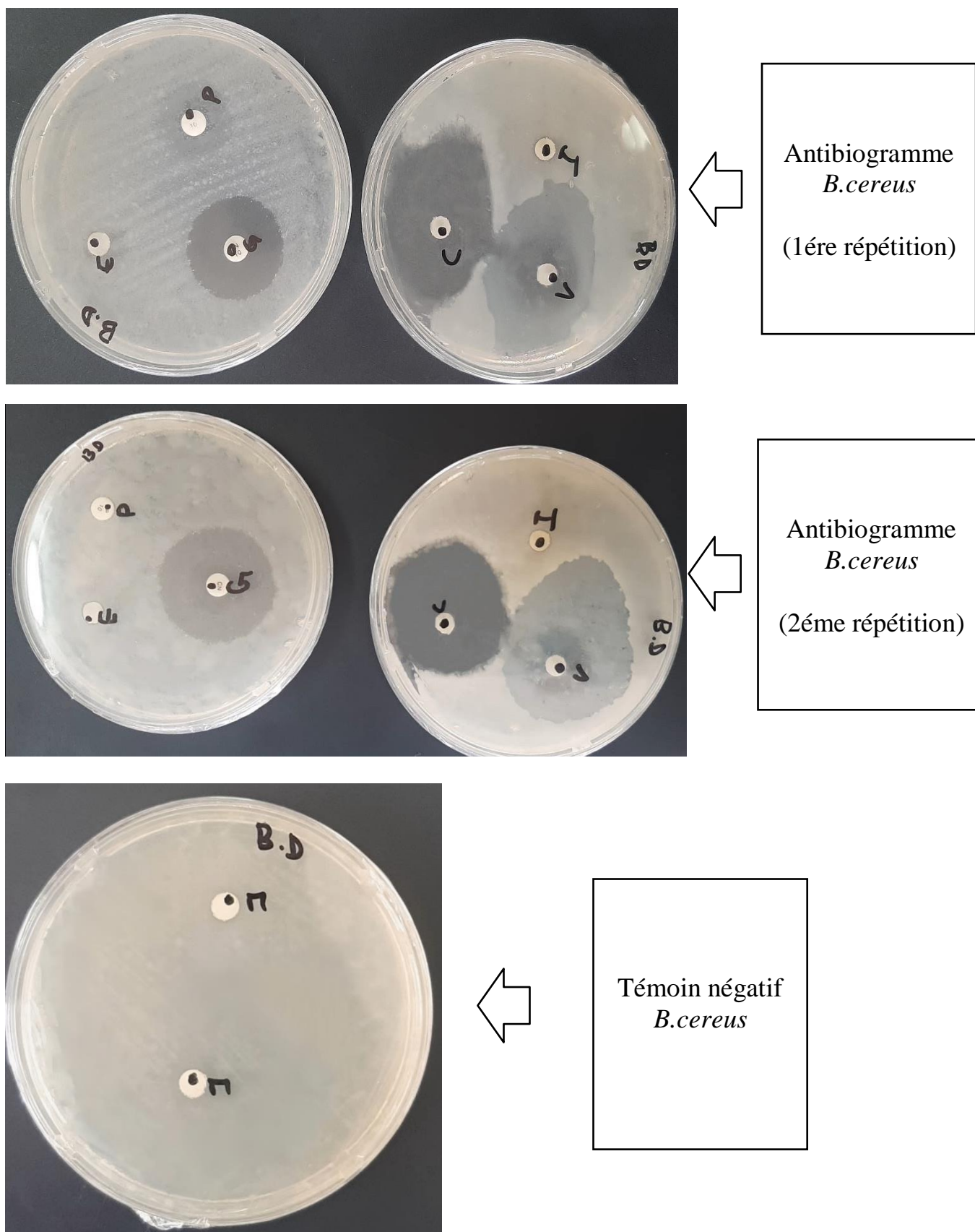


Figure 07 : Effet antibactérien du miel dilué dans le méthanol et les antibiotiques testés sur *Bacillus cereus*.

Résumé

Cette étude a permis d'évaluer les propriétés physico-chimiques et antibactériennes d'un miel de thym originaire de la région de Biskra, en Algérie. Les analyses ont confirmé que ce miel répond en grande partie aux standards internationaux, bien qu'un taux de matière sèche légèrement supérieur ait été observé.

Par ailleurs, le test DPPH a révélé une activité antioxydante notable, et des tests antibactériens ont démontré une efficacité marquée contre plusieurs souches pathogènes, dont *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus* et *Klebsiella pneumoniae*. De plus, les tests de synergie ont montré que la combinaison du miel avec des antibiotiques tels que la céfazoline et la vancomycine renforçait l'activité antimicrobienne, en particulier contre *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. Ces résultats suggèrent un potentiel thérapeutique prometteur pour le développement de traitements alternatifs ou complémentaires face aux infections résistantes aux antibiotiques, ouvrant ainsi de nouvelles voies de recherche dans le domaine.

Mots clés : Miel de thym, Physico-chimie, Activité antibactérienne, Synergie, Antibiorésistance.

Abstract

This study evaluated the physicochemical and antibacterial properties of thyme honey from the Biskra region in Algeria. The analyses confirmed that this honey largely meets international standards, although a slightly higher dry matter content was observed.

Additionally, the DPPH test revealed notable antioxidant activity, and antibacterial tests demonstrated significant efficacy against several pathogenic strains, including *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus cereus*, and *Klebsiella pneumoniae*. Furthermore, synergy tests showed that combining the honey with antibiotics such as cefazolin and vancomycin enhanced antimicrobial activity, particularly against *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus*. These findings suggest promising therapeutic potential for the development of alternative or complementary treatments in the fight against antibiotic-resistant infections, opening new avenues for research in this field.

Keywords : Thyme honey, Physicochemical properties, Antibacterial activity, Synergistic effect, Antibiotic resistance

