



Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master en science biologique
Option : Alimentation Humaine et Qualité des Produits

Thème :

*Etude de l'activité antibactérienne des
produits de la ruche
(miel, propolis et gelée royale).*

Réalisé par :

Melle BOUCHAMA Radia
Melle DJAOUANI Djouza

Devant le jury :

Président : M ^r SEBANE H	Maitre assistant	à l'UMMTO
Promotrice : M ^{me} HELLAL Z.	Maitre assistant	à l'UMMTO
Examineur : M ^r AMIR Y	Professeur	à l'UMMTO
Examineur : M ^r BENGANA M	Maitre assistant	à l'UMMTO

2014-2015

Remerciements

Au terme de ce modeste travail, nous remercions avant tout Allah de nous avoir gardés en bonne santé afin de mener à bien ce mémoire de fin d'étude. Nous remercions également nos familles pour les sacrifices qu'elles ont faits pour voir notre réussite.

Nos remerciements les plus sincères vont à notre promotrice **Mme Hellal Z** maitre assistante à l'UMMTO, d'avoir accepté de nous encadrer, pour sa simplicité, pour la confiance qu'elle nous a accordé et sa gentillesse à notre égard.

Nous remercions **Mr BENGANA M** pour sa générosité de nous avoir assuré les différents échantillons des produits de la ruche utilisé dans notre étude, et pour son aide et ces conseils.

Nos vifs remerciements s'adressent à tous le personnel du laboratoire pédagogique de microbiologie et le laboratoire commun d'analyses physico-chimiques de l'université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou de nous avoir bien accueillis, pour leur aide et leur conseils.

Nous remercions **Mr SEBANE H** d'avoir accepté de présider notre jury ainsi que **Mr AMIR Y** et **Mr BENGANA M** d'avoir bien voulu examiner notre travail.

Enfin nous tenons à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicaces

Je dédie ce modeste travail à :

- ✓ La mémoire de mon grand père qui nous a quitté récemment
- ✓ A mes très chers parents qui sont ma source d'éducation, mon savoir et mes principes
- ✓ A ma très chère sœur *Lydia* et sa belle famille
- ✓ A toute la famille Bouchama
- ✓ A tous mes cousins et cousines
- ✓ A mon binôme *Djouza* et sa famille
- ✓ A tous mes ami(e)s
- ✓ A tout ce qui ont de l'estime pour moi

Radia

*Au nom du DIEU clément et miséricordieux et que le salut de
DIEU soit sur son prophète MOHAMMED*

On dit souvent que le trajet est aussi important que la destination.

*Les cinq ans d'étude m'ont permis de bien comprendre la signification de cette
phrase toute simple. Le parcours, en effet, ne s'est pas réalisé sans soulever de
nombreuses questions pour lesquelles les repenses nécessitent de longues heures de
travail*

*Je dédie ce modeste travail aux êtres qui me sont les plus chers
au monde :*

A mes parent AMRANE et NADIA

A mon mari MHAMMAD et ma belle famille

A mes frères ; AGHILESS et AMAYESS

A mes sœurs ; LYDIA et sa belle famille, KATIA, DIHIA, et AMEL

A ma nièce CERINA que DIEU la protège

A ma grande famille maternelle « HADDOUCHE »

A ma binôme et copine RADIA et toute sa famille

A toutes mes amies et toutes personnes qui m'ont aidés

Djouza

Résumé

Le miel, la gelée royale et la propolis sont des produits de la ruche contenant plusieurs substances antibiotiques naturelles.

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antibactérien de 2 miels (le sainfoin et la lavande), la propolis et la gelée royale, récolté à Tizi-Ouzou, ainsi que leurs mélanges, vis-à-vis de quelques souches bactériennes à caractère pathogène.

L'approche expérimentale est basée sur l'évaluation de ce pouvoir antibactérien à travers une technique conventionnelle : technique de diffusion en gélose (par disques et par puits).

Les résultats obtenus démontrent clairement l'impact de ces produits sur la sensibilité bactérienne, cet effet inhibiteur a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre et dans le temps.

Nous avons retenu 3 catégories de germes selon leur degré de sensibilité à savoir souches très sensible, moyennement sensibles et faiblement sensibles.

Les souches les plus sensibles sont : *E. coli*, *S. aureus* et *K. pneumonie* avec des zones d'inhibition de 40mm, 17mm, 23mm respectivement.

On a constaté une diminution remarquable de pouvoir antibactérien sous l'effet de conservation avec des zones d'inhibition de l'ordre de 15mm pour *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et 7mm pour *P. aeruginosa*.

Mots clé : pouvoir antibactérien, miel, gelée royale, propolis, souche bactérienne, CMI, CMB

Abstract

Honey, royal jelly and propolis are products of the hive contain several natural antibiotic substances.

This work is a contribution to the evaluation of the antibacterial effect of too honey (sain foin and lavender), propolis and royal jelly harvested in Tizi-Ouzou, and mixtures vis-à-vis some pathogenic bacterial strains.

The experimental approach is based on the evaluation of the antibacterial power through a conventional technique in agar diffusion technical (disks and well).

The results obtained clearly demonstrate the impact of these products on the bacterial sensitivity; this inhibitory effect was observed for most of the samples tested with some variability from one sample to another and from one strain to another and in the time.

We selected three categories of seeds according to their degree of sensitivity that is very sensitive strains, moderately sensitive and low sensitive.

The most sensitive strains are *E. coli*, *S. aureus* and *K. pneumonia* with zones of inhibition of 40 mm, 17mm, and 23mm respectively.

There was a remarkable decrease in the antibacterial preservative effect with inhibition zones of around 15mm for *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa* to 7mm.

Keywords: antibacterial, honey, royal jelly, propolis, bacterial strain, CMI, CMB.

Liste des abréviations

AMX 25: Amoxicilline

AW: Water activity, activité de l'eau

BHIB: Brain Heart Infusion Broth

CMB: Concentration Minimale Bactéricide

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CN 10: Gentamicine

EPP: Extrait Ethanolique de la propolis

GR: Gelée royale

MH: Mueller Hinton

MLC : Concentration létale minimale

M1: Miel 1 lavande

M2: Miel 2 sain foin

P: Propolis

SXT 25: Sulfamethaxazole

Tableau I : Produits de la ruche.....	4
Tableau II : Recommandation et exigences internationales concernant le miel (Codex Alimentarius, 2003).....	12
Tableau III: Spectre antifongique de la propolis d'après Cizmarik et Trupl.....	18
Tableau IV: Propriétés inhibitrice de la gelée royale et ses fractions.....	23
Tableau V: Les informations données sur les échantillons analysés.....	25
Tableau VI: Résultats des CMI et CMB en mg/ml des sept échantillons.....	43

Figure 1 : Principe de l'antibiogramme.....	27
Figure 2 : Les résultats des antibiotiques testés.....	31
Figure 3 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques.....	32
Figure 4 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>E. coli</i>	33
Figure 5 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>K.pneumoniae</i>	33
Figure 6 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i>	35
Figure 7 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>S. aureus</i>	35
Figure 8 (expérience 1) : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) générés par les disques du miel, gelée royale et mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.....	36
Figure 9 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>E. coli</i>	37
Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>K.pneumoniae</i>	37
Figure 11 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>P.aeruginosa</i>	38
Figure 12 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>S. aureus</i>	38
Figure 13 (expérience 2) : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) générés par les disques du miel, gelée royale et mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.....	39
Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>E. coli</i>	39
Figure 15 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>K.pneumoniae</i>	40
Figure 16 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis <i>S. aureus</i>	40
Figure 17 : Diamètres des zones d'inhibition (en mm) générés par des puits rempli du miel, de la gelée royale et des mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.....	41
Figure 18 : Diamètres des zones d'inhibition (concentré de propolis).....	42
Figure 19 : Diamètres des zones d'inhibition générés par des puits rempli de concentré de propolis sur les souches testées.....	43

Sommaire

Résumé

Liste des abréviations

Liste des tableaux

Liste des figures

Introduction.....1

Partie 1 : Synthèse bibliographique

Chapitre I : Généralités sur l'apiculture et les produits de la ruche

1. L'apiculture

1.1. Définition.....2

1.2. L'apiculture dans le monde.....2

1.3. L'apiculture en Algérie.....2

2. Aspect commercial et économique

2.1. Dans le monde..... 2

2.2. En Algérie..... 3

2.3. Causes de l'insuffisance actuelle de la production apicole Algérienne..... 3

3. Produits de la ruche.....4

Chapitre II : Miel

1. Définition5

2. Origine du miel5

3. Composition du miel.....5

4. Propriétés du miel6

4.1. Propriétés physiques.....6

4.2. Propriétés biochimiques.....6

4.3. Propriétés organoleptiques.....7

4.4. Propriétés biologiques.....8

4.4.1. Propriétés nutritionnelles.....8

4.4.2. Propriétés diététiques.....	8
4.4.3. Propriétés thérapeutiques.....	9
4.4.4. Propriétés anti-oxydantes.....	9
4.4.5. Propriétés médicinales.....	9
4.4.6. Vertus cicatrisantes.....	10
4.4.7. Propriétés immunologiques.....	10
4.4.8. Propriétés antitussives.....	10
4.4.9. Miel en ophtalmologie.....	11
4.4.10. Miel en cosmétologie.....	11
5. Législation et étiquetage.....	11
5.1. La qualité et normes de composition réglementaire du miel.....	11
6. Activité antibactérienne du miel.....	13
7. Rôle des protéines du miel dans le pouvoir antibactérien.....	14
8. Effets indésirable du miel.....	15

Chapitre III : Propolis

1. Définition.....	16
2. Origine de la propolis.....	16
3. Composition de la propolis.....	16
4. Posologie.....	16
5. Propriétés de la propolis.....	17
5.1. Propriétés physico-chimiques.....	17
5.2. Propriétés organoleptiques.....	17
6. Propriétés biologiques.....	17
6.1. Propriétés anesthésiques locales.....	17
6.2. Propriétés antifongiques.....	17
6.3. Propriétés antivirales.....	18
6.4. Propriétés cicatrisantes.....	18

6.5. Propriétés thérapeutiques.....	18
6.6. Autres propriétés.....	19
7. Conservation et consistance.....	19
8. Réglementation et législation.....	19
9. Activité antibactérienne de la propolis.....	20
10. Effets indésirable de la propolis.....	20

Chapitre IV : Gelée royale

1. Définition.....	21
2. Origine de la gelée royale.....	21
3. Composition de la gelée royale.....	21
4. Propriétés de la gelée royale.....	21
4.1. Propriétés physico-chimiques.....	21
4.2. Propriétés organoleptiques.....	21
5. Propriétés biologiques.....	22
6. Activité antibactérienne de la gelée royale.....	22
7. Rôles des protéines de la gelée royale.....	23
8. Effets indésirable de la gelée royale.....	24

Partie 2 : Etude expérimentale

Matériel et méthodes

1. Matériel et méthodes	
1.1. Matériels biologique.....	25
1.1.1. Produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale).....	25
1.1.2. Micro-organismes testés.....	25
1.1.3. Les antibiotiques.....	26
1.2. Préparation des échantillons.....	26
2. Tests microbiologiques.....	26
2.1. Conservation des souches.....	26
2.2. Préparation de la pré-culture.....	26
2.3. Préparation de la suspension bactérienne.....	26
2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne par disques.....	27
2.5. Evaluation de l'activité antibactérienne par puits.....	28
2.6. Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice).....	29

2.7.Détermination de la CMB (Concentration Minimale Bactéricide).....	30
---	----

Résultats et discussion

1. Evaluation de l'activité antibactérienne	
1.1 .Résultats de l'antibiogramme.....	31
1.1.1. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes.....	32
1.1.2. Résultats de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et la CMB (Concentration Minimale Bactéricide).....	40

Conclusion.....	44
------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexes

Dans beaucoup de civilisations et de croyances les produits de la ruche ont toujours fasciné l'Homme et occupés une place privilégiée notamment pour leurs propriétés nutritives et thérapeutiques. Ces cadeaux de la nature sont les symboles à la fois de la vie, de l'abondance, de la pureté et de la sagesse.

Généralement, lorsqu'on parle de ruche, on pense directement à la production de miel. Pourtant, ce n'est pas le seul résultat du travail de nos abeilles. En plus du nectar, les abeilles récoltent aussi du pollen et de la propolis. Elles fabriquent de la cire, du venin et de la gelée royale.

On s'intéresse d'abord au miel qui est une substance sucrée et parfumée provenant des nectars des fleurs et du miellat d'arbres, ainsi que la propolis qui est une substance résineuse, gommeuse récolté sur les bourgeons par les abeilles utilisée pour obturer les fissures de la ruche quant à la gelée royale qui est une substance fluide et blanchâtre riche en vitamines produites par les abeilles.

La résistance bactérienne aux agents antimicrobiens apparait de nos jours comme une des préoccupations majeures de santé publique. Ceci résulte de l'émergence et la dissémination de souches bactériennes résistantes résultant de l'usage anarchique et abusif des antibiotiques conventionnels, combiné aux nombreuses mutations génétiques qui surviennent dans le monde bactérien (PERRETEIN *et al.*, 1997). De plus, Les antibiotiques provoquent des maladies iatrogènes et créer l'accoutumance.

Afin de remédier à cette situation inquiétante, il devient impératif et urgent de développer de nouvelles classes d'agents antimicrobiens. A cet égard, l'utilisation du miel et les produits de la ruche pour lutter contre les microorganismes revêt un intérêt particulier.

Le miel a gagné une certaine reconnaissance dans le milieu médical pour son usage comme agent antibactérien dans le traitement des ulcères, escarres, brûlures et plaies infectées. Dans de nombreux cas, il est utilisé avec succès dans des infections ne répondant pas au traitement antibiotique et antiseptique standard. Quoiqu'il lui soit reconnu une activité antibactérienne, il n'est pas toujours pris en considération que cette activité est variable selon les différents miels et qu'elle peut être altérée par des traitements inappropriés (ASSIE, 2004).

Les chercheurs du monde entier se passionnent, depuis un quart de siècle, pour des mystérieux produits de la ruche riches en principes actifs aux propriétés antibiotiques naturelles.

Dans cette optique notre travail fixe pour principal objectif l'étude *In vitro* de l'effet antibactérien de deux miels différents ainsi que les mélanges de ces derniers avec de la propolis et de la gelée royale. De ce fait nous avons procédé à l'évaluation du pouvoir antibactérien en effectuant un antibiogramme et en déterminant la concentration minimale inhibitrice (CMI) et la concentration minimale bactéricide (CMB), vis-à-vis de *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Pseudomonas aeruginosa*.

1. L'apiculture

1.1. Définition

L'apiculture est une branche de l'agriculture qui consiste à l'élevage d'abeilles à miel pour exploiter les produits de la ruche principalement le miel. L'apiculteur doit procurer aux ruches un abri, des soins et veiller sur son environnement. Pratiquée sur tous les continents, cette activité diffère selon les variétés d'abeilles, le climat et le niveau de développement économique (ANONYME 1).

1.2. L'apiculture dans le monde

L'abeille *mellifère*, a vécu à l'état sauvage il y a 10 à 20 millions d'années, avant l'apparition de l'Homme (PHILIPPE, 1999). Ce dernier commence à la domestiquer en lui confectionnant divers abris (paniers, troncs d'arbres creux et poteries).

Les premières traces de la récolte de miel par l'homme remonte à 12 mille ans comme en atteste une peinture rupestre découverte en 1921 dans la grotte d'araignée (Espagne) (CONTE, 2006 b). Selon CHERBULIEZ (2001), c'est en Egypte, qu'on a trouvé les premiers témoignages d'une pratique de l'apiculture datée de 2400 ans avant J.C., mais c'est en Grèce et en Rome antiques que l'apiculture a connu son bel essor. L'esclave chargé de cette tâche était nommé apianus chez les romains et mellitouros chez les grecs.

Depuis 1951, le monde apicole a vu naître la ruche la plus répandue dans le monde, la ruche Langstroth, à dix cadres mobiles (BIRI, 2002). Son apparition a permis de développer de nouvelles techniques de conduite pour un meilleur développement du cheptel et des rendements.

1.3. L'apiculture en Algérie

C'est sous la colonisation française que l'apiculture algérienne a commencé à évoluer des pratiques apicoles traditionnelles vers des pratiques modernes, c'est seulement à partir des années soixante-dix que la ruche moderne a envahi toutes les campagnes avec l'amélioration des techniques d'exploitation à l'aide des différents programmes de développement.

Avec la fondation de l'association algérienne des apiculteurs en 1884 par le médecin REISSER à BORDJ MENAIL. Elle a ainsi encouragé les apiculteurs à pratiquer l'apiculture moderne contre des pratiques archaïques.

2. Aspect commercial et économique

2.1. Dans le monde

Le nombre d'apiculteurs dans le monde est estimé à 6.6 millions possédant plus de 50 millions de ruches et produisant 1.263 millions de tonnes de miel par an (ANONYME 2).

2.2. En Algérie

La filière apicole a connu des récoltes prometteuses pouvant atteindre les 60 000 Tonnes par an d'un miel d'excellente qualité, qui ne demande qu'à être labellisé en respectant les normes internationales.

Cette dernière prévoit d'atteindre une production de 100 000 tonnes en 2020 avec la mise en œuvre du programme d'installation d'un million de ruches supplémentaires. Ce programme permettra la création de 200 000 emplois, soit le double des emplois générés actuellement (ANONYME 3).

2.3. Causes de l'insuffisance actuelle de la production apicole Algérienne

Cette insuffisance de production procède de causes multiples. C'est, en premier lieu, le rendement insignifiant des quelques 150 000 colonies logées en ruches vulgaires. Le type de ces dernières varie selon la matière première utilisée pour sa construction : liège dans les montagnes du littoral, férule dans les plaines, alfa dans les Bibans et le sud Constantinois. Les conditions d'exploitation doivent, en effet, tenir compte de certaines particularités du climat Algérien. La douceur relative des hivers, la pluviométrie qui atteint généralement son maximum entre décembre et février, provoquent, dès le début mars, une miellée abondante qui se tarit brusquement au mois de mai (ANONYME 4).

3. Les produits de la ruche

Les produits de la ruche occupent une place de choix, certains depuis l'antiquité comme le miel, la cire et la propolis, d'autres depuis un demi-siècle comme le pollen et la gelée royale. Leur grande utilisation s'explique par les bienfaits thérapeutiques qu'ils présentent au point de créer une nouvelle branche nommée apithérapie (tableau I).

Chapitre I Généralités sur l'apiculture et les produits de la ruche

Tableau I : Produits de la ruche

Produit	Définition	Composition	Caractéristiques
 <p>Cire</p>	<p>La cire est une substance grasse secrétée par les quatre paires de glandes à cire. Ce sont des corps chimiquement stables. Elle résiste à l'hydrolyse et à l'oxydation (RAVAZZI, 2003).</p>	<p>-Hydrocarbures 12% ; -acides libres 13% ; -Esters 72% (PHILIPPE, 2007).</p>	<p>-Emolliente ; -Cicatrisante et anti inflammatoire utilisée en cosmétique et en pharmacie. (BRADBEAR, 2005).</p>
 <p>Gelée royale</p>	<p>C'est une sécrétion produite par de glandes situées sur la tête des abeilles ouvrières, cette sécrétion est particulièrement active chez les abeilles âgées de 5 à 14 jours (BIRI, 2003).</p>	<p>-Eau 60 à 70% ; -Hydrates de carbone 11 à 23% ; -Protéines et acides aminées 9 à 18% ; -Lipides 4 à 8% ; -Petite quantité de sels minéraux et vitamines (BECHET, 2006).</p>	<p>-Meilleure oxygénation du cerveau ; -Stimulante et tonifiante ; -Rééquilibrante et revitalisante (RAVAZZI, 2003).</p>
 <p>Pollen</p>	<p>C'est une fine poussière produite par les étamines des fleurs, les abeilles le récoltent sous forme de petites pilotes qu'elles transportent à la ruche dans les corbeilles de leurs pattes (RAVAZZI, 2003).</p>	<p>-Eau 18% ; -Hydrates de carbone ; -Fibres alimentaires ; -Protéines et acides aminées, lipides, sels minéraux, vitamines (BECHET, 2002).</p>	<p>-Tonifiante et stimulante ; -Protège l'organisme des radicaux libres (RAVAZZI, 2003).</p>
 <p>Propolis</p>	<p>C'est une résine que les abeilles prélèvent sur les bourgeons et l'écorce de certains végétaux, elle est employé par les abeilles pour enduire les alvéoles afin d'optimiser la régulation du microclimat dans la ruche (PROST, 2005).</p>	<p>-Résines et baumes 55% ; -Cire 25 à 35% ; -Huiles volatiles 10% ; -Pollen 5% ; -Diverses 5% ; (RAVAZZI, 2003).</p>	<p>-Antiseptique ; -Cicatrisante ; -Antivirale, peut aussi soulager les troubles digestifs (BECHET, 2002).</p>
 <p>Venin</p>	<p>C'est un liquide semblable à un sirop, de couleur jaunâtre et opalescent. Son goût est amer, son odeur est semblable à celle du miel et son pH est acide (BECHET, 2002).</p>	<p>-Beaucoup d'eau ; -Une histamine ; -Enzymes et autres composés volatils (PROST, 2005).</p>	<p>-Anticoagulant ; -Cardiotonique ; -Action antifongique et inhibitrices de certaines bactéries (RAVAZZI, 2003).</p>

1. Définition

Le miel définit comme étant « une substance sirupeuse et sucrée, de couleur ambrée, que les abeilles élaborent dans leur jabot avec le nectar des fleurs ou d'autres matières végétales, et qu'elles dégorgent dans les alvéoles des rayons pour la nourriture de leur communauté ».

Le miel est donc, par définition, un produit 100% naturel, l'homme n'intervenant absolument pas dans sa fabrication proprement dite. Le travail de l'apiculteur consiste à fournir aux abeilles des conditions favorables, puis à récolter le miel, à s'assurer qu'il soit de bonne qualité et qu'il se conserve correctement (Dictionnaire Petit Robert).

2. Origine du miel

La sève élaborée, matière première du miel, est extraite des vaisseaux du liber de la plante qui la contient essentiellement de deux manières principales :

- Par les nectaires, élaborant le nectar (origine direct du miel) ;
- Par des insectes piqueurs-suceurs (pucerons principalement), excréant du miellat (origine indirecte du miel) (PROST, 2005).

En absence de nectar sur les fleurs, les abeilles prélèvent aussi les matières sucrées des fruits (GOUT *et al.*, 1998).

3. Composition du miel

Rémy Chauvin donne un excellent raccourci en écrivant : « *Il y a autant de variétés de miels que de fromages.* » C'est dire que les pourcentages que nous donnons ici ont des valeurs moyennes, de sensibles nuances existant d'une variété à l'autre.

Le miel contient :

- 20% d'eau, souvent moins, mais jamais plus de 22% ;
- de 75 à 79% de sucres, dont environ 70% de sucres simples, glucose (ou dextrose) et lévulose (ou fructose) et de 5 à 9% de sucres composés, en particulier de saccharose.
- Les substances restantes, de 1 à 5%, sont : des protéines (très peu), des sels minéraux et des oligo-éléments, des vitamines, des enzymes digestifs (invertase, amylase), des acides organiques dont l'acide formique, des substances aromatiques essentielles, une substance antibiotique (l'inhibine), des grains de pollen et des pigments (DARRIGOL, 2007).
- Des lipides ou corps gras en infime quantité sous forme de glycéride et d'acide aminés libres (acide aspartique, acide glutamique, alanine, arginine, asparagine, cystine, glycine, histidine, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, phénylalanine, proline, sérine, tryptophane, tyrossine et valine (IRLANDE, 2010).

4. Propriétés du miel

4.1. Propriété physique

-Densité : 1.410 à 1.435 à 20°C

-Viscosité : diminue quand la température s'élève à 30°C (point d'inflexion vers 35°C)

-Hygroscopicité : un miel à 18% d'eau se trouve en équilibre dans une atmosphère dont l'humidité relative est de 60% et dont la température est de 14°C. S'il contient plus de 20% d'eau, le miel dégagera du CO₂ et fermentera.

-Cristallisation : se produit d'autant plus rapidement que le rapport glucose/eau est élevé. Généralement ce rapport oscille entre 1.6 et 2.5 (colza 2.25 ; acacia 1.63). La cristallisation dépend aussi du rapport fructose/glucose (colza=0.90 contient plus de glucose que du fructose, cristallisation très rapide ; acacia (1.43), c'est l'inverse. S'il est pur il reste liquide), ainsi que la présence d'impuretés (pollen, autres) le fait cristalliser.

-Conductibilité thermique : $540 \times 10^{-3} \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$. Le miel est 14 fois moins bon conducteur que l'eau.

-Conductibilité électrique : entre 1 et $2.5 \times 10^{-4} \text{ S/cm}$.

-Chaleur spécifique : 0.54 fois celle de l'eau à 20°C (pour un miel à 17% d'eau).

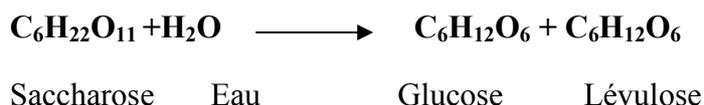
-Indice de réfraction : de 13 à 26% selon la teneur en eau (lorsqu'il est liquide).

-Coloration : très variable, du presque incolore au presque noire. Elle s'apprécie au moyen de colorimétrie ou de comparateurs visuels. Elle varie selon l'espèce butinée (teneur en différents sucres) et la rapidité de la sécrétion (miel clair si sécrétion rapide). Le pH du miel varie entre 3.2 et 5.5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels du nectar, supérieur à 5 dans ceux du miellat. Les miels à pH bas se dégradent plus facilement.

4.2. Propriété biochimique

Le miel est constitué essentiellement de deux sucres simples (Glucose + Fructose) à 80%, grâce à une enzyme, l'invertase qui transforme le saccharose du nectar.

La réaction se résume à une équation :



A cette transformation principale s'ajoute la naissance d'autres sucres et d'acides organiques grâce à deux autres enzymes, l'amylase et l' α -amylase. Une autre enzyme joue un rôle très important dans le miel la **Glucoxydase (GOX)** sécrétée par les glandes nourricières de l'abeille. Cette enzyme en présence d'eau va transformer et modifier les sucres simples (Glucose et Fructose) en eau oxygénée et en acide gluconique (Anonyme 5).

4.3. Propriétés organoleptiques

- **Couleur**

La couleur du miel dépend du nectar dont il est issu. Étant donné Le grand nombre de plantes mellifères butinées par les abeilles, les miels correspondants auront toutes les couleurs possibles, du blanc (miel de trèfle) au noir (miel de sapin). La couleur blonde est la plus communément répandue : c'est celle du miel mille-fleurs. Dans certaines régions (par exemple le Bassin parisien) on préfère le miel clair, dans d'autres (Les Vosges) le miel foncé. C'est une affaire de goût. Il faut noter que le vieillissement accentue la couleur du miel.

- **Odeur**

L'odeur du miel varie sensiblement selon les variétés, en fonction des essences aromatiques communiquées aux nectars initiaux par les fleurs butinées. On comprend la complexité et la subtilité de cette odeur, pour chaque miel, quand on sait son caractère composite. A chaque variété de miel correspond une odeur prédominante, selon l'origine botanique. On peut facilement distinguer, simplement à l'odeur, un miel de lavande d'un miel très aromatique (thym, sarriette, romarin, lavande...), d'autres (Gâtinais) les miels d'arôme plus neutre. De toute façon les miels ont une odeur agréable : il faut se méfier des miels ayant une odeur suspecte prononcée.

- **Saveur**

La saveur du miel est fortement sucrée, bien entendu, le goût spécifique à chaque variété lui étant donné par les caractères aromatiques de la fleur dominante.

- **Densité**

La densité moyenne du miel est d'environ 1.4 à la température de 20°C. Cette densité peut varier dans de mauvaises conditions de conservation (si le récipient contenant le miel est mal fermé et le local trop humide). Un miel récolté prématurément, moins mûr, aura une densité plus faible.

pH : Le miel a un pH acide, variable entre 4 et 6, le plus souvent voisin de 5,5. Le miel est soluble dans l'eau.

- **Consistance et cristallisation**

Le miel peut être fluide ou solide, avec tous les états intermédiaires possibles. Cette consistance varie selon la variété (en fonction de la richesse en glucose et en lévulose), la température et la teneur en eau. Elle varie notablement dans le temps, avec une cristallisation progressive qui débute dans la plupart des cas dès la mise en pots. Le miel change de consistance très rapidement, avant même sa mise en pots pour certaines variétés. Tant que le miel reste dans les alvéoles operculées de la ruche, il est parfaitement stable, protégé contre d'éventuelles transformations physique ou chimique. A condition d'être mûr, suffisamment concentré, il ne fermente pas, ne « bouge » pas.

Le miel se trouble tout en durcissant. A la surface se forme une pellicule blanche, granulée, qui épaisit peu à peu : c'est le glucose qui cristallise. Entre les cristaux de glucose, le lévulose reste en solution dans l'eau qui est encore disponible. La granulation gagne progressivement la masse du miel, parfois sous la forme de traînées blanches désagréables à l'œil. C'est pour cette raison que certains apiculteurs préfèrent conditionner leurs miels dans des pots de cellulose paraffinés : quand un miel est en train de cristalliser il a une apparence désagréable qui peut conduire les personnes non informées à croire que l'apiculteur a dû ajouter du sucre dans son miel. Rien n'est plus faux que cette suspicion, et encore une fois les apparences sont trompeuses : un miel entrain de se cristalliser, devenant une solution de lévulose avec des cristaux de glucose en suspension, n'est pas un miel « trafiqué » additionné de sucre. La solution consistera à attendre, avant de mettre le miel en vente, que sa cristallisation soit terminée, et sa masse pâteuse, solide, homogène (DARRIGOL, 2007).

4.4. Propriétés biologiques du miel

Le miel est un aliment-médicament car il possède maintes propriétés biologiques (nutritionnelles, antibactériennes, antioxydantes et thérapeutiques).

Ces propriétés sont dues essentiellement à sa composition qui est variable en fonction des plantes butinées, des conditions climatiques et environnementales (LOBREAU-CALLEN *et al.*, 1999).

4.4.1. Les propriétés nutritionnelles du miel

Le miel a la réputation d'être un aliment vivant : (vivant signifiant source de vitamines et des sels minéraux). Certes le miel est vivant, mais pas dans le sens ou l'on entend) : il vit car il continue d'évoluer même une fois récolté. S'il offre un grand intérêt nutritionnel, ce n'est pas en raison de ses oligo-éléments (il ne contient que quelques traces de minéraux et de petites quantités de vitamines et son apport, à cet égard, est négligeable) mais surtout pour les vertus de ses sucres. Ainsi Haydak se prêta à une expérience restée célèbre, en se nourrissant pendant 3 mois que de miel et de lait. Il se sentit en forme pendant toute la durée du régime ; son poids resta constant ainsi que son métabolisme intestinal. On ne nota pas la présence de protéines ni de sucres dans les urines ; le taux d'hémoglobine du sang augmenta légèrement. Toutefois, à la fin de l'expérience, il présenta quelques signes de déficience en vitamines C. Cette expérience montre que le mélange de lait et de miel, à condition de le compléter en vitamines, peut entretenir la vie humaine pendant longtemps.

Le miel est un aliment très énergétique ; 310 calories aux 100g, et sous un faible volume, représente une valeur nutritive exceptionnelle : 1kg de miel équivaut à 3 litres de lait, 30 bananes, 50 œufs, 12kg de viande (HUCHET *et al.*, 1996).

4.4.2. Les propriétés diététiques

- La richesse du miel en fructose et glucose est à l'origine de son importante action dynamogénique et stimulante du cœur recherchée par les sportifs et les gens fatigués, ainsi que sa puissance calorique qui lui permet de satisfaire aux besoins énergétiques de l'organisme dans les conditions optimales sous un volume très réduit de nourriture,

ce qui est d'un grand intérêt dans tous les cas de perte de l'appétit (surtout chez les enfants et les personnes âgées) et dans certains régimes alimentaires médicaux (celui de l'insuffisance rénale par exemple).

- De part sa richesse en éléments biologiques, le miel augmente aussi les capacités de défense immunitaire, renforce ainsi la résistance de notre terrain dans sa lutte contre les agressions en général. Richesse qui participe aussi directement à une action non négligeable de complémentarité alimentaire palliant de nombreuses microcarences, qui sont sources à long terme de troubles malades plus ou moins importants (DONADIEU, 2004b).
- Le miel favorise l'assimilation du calcium et la rétention de magnésium par l'organisme, deux minéraux essentiels au bon fonctionnement de notre usine biologique. Grâce aussi à ses nombreuses enzymes, il facilite également l'assimilation des autres aliments en général, d'où une meilleure digestion et un meilleur transit intestinal (TÉTART, 2004).

4.4.3. Les propriétés thérapeutiques

Le miel occupait une place importante dans la médecine traditionnelle. Il est utilisé dans tous les systèmes de médicament pour le traitement d'un certain nombre d'affections humaines telles que infection de la plaie, la diarrhée, la déshydratation, la paralysie faciale en particulier, aménorrhée, l'hydropisie, infection pulmonaire, jaunisse, la tuberculose, les infections des voies urinaires, carcinome de la vulve, l'oreille assourdisant, de la fièvre, le tétanos, les furoncles, les souches de la peau et des infections cutanées (DILNAWAZ *et al.*, 1995).

Dans de nombreux pays, le miel est considéré comme un médicament ou un tonique spécial, plutôt qu'un aliment quotidien. Le miel a des propriétés médicinales qui sont de plus en plus reconnues par la médecine contemporaine (BRADBEAR, 2010).

4.4.4. Propriétés anti-oxydantes

De puissants antioxydants figurent dans la composition du miel : la pinocembrine, la pinobanksine, la chrysin et la galagine. La pinocembrine est un antioxydant présent uniquement dans le miel. Ils réduisent le risque de cancer, de maladie cardio-vasculaires, d'Alzheimer et d'autres troubles dus à l'âge (BACHA, 2007).

Vu son caractère antioxydant le miel est utilisé en agroalimentaire pour le décaillage des jus de fruits, pour la conservation des denrées alimentaires (évite le brunissement) et enfin comme additif dans de nombreux produits alimentaires (produits laitiers, pâtisseries, confitures) (BOGDANOV *et al.*, 2006).

4.4.5. Propriétés médicinales

Le miel a une place très importante dans le traitement des gastrites. Des lésions et des ulcérations ont été provoquées chez les rats, par l'administration d'alcool alors qu'un

deuxième a reçu du miel avant de leur administrer l'alcool. Il a été noté que le miel a protégé l'estomac des lésions que peut provoquer l'alcool (BACHA, 2005).

L'administration d'une solution de miel concentré à 20% a inhibé la croissance de la bactérie *Helicobacter Pylori*, la plus communément connue pour son incrimination dans de la pathogénie de l'ulcère gastrique, et des gastrites.

Une étude a été réalisée auprès de 169 enfants atteints de gastro-entérite. 80 parmi eux, ont reçu le sérum glucosé associé à 50ml de miel au lieu du glucose. La diarrhée due à la gastro-entérite, a duré 93 heures chez les enfants n'ayant pas reçu le miel, alors que les bénéficiaires de la cure du miel ont eu une durée moins (58 heures) (JEFFREY, 1996).

Le miel est utilisé également dans le traitement des colites. L'administration du miel par voie rectale a la même efficacité que la cortisone, chez les rats aux quels une colite a été provoquée (BACHA, 2005).

4.4.6. Les vertus cicatrisantes

Le miel est utilisé dans le traitement des plaies depuis la plus haute antiquité. Les vertus cicatrisantes du miel tiennent à leur capacité à absorber l'humidité de l'air et à ces propriétés osmotiques et antibactériennes. Le miel stimule le développement des cellules épithéliales formant dans la nouvelle peau de nouveaux vaisseaux capillaires et la croissance des fibroblastes. Il permet aussi de fournir une barrière protectrice contre l'infection des blessures (NDAYISABA *et al.*, 1992 ; ATTIPOU *et al.*, 1998).

4.4.7. Propriétés immunologiques

Le miel possède des composants, encore non identifiés, ayant une action immunologique directe ou indirecte (SALOMON *et al.*, 2010).

Le miel apporte les substances nécessaires pour aider l'organisme à se défendre contre les agressions d'origine interne ou externe, en particulier, des substances anti-oxydantes qui peuvent piéger les radicaux libres et aider l'organisme à éliminer diverses toxines. De plus, le silicium contenu dans le miel est un stimulateur du système immunologique. Le miel permet donc de renforcer le système de défense immunitaire, et ainsi, de mieux résister aux agressions en général (HAKIM, 2000).

4.4.8. Propriétés antitussives

Le miel est un remède bien connu contre la toux. Désormais, son efficacité est aussi prouvée scientifiquement. D'après une étude américaine menée sur des enfants et des adolescents, elle serait même supérieure à celle de beaucoup de sirops contre la toux. Les principes actifs du miel agissent d'autant mieux si on laisse fondre lentement une petite cuillerée sur la langue (BOSSI, 2009).

Les propriétés antitussives du miel sont liées à la capacité de diluer les sécrétions bronchiques et d'améliorer la fonction d'épithélium bronchique (MONZUR, 2002).

4.4.9. En ophtalmologie

Depuis l'antiquité, le miel a été utilisé pour le traitement des troubles oculaires. Aristote a écrit dans son histoire animalière que « le miel est bon comme un baume pour les yeux ». Il a été utilisé par la médecine traditionnelle indienne et au Mali pour traiter les ulcères et diverses affections de la cornée, et le traitement de blepharitis des yeux (inflammation des paupières) et la conjonctivite catarrhale (BOGDANOV, 2012b).

4.4.10. Le miel en cosmétologie

Outre ses vertus adoucissantes, il contient des antioxydants qui aident à rajeunir la peau et du peroxyde d'hydrogène qui en fait un bon nettoyant. Riche en substances minérales, en vitamines et acides aminés, le miel est l'un des éléments de base dans de nombreux produits cosmétiques et les produits d'hygiène. Ses nombreuses propriétés permettent d'hydrater la peau, de régénérer les cellules superficielles de l'épiderme ou encore de la protéger contre le vieillissement précoce (TOUTCHKOV, 2009).

5. Réglementation et législation

Dans de nombreux pays, la loi fournit une définition légale du miel. Cette dernière a pour objet la protection du consommateur contre les différents types de fraudes susceptibles d'être pratiquées (BOGDANOV, 2003).

Selon le CODEX ALIMENTARIUS,(2003), le miel est de fait « la substance sucrée naturelle produite par les abeilles de l'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes des plantes ou des excréments laissés sur celle-ci par des insectes suceurs, qu'elles butinent, transforment, en les combinant avec des matières spécifiques propres, déposent, déshydratent, entreposent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. A l'exception du miel filtré, aucun pollen ou constituant propre au miel ne doit être retiré, sauf si cela est inévitable lors de l'élimination de matières organiques et inorganiques étrangères. »

5.1. La qualité et normes de composition réglementaire du miel

Un miel de qualité doit être un produit sain, extrait dans de bonnes conditions d'hygiène, conditionné correctement, qui a conservé toutes ses propriétés d'origine et qui les conservera le plus longtemps possible. Il ne doit pas être adultéré et doit contenir le moins possible (peut-on encore dire pas du tout) de polluants divers, antibiotiques, pesticides, métaux lourds ou autres produits de notre civilisation industrielle (SCHWEITZER, 2004).

Le miel consiste essentiellement en différents sucres mais surtout en fructose et en glucose, ainsi qu'en d'autres substances comme des acides organiques, des enzymes et des particules solides provenant de la récolte du miel. La couleur du miel peut aller d'une teinte presque incolore au brun sombre. Le miel peut avoir une consistance fluide, épaisse ou cristallisée (en partie ou en totalité). Sa saveur et son arôme varient mais dérivant de la plante dont provient le miel.

La composition et les normes réglementaires du miel sont résumées dans le tableau ci-dessous

Tableau II : Recommandation et exigences internationales concernant le miel (CODEX ALIMENTARIUS, 2003).

Caractéristique qualitative	UE¹	CODEX²
Eau (g/100g) Miel, en général Miel de bruyère, miel de trèfle	Max .21 Max.23	Max.21 Max.23
Teneur apparente en sucres réducteurs (g/100g) Miel de fleurs Miel de miellat, ou mélanges avec miel de fleurs	Min.65 Min.60	Min.65 Min.60
Teneur apparente en saccharose (g/100g) Miel en général Miel de miellat, ou mélanges avec miel de fleurs (miel d'acacias, de lavande, de Banksia, d'Eucryphia)	Max.5 Max.10	Max.5 Max.10
Substances non hydrosolubles (g/100g)	0.1	0.1
Sels minéraux (g/100g) Miel en général Miel de miellat ou mélange de miel de fleurs	Max.0.6 Max.1	Max.1 Pas d'indication
Indice d'amylase (en unité de Schade) Miel en général Miel pauvres en enzymes, comme le miel d'acacias, de fleurs d'oranger	Min.8 Min.3	Min.3 Pas d'indication
Acides libres (mille équivalent/kg)	40	40
Hydroxyméthylfurfural (mg/kg)	Max.40	Max.80

1 : Union Européen.

2 : Codex Alimentarius.

6. Activité antibactérienne du miel

Dans un contexte où un nombre croissant de souches bactériennes sont résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. De nombreuses publications ont permis la mise en évidence de ses pouvoirs bactéricide et bactériostatique (COOPER, 2007 ; KWAKMAN *et al.*, 2010). Tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne. Cette dernière dépend de la présence combinée de plusieurs facteurs qui peuvent voir une activité redondante être mutuellement dépendante, ou avoir une activité additive ou synergique selon l'espèce bactérienne ciblée (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*...), exemple : cicatrisation des plaies (Rossant, 2011).

➤ L'effet osmotique

Comme nous l'avons vu précédemment, l'effet osmotique du miel est lié à sa forte concentration en sucres. En effet, ces derniers ont une activité antibactérienne par leur pouvoir d'abaissement de l'activité de l'eau. La quantité d'eau libre ou activité de l'eau exprime le degré de disponibilité de l'eau dans un milieu ou un produit donné. On a donc défini un coefficient hydrique « aw » (Water activity) pour mesurer l'eau libre. Dans le miel, elle est comprise entre 0.562 et 0.62. Entre les sucres du miel et les molécules d'eau, il se produit une forte interaction, et par conséquent, il y a très peu d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes. Le miel agit donc de manière osmotique. En provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (OLAITAN *et al.*, 2007).

➤ L'acidité

Le pH du miel est compris entre 3 et 6 ; il est donc suffisamment acide pour ralentir ou inhiber le développement de nombreux microorganismes pathogènes. De ce fait, il renforce les propriétés antibactériennes du miel (HOYET, 2005).

➤ La viscosité

La viscosité du miel permet de créer une barrière protectrice autour de la zone à traiter (plaie). Empêchant ainsi toute surinfection. C'est une propriété purement mécanique (HOYET, 2005).

➤ Le peroxyde d'hydrogène

Comme nous l'avons vu précédemment, le peroxyde d'hydrogène est formé au cours de la réaction enzymatique entre le glucose et le gluco-oxydase, en présence d'eau et d'oxygène. Avant son identification en 1962 par White, le peroxyde d'hydrogène était appelé inhibine. Il s'agit d'un très bon antiseptique. Sa concentration dépend directement de l'activité de la gluco-oxydase par laquelle il est synthétisé, et de la catalase qui est à l'origine de la réaction inverse. Cette dernière peut être retrouvée sur la peau, par l'intermédiaire de certaines bactéries et au niveau du plasma. Cependant, pour que la catalase soit active, il faut une forte concentration en peroxyde d'hydrogène ; or, lors de l'application du miel, la libération d'eau

oxygénée se fait de façon lente et prolongée. De ce fait, la catalase n'est que faiblement activée, et ne peut donc pas détruire l'activité antibactérienne du miel liée au peroxyde d'hydrogène. Ce dernier a donc un meilleur potentiel antibactérien quand il est libéré par le miel que lorsqu'il est utilisé seul dans une préparation antiseptique (ROSSANT, 2011).

➤ Les facteurs phytochimiques

Les huiles essentielles des nectars de fleurs, comme le thymol de thym ou la pinocembrine qui est un flavonoïde identifié récemment dans une douzaine de miels, ont un pouvoir antibactérien connu. L'activité antimicrobienne de la pinocembrine est caractérisée vis-à-vis notamment de *Staphylococcus aureus* (ROSSANT, 2011). Selon les travaux de GUILLON (1996) montre que le miel de thym présente l'une des activités antibactériennes les plus fortes, en partie dues aux phénols (thymol., carvacrol) qu'il contient.

Des études ont également montré la présence de composées phénoliques dans des miels à l'état naturel (DIMITROVA *et al.*, 2007), est mis en évidence leur activité antibactérienne, due notamment à la pinobanksine et à l'acide ferrulique (HAMOUDA et MARZOUK., 2011).

7. Rôle des protéines dans le pouvoir antibactérien

Le miel est réputé pour ses propriétés cicatrisantes depuis l'antiquité et au moins une partie de son influence positive est attribuée à ses propriétés antibactériennes (EFEM, 1998 ; MOLAN., 2001). Avec l'avènement des antibiotiques, l'application clinique du miel a été abandonnée dans la médecine occidentale moderne, bien que dans de nombreuses cultures, il est encore utilisé (JONES, 2001). Avec l'augmentation de la prévalence des bactéries résistantes aux antibiotiques, le miel est de plus en plus apprécié pour son activité antibactérienne. Sa puissance activité *in vitro* contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de son application sur des plaies, ont attiré l'attention de nombreux chercheurs qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricide et bactériostatique du miel (ROSSANT, 2011). Les protéines du miel qui ont un pouvoir antibactérien sont :

- **Gluc-oxydase (système peroxyde d'hydrogène)**

Comme nous l'avons précédemment cité, le glucose oxydase catalyse l'oxydation de l'eau ainsi que du glucose en eau oxygénée et en acide gluconique.

L'eau oxygénée est considérée comme étant l'une des principales inhibines du miel dont la concentration varie selon la fleur butinée.

Elle joue un rôle d'antiseptique (BRUDZYNSKI *et al.*, 2011). Lorsqu'elle est en contact avec des tissus et du sang, elle se décompose en eau et oxygène ce qui crée une « microeffervescence » et un nettoyage mécanique de la plaie (détersion). L'eau oxygénée exerce essentiellement des propriétés antibactériennes à spectre large, particulièrement sur les germes anaérobies dans les plaies souillées (ROSSANT, 2011).

Ce produit joue le rôle d'agent oxydant ce qui permet la dénaturation des protéines des microorganismes. Il exerce également ses propriétés sur les phospholipides, conduisant ainsi à la formation de lipo-péroxydes et de divers composés radicalaires, entraînant la rupture de la continuité de la membrane cellulaire, il s'ensuit une désorganisation du fonctionnement des membranes. Cette action n'exige pas la pénétration de l'antiseptique dans le microorganisme (JEFFERY et ECHAZARETTEA., 1996).

Aussi, ce composé stimule la multiplication cellulaire et favorise une évolution normale de l'inflammation au cours de la cicatrisation. Il stimule notamment la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation tissulaire ainsi qu'une néovascularisation dans le tissu cicatriciel (DESCOTTES, 2009).

- **Défensine-1 de l'abeille (bee defensin-1)**

La découverte de la composante responsable de l'effet bactéricide du miel « bee defensin-1 » revient à des chercheurs néerlandais (KWAKMAN et ZAAT., 2012).

8.Effets indésirable

Il est conseillé de ne pas consommer de miel en cas d'allergie alimentaire aux produits de la ruche. Enfin, il est recommandé de ne pas donner de miel aux enfants de moins de 12mois (en raison du risque, si minime soit-il, de botulisme infantile (BENJAMIN, 2013).

Quelques sensations de brûlures, de picotements sont décrites (MOLAN, 1998 ; EMARAH., 1982) notamment au moment de l'application du miel.

Le miel qui contient en moyenne 39% de fructose, 33% de glucose et divers autres polysaccharides, parmi lesquels du saccharose, ne peut en aucun cas être considéré comme un aliment recommandable au diabétique.

Mais, le miel n'est pas pour autant contre indiqué et peut être ingéré dans l'alimentation d'un diabétique dans le cadre strict de la ration de glucides qui lui permise quotidiennement.

Si un patient souffrant de diabète reçoit un traitement à base du miel pour soigner des plaies, alors il faudra tenir compte du passage systémique des sucres et opérer un contrôle glycémique renforcé.

Les personnes présentant un excès de triglycérides dans le sang (Hypertriglycémies) se voient déconseiller l'ingestion du miel (HOYET, 2005).

1. Définition

C'est une substance résineuse, gommeuse, balsamique, de couleur variable, récoltée par les abeilles sur l'écorce et les bourgeons de certaines plantes ou arbres (peuplier, bouleau, saule, orme, frêne, épicéa, sapin, pin, cocotier, goyavier...), à laquelle elles ajoutent leurs propres sécrétions (salivaires et cire) (SAUVAGER, 2014).

2. Origine

La propolis est le médicament à large spectre que la colonie va composer avec les éléments extérieurs et intérieurs qui l'entourent. Pour atteindre son but, la colonie va choisir la composition en y apportant les matières actives collectées dans son environnement. Pour l'abeille, l'important n'est pas tant la composition mais l'action de cette substance. Les analyses montrent des compositions différentes mais les actions restent communes à toutes les propolis du monde. Elles ont par contre certaines particularités biochimiques qui leur donnent des attraits thérapeutiques spécifiques. Elle les récolte à l'aide de ses mandibules, et les mélange à de la salive. Après l'avoir transportée sur les poils de ses pattes, elle tapisse l'intérieur et l'extérieur de sa ruche avec ce mastic de propolis, ce qui fortifie la colonie et assainit son environnement (Anonyme 7).

3. Composition de la propolis

La propolis récoltée par les abeilles contient les composants suivants :

- Résines et baumes 50 à 55%
- Cire 30 à 40%
- Huiles volatiles ou essentielles 5 à 10%
- Pollen 5%
- Matières diverses 5%

La propolis contient également beaucoup d'autres composants comme des acides organiques, de très nombreux flavonoïdes, des oligo-éléments, de nombreuses vitamines (Anonyme8).

4. Posologie

Pour une utilisation par voie locale (traitement de la sphère ORL, respiratoire et stomatologique) on préférera utiliser la propolis brute ou sous forme de teinture mère et ou bien encore de comprimés à sucer ou à croquer. Un gel ou une pommade peuvent être utilisés pour la sphère dermatologique. Le nombre d'applications est proportionnel à la douleur. Pour une utilisation par voie orale (systémique), en prévention des risques de maladie, la dose conseillée est de 1 à 3g par jour de la propolis pure (soit 400mg à 1.2g d'extrait sec). La durée de traitement peut être de 1 à 2 mois (POIROT, 2013).

5. Propriétés de la propolis

5.1. Propriétés physico-chimiques

-Consistance : variable selon la température : dure et friable à 15°C, molle à 30°C et gluante et collante au-delà et fond à 60/70°C.

-Densité : 1.2

-Solubilité : très peu soluble dans l'eau, partiellement soluble dans l'alcool, acétone, benzène, éther.....

5.2. Propriétés Organoleptique

-Couleur : jaune, orange, verte, violette, brune, noire

-Odeur : aromatique

-Saveur : âcre, piquante, parfois amère, qui donne une insensibilisation de la muqueuse buccale (SAUVAGER, 2014).

6. Propriétés biologiques

6.1. Propriétés anesthésiques locales

L'activité anesthésique locale de la propolis est très puissante.

- Une étude expérimentale effectuée par Prokopovitch en 1957 sur la cornée du lapin atteste que l'activité anesthésique locale de la propolis est trois fois plus grande que celle de la cocaïne et 52 fois plus forte que celle-ci.
- Frenkel démontre, à partir de ses interventions cliniques que l'effet anesthésique d'une solution de propolis (10% à 30% est analogue à celui de la cocaïne, sans pour autant avoir des répercussions postopératoire. Il utilise la propolis en anesthésie lors d'interventions chirurgicales au niveau du nez et de l'oreille, en chirurgie dentaire et stomatologie.

6. 2. Propriétés antifongiques

En partant de la constatation que dans la ruche on ne rencontre ni levure, ni moisissure, on pouvait supposer les propriétés antifongiques de la propolis. Cizmarik et Trupl (Slovaquie-Bratislava 1975) ont été étudié l'activité de la propolis sur différentes levures, notamment sur le genre *Candida* .Il en résulte de leurs expériences que la propolis exerce une inhibition sur les levures pathogènes.

Tableau III : Spectre antifongique de la propolis d'après Cizmarik et Trupl (1975)

Microorganismes	CMI	CMF
<i>Candida albicans</i>	0.25-0.50	0.50-1.00
<i>Candida tropicalis</i>	0.25-0.50	0.50-1.00
<i>Candida pseudotropicalis</i>	0.50-1.00	0.50-1.00
<i>Candida parapsilis</i>	0.50	0.50
<i>Candida guilliermii</i>	0.25-0.50	0.50
<i>Candida pulchea</i>	0.50	0.50
<i>Candida stella</i>	0.50	0.50
<i>Candida utilis</i>	0.50	1.00
<i>Candida crusei</i>	0.25	1.00
<i>Torulopsis glabrata</i>	0.25-0.50	0.25-0.50
<i>Torulopsis globosa</i>	0.25-0.50	0.50
<i>Torulopsis holmii</i>	0.25-0.50	0.50-1.00
<i>Torulopsis molischine</i>	0.25	0.50
<i>Trichosporum infest</i>	0.25-0.50	0.50

CMI : Concentration minimale inhibitrice en % de la solution à 7% de propolis.

CMF : Concentration maximale fongicide en % de la solution à 7% de propolis.

6.3. Propriétés antivirales

Bien que les travaux dans ce domaine soient moins nombreux, les recherches effectuées sur la maladie virales des plantes, ainsi que sur certains mammifères démontrent une nette activité antivirale de la propolis notamment vis-à-vis du virus d'herpes des vertébrés.

Une assez importante activité antivirale a été observé dur l'hépatite B en clinique de maladie virale.

6.4. Propriétés cicatrisantes

La propolis stimule et favorise la régénération des tissus, accélère les mitoses et intensifie le métabolisme cellulaire. Les travaux Scheller *in vivo* sur des animaux démontrent également l'influence de la propolis sur la régénération tissulaire dans le cas des blessures provoquées artificiellement. De nombreux essais cliniques ont été effectués pendant dix ans à l'hôpital central russe dans le traitement de brulures (ANONYME 8).

6.5. Propriétés thérapeutiques

La propolis englobe tout ce qui est propriété antibactérienne, antiviral, anti-inflammatoire, antalgique, immunostimulante, hépato-protective et anti-tumorale (POIROT, 2013).

Elle est indiquée dans le cas des mycoses, furoncles, herpes, zona, acné, brûlure, plaie, escarre, psoriasis, eczéma, angine, asthme, aphte, abcès, vaginite, effet chimioprotecteur, anti-infectieux (SAUVAGER, 2014).

6.6. Autres propriétés

La complexité de la composition chimique de la propolis ne permet pas encore d'appréhender tous les mécanismes de l'activité biologique, comme dans le cas du suivi d'une simple molécule chimique, mais des essais cliniques ainsi que des expériences *in vivo* mettent également en évidence d'autres propriétés.

A noter aussi :

-Les Propriétés immunologiques :

La propolis augmente le nombre des anticorps ainsi que la résistance de l'organisme à l'infection

-Les Propriétés antiparasitaires :

La propolis est capable de détruire le *trichomonas vaginalis*

-Les Propriétés anti-inflammatoires et antirhumatismales :

La propolis a une action anti-inflammatoire certaine et les expérimentations cliniques montrent les effets bénéfiques de la propolis dans le traitement de certaines maladies rhumatismales (ANONYME 8).

7. Conservation et consistance de la propolis

La conservation se fait à l'abri de la lumière et de chaleur. La couleur de la propolis varie du jaune au noir avec des teintes rougeâtres et vertes. Son odeur est aromatique avec un mélange de résine, de cire, de vanille et de miel.

Sa consistance devient celle du Chewing-gum quand on mastique la propolis, mais la propolis colle aux dents dans les premiers instants. La température fait varier la consistance. A faible température, - 10°C, la propolis est dure et friable tandis que vers 30°C, elle va ramollir, et devient malléable, souple et collante. Vers 65°C, elle fond. La propolis ne se dissout pas dans l'eau mais dans l'alcool. Sa dissolution dans l'alcool permet d'éliminer les morceaux de cire et autres impuretés (EON, 2011)

8. Réglementation et législation

D'après F.Ripet, F.Sacases qui ont démontrés que :

-la propolis est un aliment non traditionnel ; ceux qui la commercialisent doivent fournir les éléments concernant sa composition et ses critères de pureté (microbiologiques et chimiques).

Et ils ont fixés une réglementation concernant les contaminants :

- Métaux lourds : selon le règlement CE 1881/2006 révisé en le 02/07/2008 et en application depuis le 01/07/2009, tous les ingrédients qui entrent dans les compléments alimentaires ne doivent pas contenir plus de :

1mg/kg de Cadmium

3mg/kg de Plomb

0.1mg/kg de Mercure

- Pesticides :

-Limites maximales de résidus fixées pour le miel, GR et pollen mais pas pour la propolis. *S'il n'existe pas de limite de résidus fixée, la limite par défaut s'applique : 0.01mg/kg*

- Critères microbiologiques :

-Flore totale : inférieure à 100 000UFC/g

-Levures et moisissures : inférieures à 100UFC/g

-*Entérobactéries* : inférieures à 100UFC/g

-*Salmonelle* : absence dans 10g

-*E.coli* : absence dans 1g

-*Staphylococcus aureus* : absence dans 1g (SAUVAGER, 2014).

9. Activité antibactérienne de la propolis

L'activité antimicrobienne de la propolis a été mise en évidence par de nombreux chercheurs (Kivalkina 1948, Lavie 1960, Lindenfelser 1967, Metzner RFA 1978). Les germes les plus sensibles à l'action de la propolis sont les bacilles Gram positif et acidos résistants ainsi que les cocci Gram négatif.

10. Effets indésirable

Il ne ressort aucune contre-indication à proprement parler, en ce qui concerne l'usage de la propolis. Seuls les sujets allergiques, ou prédisposés, doivent l'utiliser avec précaution, voire même éviter certaines voies d'administration (l'inhalation et tout particulièrement ceux présentant facilement des phénomènes d'allergie cutanée qui doivent l'exclure totalement en applications locales.

A signaler parfois (le plus souvent à l'occasion d'une dose trop importante par rapport à la susceptibilité du sujet, ou d'un emploi trop fréquent provoquant des troubles intestinaux de type diarrhéique et une irritation buccale (EON, 2011).

1. Définition

La gelée royale est produite par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des jeunes abeilles nourrices. Il s'agit d'une sécrétion blanchâtre, acidulée et faiblement sucrée. Elle sert à nourrir toutes les larves de chaque caste pendant les trois premiers jours de leur existence ; à partir du quatrième jour, seule la cellule royale continue de bénéficier de cet aliment (RAVAZZI, 2003).

2. Origine

La gelée royale était principalement utilisée en médecine traditionnelle Chinoise pour augmenter la longévité, ralentir le vieillissement prématuré des cellules et stimuler la vigueur sexuelle. Très coûteuse elle était alors réservée aux nobles de l'empire chinois car elle était très rare car très difficile à extraire, même si aujourd'hui les techniques des apiculteurs ont nettement évolué. Sa réputation a fait un produit complémentaire des plus recherchés et des plus vendus dans le monde, mais c'est surtout un produit très complet de part sa composition. En effet, c'est sa composition très riche qui lui donne des vertus anti oxydantes et des anti-vieillissements très puissants (RAVAZZI, 2003).

3. Composition de la gelée royale

La gelée royale est composée d'eau (environ 66%), de glucides (environ 14.5%), d'acide gras (environ 4.5%) dont les acides gras essentiels et de protides (environ 13%) dont des acides aminés essentiels. On retrouve aussi dans sa composition un peptide antibiotique naturel permettant sa conservation dans la ruche. La gelée royale contient également de très nombreux micronutriments en quantité très importante tels que les vitamines des groupes A, B, C, D et E et des minéraux dont le magnésium et le sélénium. La gelée royale contient enfin des substances hormonales et de l'acide 10-HDA, utilisé comme marqueur de qualité (POIROT, 2013).

4. Propriétés de la gelée royale

4.1. Propriétés physico-chimiques

-La gelée royale se présente sous l'aspect d'une pâte gélatineuse assez liquide dont la consistance a tendance à s'épaissir en vieillissant.

-Elle est parfaitement soluble dans l'eau et sa densité est voisine de 1.1.

-Son pH est voisin de 4, ce qui lui donne cette saveur acide. C'est d'ailleurs, grâce à cette acidité que la gelée royale se conserve bien, si en effet le pH est amené artificiellement à 7, la fermentation se produit rapidement.

4.2. Propriétés organoleptiques

-Elle est de couleur blanchâtre ou légèrement jaunâtre, couleur qui peut se modifier légèrement au contact de l'air après un long stockage.

-Elle présente une odeur caractéristique rappelant un peu celle du phénol.

-Goût : Acide à doux (DOMEREGO *et al.*, 2007).

5. Propriétés biologiques

La gelée royale est le complément alimentaire ultime pour redonner de la force, de l'énergie, tout en favorisant la concentration. Elle est d'ailleurs utilisée pour soutenir l'organisme lors de convalescence, et pour aider les personnes en manque d'énergie et surmenées, tout en protégeant l'organisme des différents agressions extérieurs (bactéries, virus, germes...), elle est d'ailleurs particulièrement efficace contre la grippe, en association avec la propolis. La gelée royale est également très utile pour les enfants et les adolescents car elle apporte des facteurs de croissance et des vitamines, ainsi que pour les personnes âgées, stressées ou déprimés car elle régule la tension nerveuse, favorise la bonne humeur, protège du vieillissement prématuré des cellules et combatte le cholestérol. A noter que la gelée royale est aussi l'un des composants de nombreuses crèmes cosmétiques pour renforcer et protéger la peau, les cheveux, les ongles (FOURNIER, 2009).

En association avec du pollen et /ou miel, la gelée royale a une action sur l'appareil digestif, l'ulcère gastroduodéal et les gastrites chroniques, ainsi que sur les colites en permettant de retrouver une flore intestinale performante et un état normale du transit intestinal (LAURENT, 2005).

La gelée royale va aussi, grâce à sa richesse en vitamines B1, phosphore, acides aminés, permettre une meilleure qualité du sommeil, de l'éveil, des assoupissements. Elle à une action euphorisante et stimulante, améliore les états dépressifs passagers et l'appétit (DOMEREGO *et al.*, 2007)

6. Activité antibactérienne de la gelée royale

1) L'acide trans-10-hydroxy-2-décénoïque

Des études ont montré que la gelée royale possède une activité antibactérienne. En effet, elle inhibe certaines bactéries Gram positif et Gram négatif. Cette activité est due en majorité à la présence d'un acide gras, l'acide trans-10-hydroxy-2-décénoïque, qui est actif sur différentes bactéries : *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (BARNUTIU *et al.*, 2011).

2) Les protides

Des protéines et des peptides jouent également un rôle important dans le pouvoir antibactérien de la gelée royale. Il s'agit des protéines majeures de la gelée royale ou MRJP (BOGDANOV, 2011), ainsi que de trois types de peptides : une défensine (la royalisine), les jelleines (jelleine I, II, III, IV), et l'apisimine. Ce dernier peptide ne possède pas d'activité antimicrobienne mais forme un complexe avec l'apalbumine (MRJP 1) et serait impliqué dans l'activation de mécanismes cellulaire (FONTANA *et al.*, 2004). La royalisine inhibe les bactéries à Gram positif tel que *Bacillus subtilis*. Elle aussi active sur *Escherichia coli*,

comme l'apalbumine (BARNUTIU *et al.*, 2011). Ces protéines sont la Gluco-oxydase et la Défensine-1 de l'abeille qu'on a déjà développée au deuxième chapitre (miel).

7: Rôles des protéines dans le pouvoir antibactérien dans le cas de la gelée royale

- **Royalisine : fraction peptidique de la gelée royale**

Une fraction peptidique a été isolée de la gelée royale par la méthode de dialyse double en milieu acide. La séquence N-terminal du peptide majeur de la fraction est V-T-C-D-L-L-S-F-K-G. Cette séquence correspond à la structure du peptide de défense de la gelée royale-la royalisine- au poids moléculaire de 5523 Da. Ce peptide présente une action antibactérienne contre les bactéries Gram + positives (MATEESCU, 2001).

- **L'apisimine de la gelée royale**

Elle est caractérisée par électrophorèse sur gel de polyacrylamide avec sodium dodécylsulphate en position 3 dans la page A. Dans la page B, l'apisimine occupe la deuxième position. Il faut retenir que la gelée royale est riche en protéine majeures « protéines majeures de la gelée royale » (MRJP), en acide 10-hydroxy-décénoïque (10-HDA) et en vitamines, principalement les B3, B5 et B7. Les MRJP et la 10-HDA sont les plus intéressantes dans la recherche scientifique. Il faut noter que la 10-HDA est retrouvé uniquement dans la gelée royale. Aucun autre être vivant (animal, végétal ou fongique) n'en contient (NICOLAU, 2014-2015).

Tableau IV : Propriétés inhibitrice de la gelée royale et ses fractions (NICOLAU, 2014-2015).

Bactéries	Gelée royale (RJ) à double distance mm	Diamètre supermatant de la gelée royale (mm)	Pastille de la gelée royale à double distance (mm)
<i>Micrococcus luteus</i>	12±0	23.5±0.5	10±0
<i>Leuconostoc mesenteroides</i>	11±1	18±0	6±0
<i>Lactobacillus plantarum</i>	12±0	17±0	4±0
<i>Enterococcus faecalis</i>	10±0	17±0	4±0
<i>Bacillus subtilis</i>	16±0	16±0	18±2
<i>Erwinia carotovora</i>	17±1	12.5±1.5	8±0
<i>Micrococcus varians</i>	10±2	13.5±0.5	7±1
<i>Bacillus licheniformis</i>	18±0	13±0	13±1
<i>Lactococcus lactis</i>	13±1	11.5±0.5	6±0
<i>Alcaligenes eutrophus</i>	6±0	12±0	6±0
<i>Escherichia coli</i>	6±0	12±0	3±1
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	6±0	11±0	2±0

- **Protéines et peptides de la gelée royale**

L'analyse par MALDI-TOF-MS de la gelée royale a montré que la partie prépondérante des peptides et protéines de faibles poids moléculaires de la gelée royale provient de la coupure protéolytique des protéines majeures de haut poids moléculaire. Les tests d'activité antibactérienne montrent que se sont principalement les peptides courts qui sont biologiquement actifs. Ces peptides proviennent bien de la coupure protéolytique des protéines majeures de la gelée royale. D'autres petits peptides ne sont pas liés aux protéines majeures de la gelée royale car ils ne présentent aucune homologie de séquence avec ces dernières.

Les autres peptides antibactériens actifs du système humoral immunitaire de l'abeille (hémolymph) sont l'apidaecine, l'abaecine et l'hymenoptaecine avec 18.34 et 93 acides aminés. Il est donc clair que la gelée royale joue un rôle important dans la défense contre les invasions bactériennes chez les abeilles et le couvain.

La gelée royale contient un grand nombre de protéines natives et de dérivés protéiniques, dominé par 4 familles de protéines majeures de haut poids moléculaire. Ces protéines de la gelée royale (MRJP, pour Major Royal Jelly Protein) représentent plus de 80% de la masse totale des protéines.

Parmi les protéines de la gelée royale, l'apalbumine (MRJP1) et MRJP2 se manifestent au niveau du cerveau (les centres de mémoire) de l'abeille adulte. Un petit peptide- l'apisimine- au poids moléculaire de 5540.4 Da a été identifié au niveau de cerveau des abeilles nourrices et butineuses (MATEESCU, 2001).

8. Effets indésirable

La gelée royale est un anabolisant (participe à la régénération cellulaire) ; à ce titre, il est recommandé de ne pas consommer en cas de cancer. Enfin, il est conseillé de ne pas consommer la gelée royale en cas d'allergie alimentaire aux produits de la ruche.

Aussi la gelée royale contient de sucre qu'il n'est pas tolérable aux personnes qui souffrent de l'obésité ainsi que les diabétiques. Toutefois pour ces derniers on peut trouver sur le marché des gelées royales dans lesquelles on a remplacé le saccharose par un autre sucre qui est toléré, le fructose (POIROT, 2013).

1. Matériels et méthodes

L'objectif de notre travail est d'étudier l'effet antibactérien de deux échantillons de miel, de l'extrait de propolis, de la gelée royale ainsi que les mélanges de miel+propolis et miel+gelée royale, testés par un ensemble de bactéries pathogènes (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumoniae*).

La partie expérimentale a été réalisée au laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences Biologiques et des sciences Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou durant le mois de juin 2015.

1.1. Matériels biologiques

1.1.1. Les produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale)

Les échantillons de miels sont récoltés dans la région de : Naciria wilaya de Boumerdes Il s'agit d'un miel mono floral « lavande », « sain foin », de la propolis et de la gelée royale. Selon les informations données par les apiculteurs, ces échantillons de miels sont récoltés en 2014- 2015 par différentes méthodes d'extraction (Centrifugation, greffage et grattage sur et entre les cadres) et sont conservés dans des pots hermétiques en verre à l'abri de l'humidité.

Tableau V : Les informations données sur les échantillons analysés

Echantillons	Nom de l'échantillon	Aspect physique	Méthode d'extraction	Région	L'année
1	La lavande	Jaunâtre et visqueuse	Centrifugation	Naciria en montagne	Avril 2015
2	Sain foin	Jaune clair et visqueuse	Centrifugation	Naciria en plaine	Mai 2015
3	Gelée royale	Blanchâtre et épaisse	Greffage	Naciria	Printemps 2015
4	Propolis	Noire et solide	Grattage sur et entre les cadres	Naciria	Automne 2014

1.1.2. Les Micro-organismes testés

L'évaluation de l'effet antibactérien du miel de la propolis ainsi que de la gelée royale ont été testées sur deux groupes de bactéries : bactéries à Gram négatif à savoir *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Klebsiella pneumoniae* et une souche à Gram positif : *Staphylococcus aureus* (ATCC 25922).

Les souches nous ont été fournies par le laboratoire pédagogique de microbiologie de la faculté des sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques de l'UMMTO, elles ont été conservées sur bouillon nutritif à 4°C et ont été choisies selon la littérature.

1.1.3. Les antibiotiques

Les disques d'antibiotiques utilisés comme témoin + pour l'antibiogramme sont à large spectre antibactérien : La Gentamicine (CN 10), Amoxicilline (AMX 25) et Sulphamethaxazole (SXT 25), ils nous ont été fournis par le laboratoire pédagogique de microbiologie de l'UMMTO.

1.2. Préparation des échantillons

Les échantillons de miels, la gelée royale et les mélanges miels et propolis, miel et gelée royale ont été utilisés purs sans dilution.

Concernant la poudre de la propolis a été obtenu par écrasement après l'avoir mise dans un sac en plastique épais.

Mode opératoire

Nous avons pris 20g de poudre de propolis dans un herlen meyer dissoute dans 180g d'alcool à 95%, macérer pendant 3 semaines à l'abri de la lumière sous agitation à l'aide d'un agitateur magnétique, ensuite filtrer, sécher dans un rota vapeur à 60°C jusqu'à obtention d'un Concentré de propolis (FRANÇOISE, 2014).

2. Tests microbiologiques

2.1. Conservation des souches

A partir des souches pures, faire des repiquages dans des tubes de gélose de conservation en piqûre centrale et incubation 24h à 37°C. Les tubes sont ensuite conservés dans le réfrigérateur à 6±1°C. Les repiquages sont réalisés tous les 15jours.

2.2. Préparation de pré-culture (réactivation des souches)

Les tests antibactériens doivent être réalisés à partir des cultures jeunes de 18h à 24heures en phase de croissance exponentielle. La réactivation des souches est effectuée par l'ensemencement de l'espèce bactérienne dans un milieu liquide BHIB. Après incubation de 18h à 24h à 37°C, un deuxième repiquage est réalisé dans des boîtes de Pétri contenant la gélose nutritive puis incubé 18h à 24h à 37°C.

2.3. Préparation de la suspension bactérienne et standardisation

A partir des cultures jeunes (18 h), sur les milieux Mueller Hinton (MH), prélever 3 à 5 colonies bien isolées et identiques dans 5ml d'eau physiologique stérile, agiter au vortex pendant quelques secondes. La standardisation de la suspension à 10⁶ UFC/ml, est réalisée à l'aide d'un spectrophotomètre réglé sur une longueur d'onde de 620 nm.

Selon Mac Farland, on admet une DO (620nm) comprise entre 0,08 et 0,1 qui correspondent à une concentration de 10⁷ à 10⁸ germes/ml ; la suspension d'inoculum est

diluée à 1/10 dans de l'eau physiologique stérile pour avoir une concentration de 10^6 germes/ml.

2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de diffusion par disque

- **Principe**

Elle permet d'évaluer l'activité antibactérienne du miel, de la gelée royale et des mélanges par la méthode de diffusion en gélose par l'utilisation des disques stériles de papier filtre (6mm de diamètre). Elle consiste à estimer l'inhibition de la croissance des germes testés soumis au contact des échantillons à tester, elle est surtout utilisée en étape préliminaire à des études plus approfondies, car elle permet d'accéder à des résultats essentiellement qualitatifs. La technique utilisée est une modification de la méthode de (HAYES et MARKOVIC, 2002 ; MOLAN, 2009).

Le diamètre d'inhibition, qui traduit l'activité antibactérienne du miel, gelée royale et des mélanges miels+propolis et miels+ gelée royale, sont déterminés (figure 01)

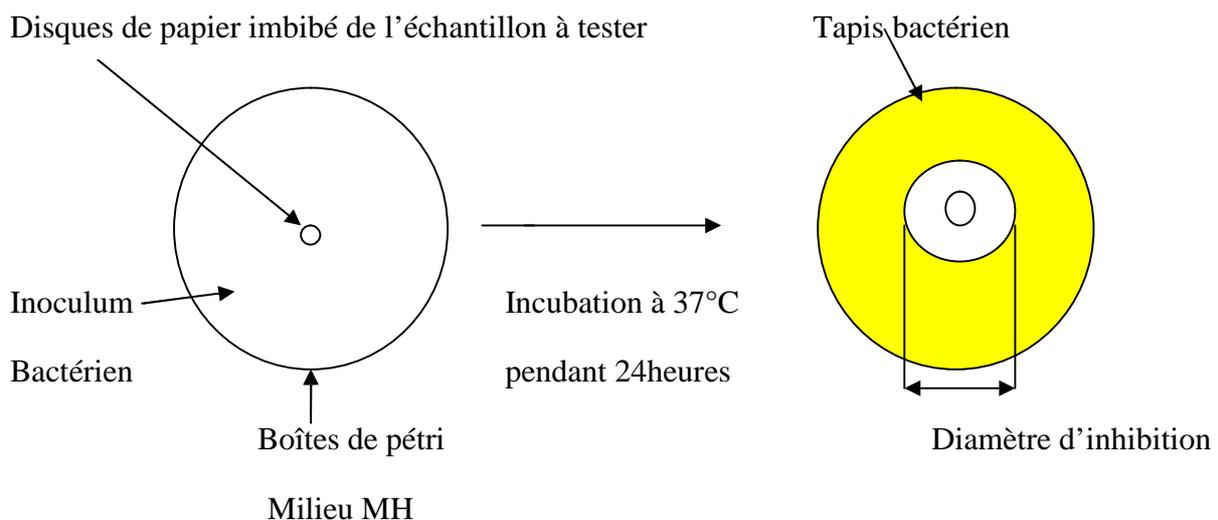


Figure 1: Principe de l'antibiogramme

- **Protocole expérimental**

Couler aseptiquement le milieu de culture gélosé Muller Hinton (MH) en surfusion (45°C) dans des boîtes de Pétri à raison de 15ml par boîte. Laisser refroidir et solidifier sur la paille. Préparer une suspension bactérienne de 10^6 UFC/ml à partir d'une culture jeune de 18 heures.

Tromper l'écouvillon dans la suspension bactérienne puis ensemer en surface les boîtes coulées déjà par MH.

- **Dépôt des disques**

A l'aide d'une pince stérile, déposer des disques stérile imprégnés de substance sur la gélose dans chaque boîte par les deux miels différents, la gelée royale, la propolis mélanger à du miel ainsi que la gelée royale mélanger à du miel. Les boîtes de pétri sont ensuite laissées sur paillasse pendant 30mn et mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

L'expérience est répétée trois fois pour chaque miel, pour chaque mélange et pour chaque espèce bactérienne.

- **Lecture**

L'évaluation de l'activité antibactérienne du miel est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition autour de chaque disque à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle décimale.

Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité nous avons considérés que si le diamètre de la zone d'inhibition est :

-Inférieure à 10mm : y a une résistance.

-Egale à 10mm : y a une sensibilité intermédiaire.

-Supérieure à 10mm : y a une sensibilité remarquable.

2.5.Evaluation de l'activité antibactérienne par la méthode de puits.

Consiste à estimer l'inhibition de la croissance des germes à tester soumis au contact avec les mêmes échantillons. La technique utilisée est une modification de la méthode de (HAYES et MARKOVIC, 2002 ; MOLAN, 2009).

- **Protocole expérimental**

Le protocole est le même cité déjà dans la méthode de disques.

- **Préparation des puits**

A l'aide d'une pipette pasteur stérile, réaliser des puits d'environ 6mm de diamètre sur la gélose MH bien refroidie. Remplir les puits avec du miel, gelée royale et les mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale). Les boîtes de pétri sont ensuite laissées sur paillasse pendant 30 mn et mises à l'étuve à 37°C pendant 24 heures.

- **Lecture**

L'évaluation de l'activité antibactérienne du miel est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition autour de chaque puits à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité nous avons considéré une souche sensible si le diamètre de la zone d'inhibition dépasse le diamètre du disque (6 mm).

2.6.Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

Un test de détermination de la Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) a été réalisé afin de préciser le caractère bactériostatique de deux échantillons de miels, de la gelée royale ainsi que des mélanges miel+propolis et miel+gelée royale vis-à-vis des souches étudiées.

Selon CHAUHAN *et al*, (2010) la détermination de la CMI se fait par la technique de dilution en milieu liquide.

- **Principe**

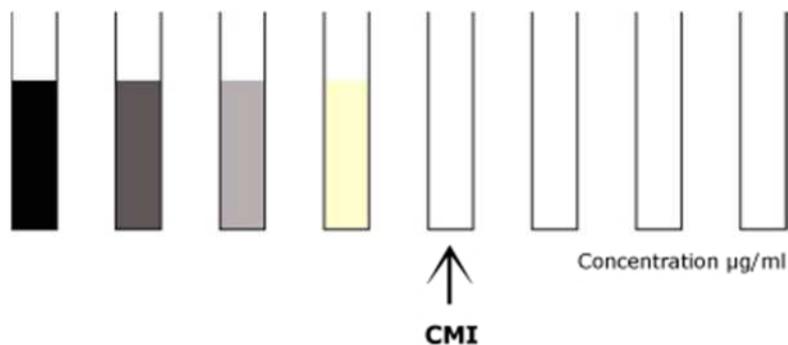
Cette technique consiste à inoculer, par un inoculum standardisé, une gamme de concentration décroissante en miel, en gelée royale et en mélanges de miel+propolis et miel+gelée royale. Après incubation à 37°C pendant 24h, l'observation de la gamme permet d'accéder à la CMI, qui correspond à la plus faible concentration en miel (mélange de miel) capable d'inhiber la croissance bactérienne.

- **Préparation de la gamme de dilutions**

La détermination de la CMI est réalisée par la technique de macro-dilution en milieu liquide. Des dilutions de demi en demi ont été effectuées pour l'obtention des concentrations finales de 512 mg/ml, 256 mg/ml, 128 mg/ml, 64 mg/ml, 32 mg/ml, 16 mg/ml, 8 mg/ml, 4 mg/ml, 2 mg/ml et 1 mg/ml. Pour cela, 1.024 grammes du miel, de la gelée royale ainsi que des mélanges miel+propolis et miel+gelée royale sont placés chacun dans un tube stérile contenant 2ml de BHIB, ensuite 1ml de ce tube sont transférés dans un second tube contenant 1ml de BHIB et ainsi de suite jusqu'au dixième tube ou le un ml seront éliminés.

- **Ensemencement en milieu liquide**

A l'aide d'une pipette Pasteur, ajouter exactement 5µl de la suspension bactérienne standardisée à 10⁶ UFC/ml dans chacun des tubes préparés, ensuite les incuber 24 heures à 37°C. Un tube témoin a été réalisé sans aucun agent antibactérien, pour lequel 5µl de l'inoculum standardisé ont été déposés dans 1ml de BHIB, est également réalisé dans les mêmes conditions.



« Schéma représentant l'ensemencement en milieu liquide de la CMI »

- **Lecture**

Après 24 heures, la lecture doit se faire en comparant chaque tube de la gamme avec celui de tube témoin qui se caractérise par un trouble.

La CMI des échantillons sont définis à partir du premier tube de la gamme visible à l'œil nu, aucune croissance bactérienne n'est visible.

2.7. Détermination de la CMB (Concentration Minimale Bactéricide)

- **Principe**

La CMB correspond à la plus faible concentration de l'agent antibactérien testé capable de tuer plus de 99,9% de l'inoculum bactérien initial (soit moins de 0,01% de survivants).

La détermination de la CMB a été réalisée sur les tubes ne présentant pas de croissance par ensemencement en surface avec MH grâce à un écouvillon trompé dans la dilution en faisant des traits (on change l'écouvillon pour chaque tube ou dilution). Les boîtes ensemencées sont incubées 24 heures à 37°C.

- **Lecture**

La CMB du miel, de la gelée royale ainsi que des mélanges (miel+gelée royale, miel+propolis) est déduite à partir de la première boîte dépourvue du développement bactérien.

1. Evaluation de l'activité antibactérienne

1.1. Résultats de l'antibiogramme

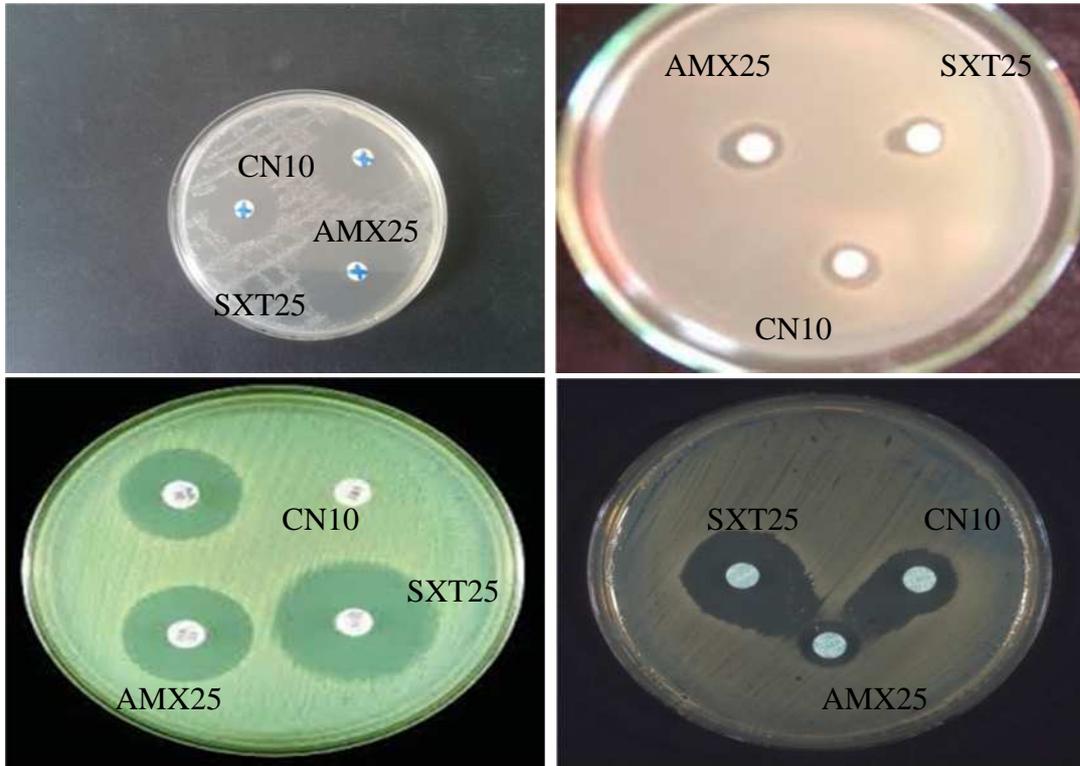


Figure 2 : Les résultats d'antibiotiques testés (CN10, AMX25, SXT25) vis-à-vis *S. aureus*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *E. coli*.

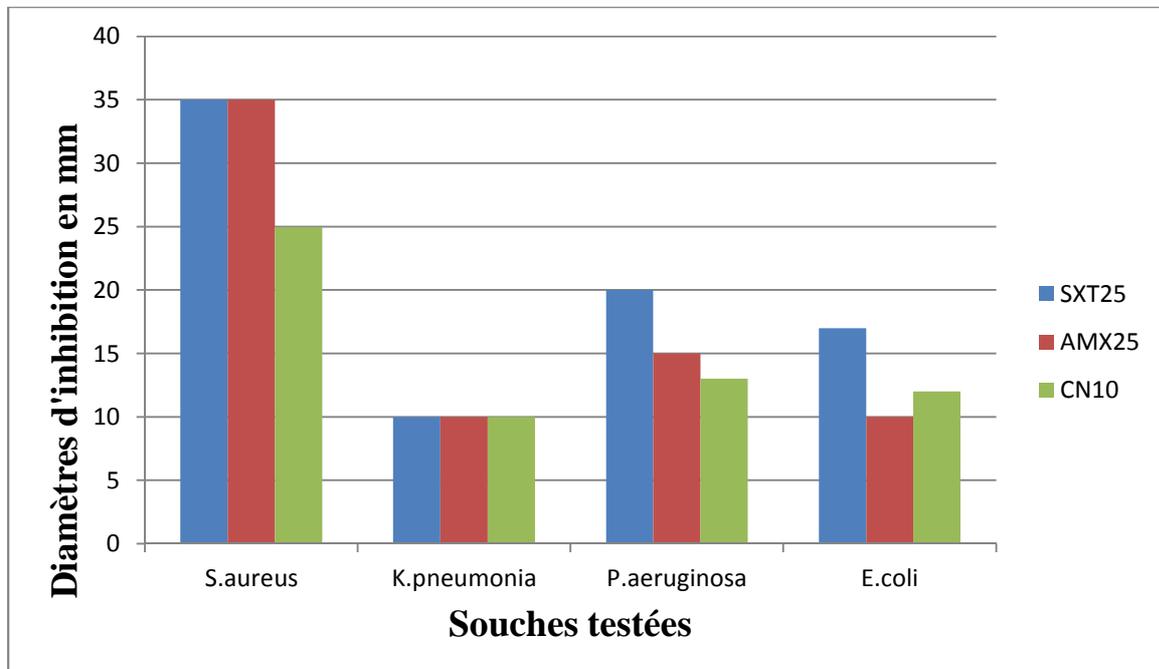


Figure 3 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques (SXT25, AMX25, CN10) vis-à-vis des souches testées.

1.1.1. Résultats du test de sensibilité des souches bactériennes

➤ Méthode des disques

La sensibilité des bactéries aux différents miels, à la gelée royale ainsi qu'aux mélanges miel+propolis et miel+gelée royale est déterminée selon le diamètre du halo d'inhibition par la méthode de diffusion sur gélose (par disques et par puits).

Les résultats mentionnés montrent un effet léthal (bactéricide) dans le cas de la gelée royale pour *E. coli*, *S. aureus*, *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa*. Pour les autres échantillons ont un effet bactériostatique avec des zones d'inhibition allant de 12mm à 40mm pour *E. coli* et 10mm à 23mm pour *S. aureus*, 9mm à 23mm pour *K. pneumoniae* et enfin 7mm à 12mm pour *P. aeruginosa*. Pour M1+P dans le cas de *K. pneumoniae* et *P. aeruginosa* aucune zone d'inhibition n'a été observée aussi pour M2+P dans le cas de *K. pneumoniae*.

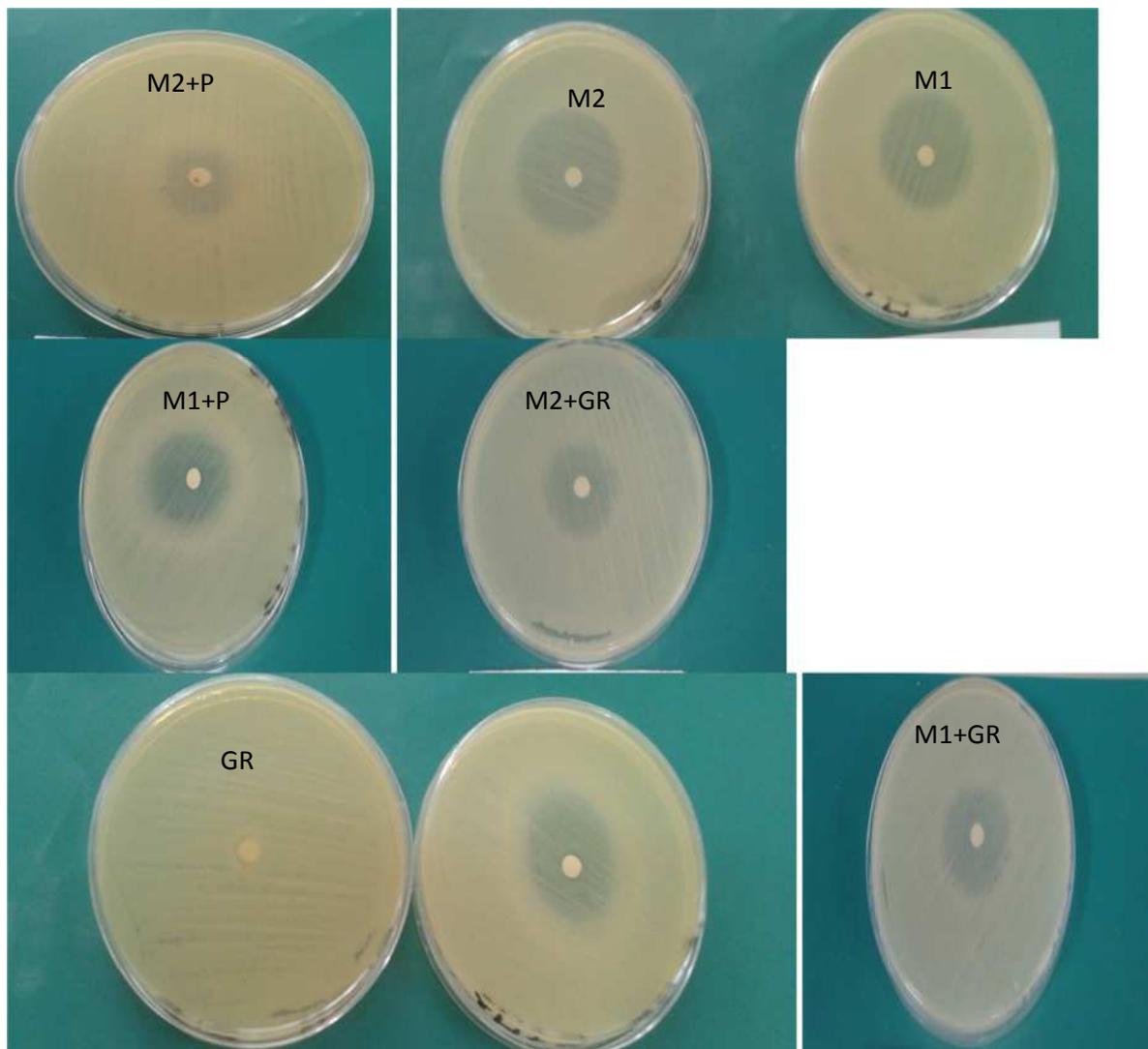


Figure 4 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *E. coli*.

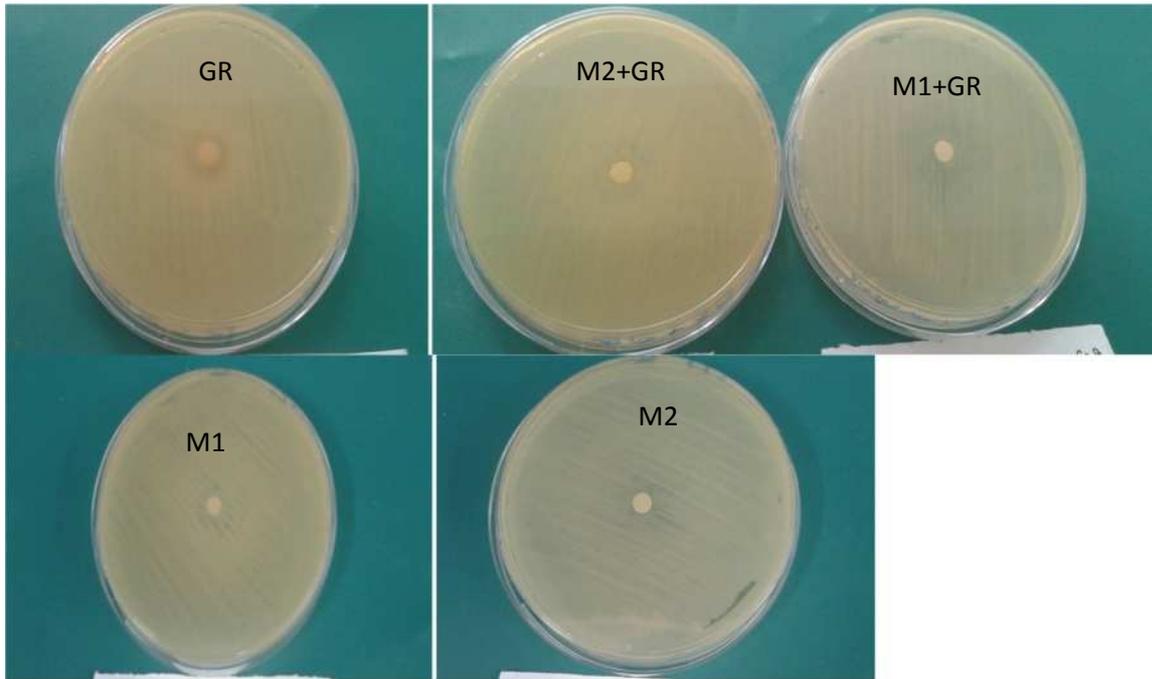


Figure 5 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *K. pneumoniae*.

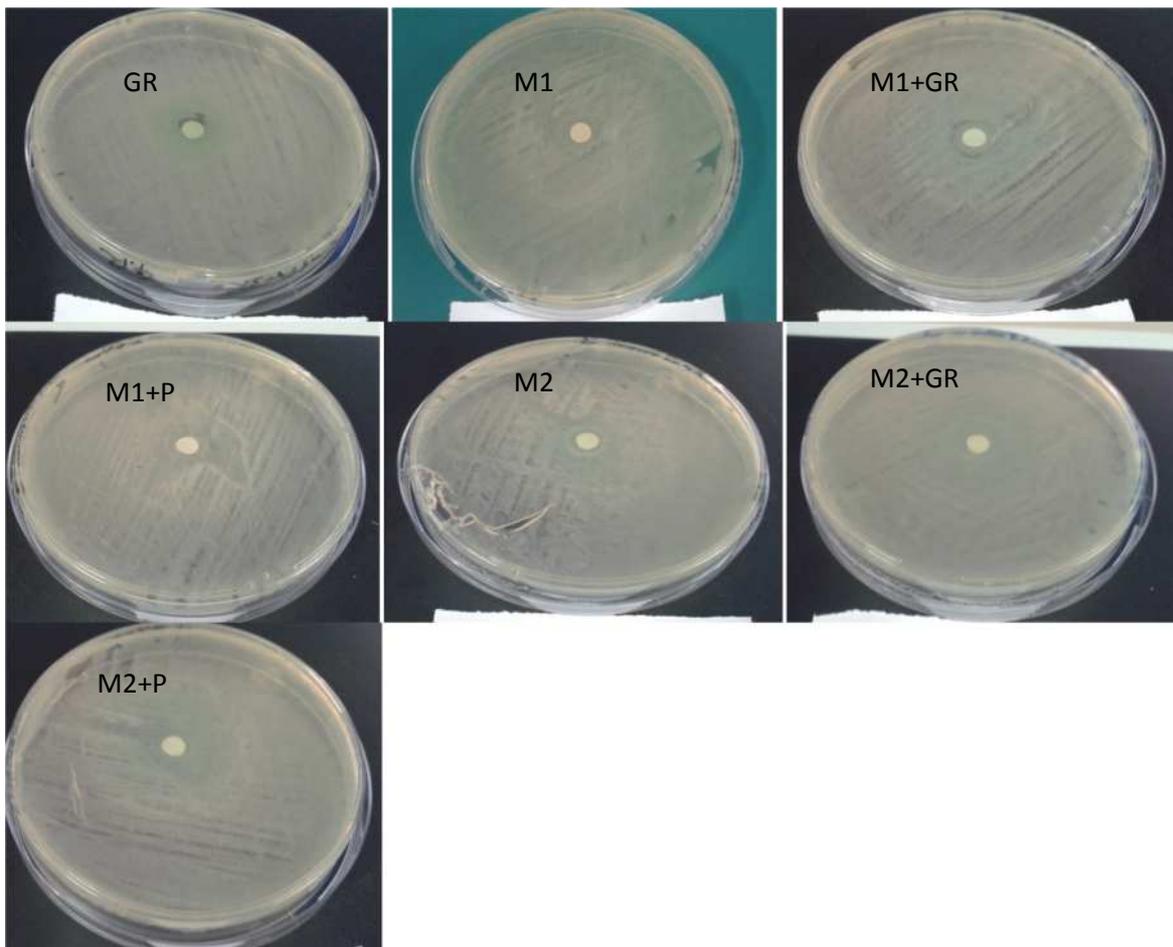


Figure 6 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *P. aeruginosa*.

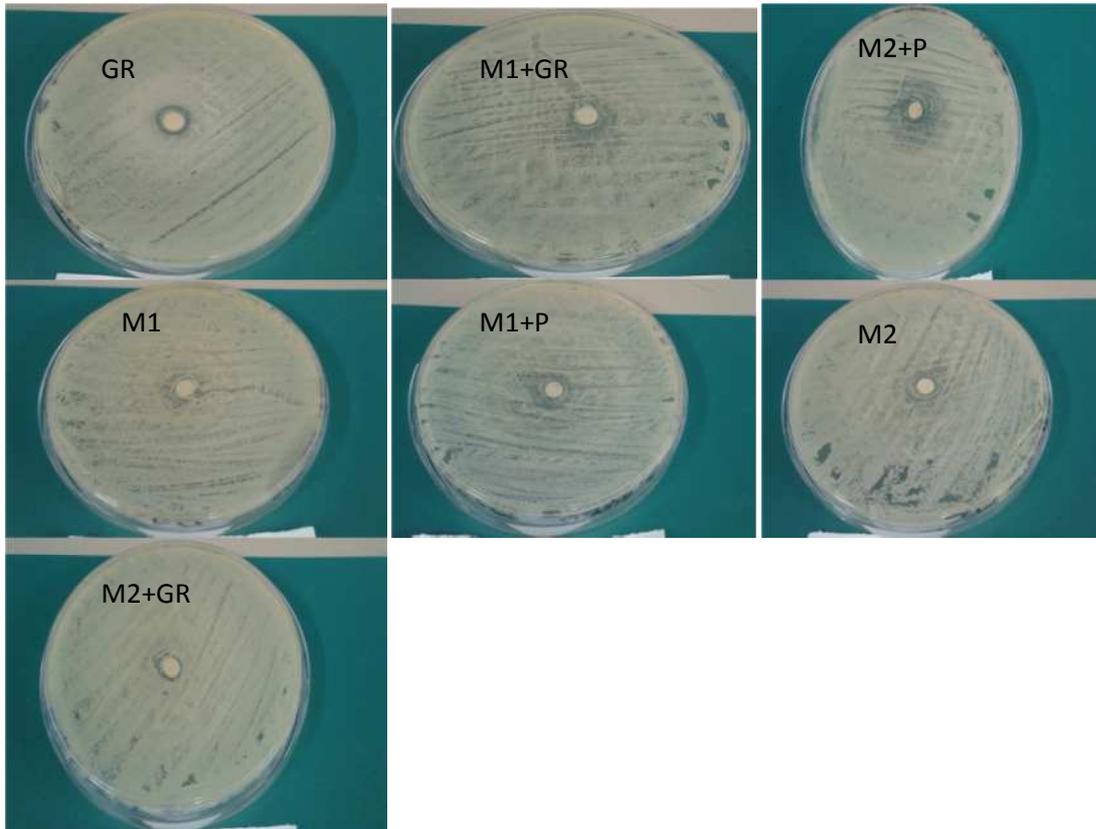


Figure 7 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *S. aureus*.

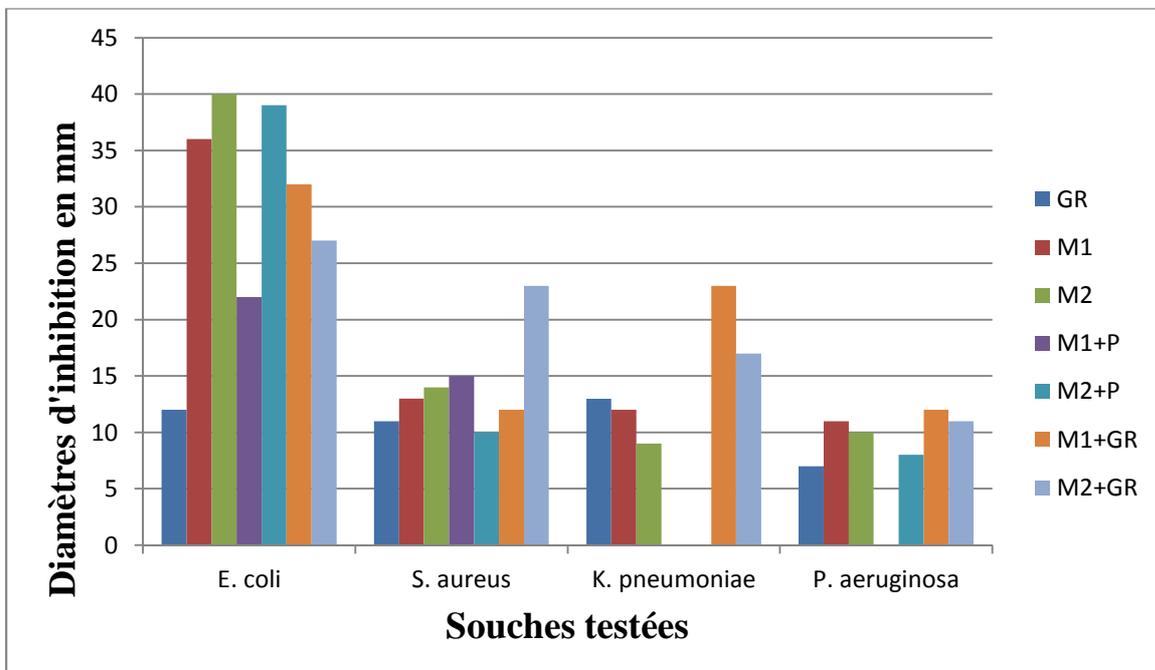


Figure 8 expérience 1 : Diamètres des zones d'inhibition générés par les disques du miel, de la gelée royale et des mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.

• Expérience 2

Tous les échantillons ont un effet inhibiteur sauf pour (M2, M1+P, M2+P, M1+GR) de *K. pneumoniae* ont un effet létal cela signifie que la souche est moyennement sensible aux échantillons. D'après ces résultats nous constatons bien que les deux miels, la gelée royale ainsi que les mélanges (miel+propolis et miel+ gelée royale) ont un effet bactéricide avec des halos d'inhibition allant de 5mm à 15mm pour *E. coli* et de 7mm à 15mm pour *S. aureus* et de 7mm à 13mm pour *P. aeruginosa*, concernant *K. pneumoniae* on remarque bien que y'a existence des zones d'inhibition importante d'ordre de 7mm à 15mm et il s'est avéré que la plupart des échantillons ont un effet bactériostatique pour *K. pneumoniae*.

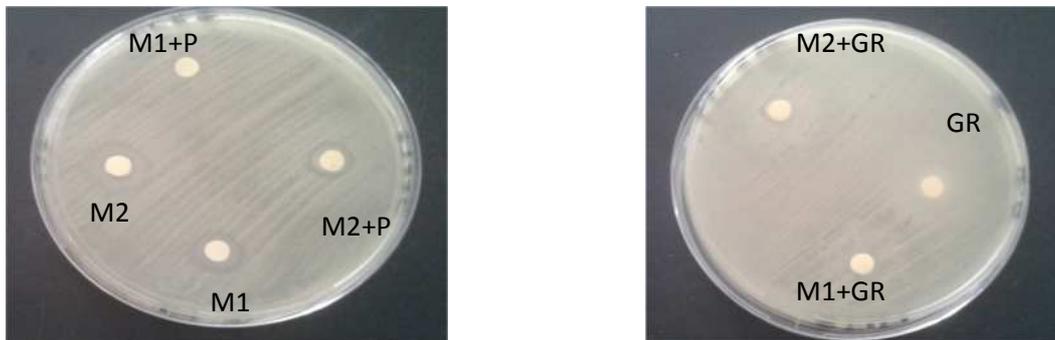


Figure 9 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *E. coli*.



Figure 10 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *K. pneumoniae*.

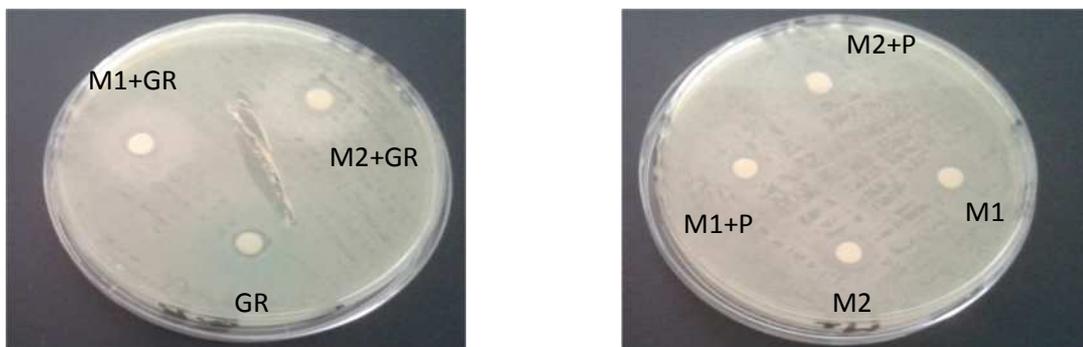


Figure 11: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *P. aeruginosa*.



Figure 12 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *S. aureus*.

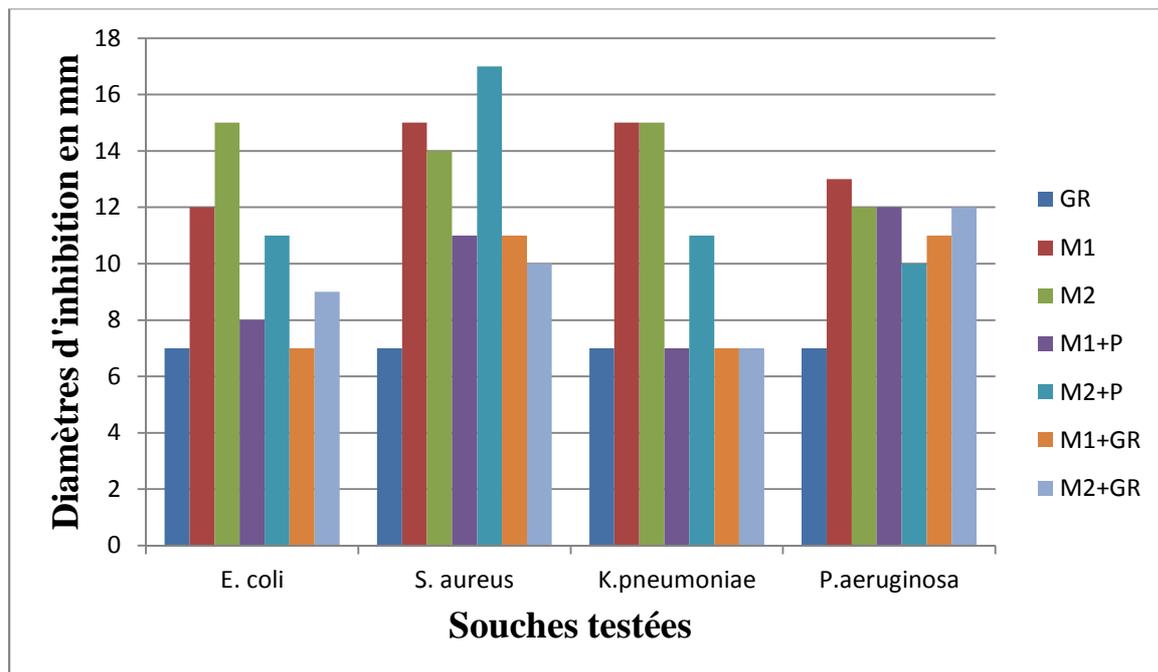


Figure 13 expériences 2 : Diamètres des zones d'inhibition générés par les disques du miel, de la gelée royale et des mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.

- **Méthode de puits**
- **Cas des échantillons**

La plus part des échantillons ont un pouvoir bactéricide comme *E. coli* donc la souche n'est pas résistante (sensible) de ce fait le miel et les mélanges de miels, propolis, gelée royale ont un effet létal. On peut déduire que les deux miels, la gelée royale ainsi que les mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) ont un effet bactéricide avec des diamètres allant de 12mm à 15mm pour *E. coli* et de 11mm à 15mm pour *K. pneumoniae* sauf pour M1+P qui a un effet bactériostatique, *S. aureus* a présenté des zones d'inhibition moindre d'ordre de 6mm à 15mm et il s'est avéré que la plus part des échantillons ont un effet bactériostatique. Voilà les photos qui montrent les zones d'inhibition :

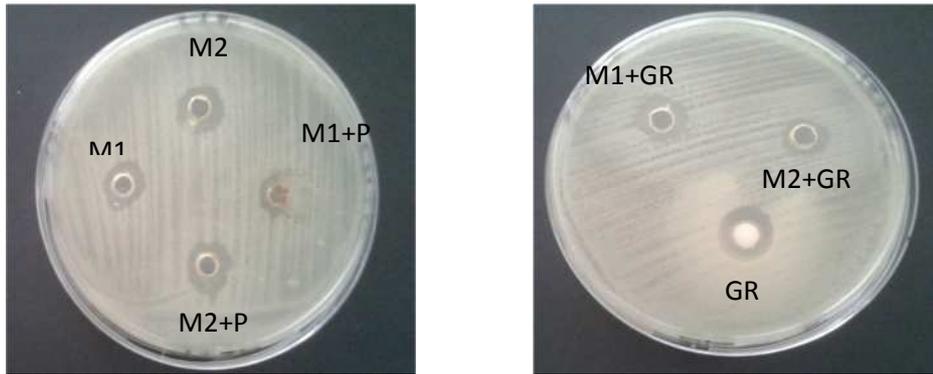


Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *E. coli*.

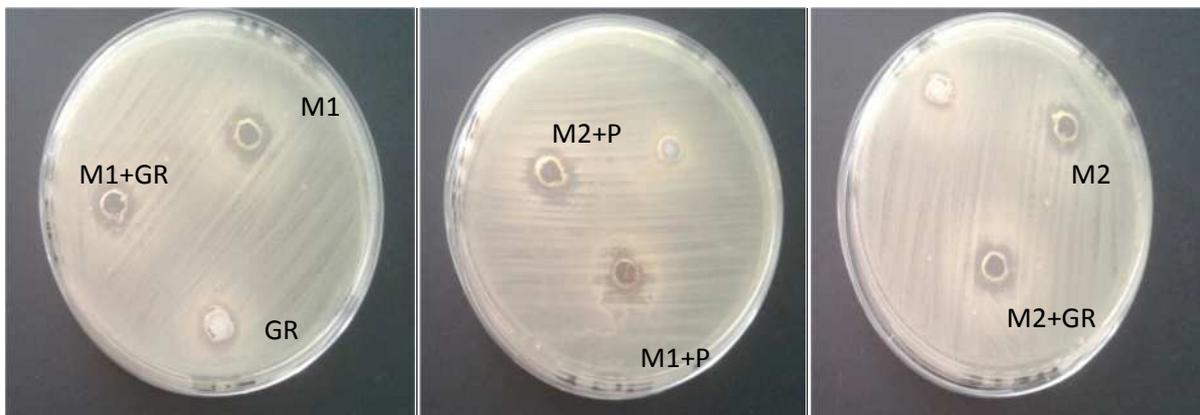


Figure 15 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *K. pneumoniae*.

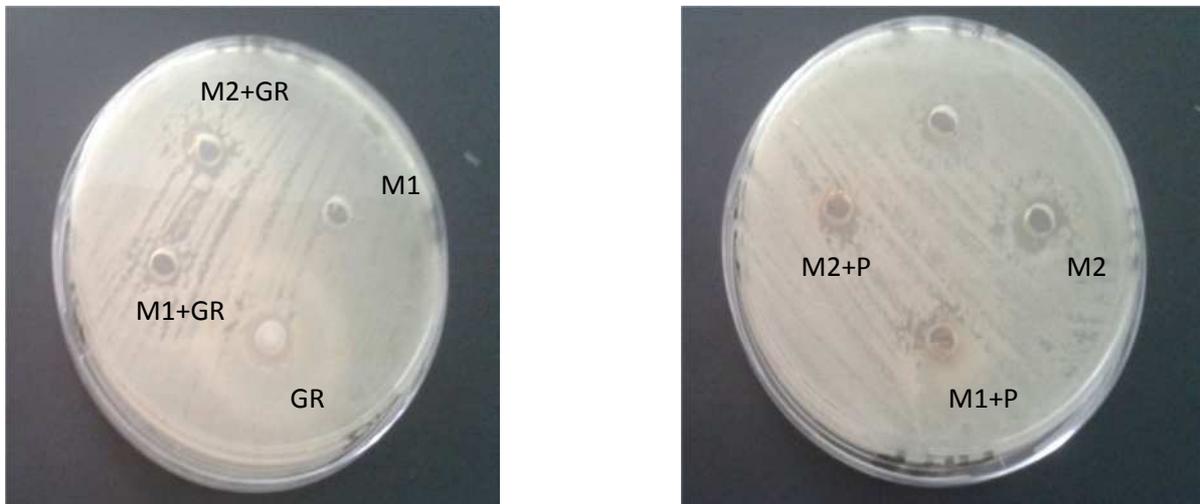


Figure 16 : Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis *S. aureus*.

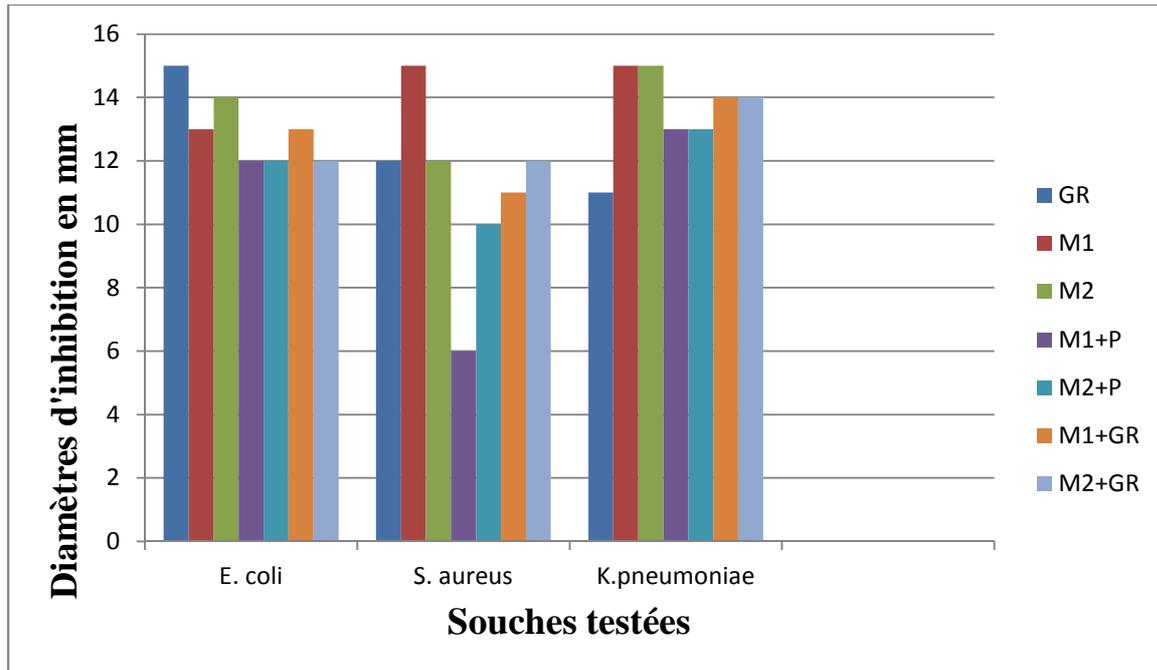


Figure 17 : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, de la gelée royale et des mélanges (miel+propolis et miel+gelée royale) sur les souches testées.

D'après les résultats illustrés sur les photos On peut constater à qui suit :

Les quatre souches bactériennes sont sensibles aux différents échantillons. Avec des différences d'un type à un autre

L'effet antibactérien sur les souches est plus important avec les échantillons combinés. et il diminue avec le facteur temps.

Concernant les souches *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. aureus* les agents antibactériens testés ont l'effet le plus important.

La souche *S. aureus* est moyennement sensible à l'effet des échantillons alors que *P. aeruginosa* qui peut être considéré relativement résistante.

Nos échantillons ont deux types d'effet sur les bactéries (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*)

-un effet bactéricide sur les zones les plus proches des puits ou des disques imprégnés des échantillons (destruction total des bactéries)

-un effet bactériostatique sur les zones relativement loin des puits ou des disques (inhibition partielle de la croissance des bactéries).

- Cas de concentré de propolis par la méthode de puits

Remarquant bien que même avec cette méthode de puits on a obtenus des résultats acceptables. *K. pneumoniae* et *E. coli* sont les souches les plus sensibles à l'effet inhibiteur de l'extrait de propolis sont montrés dans les photos suivantes :

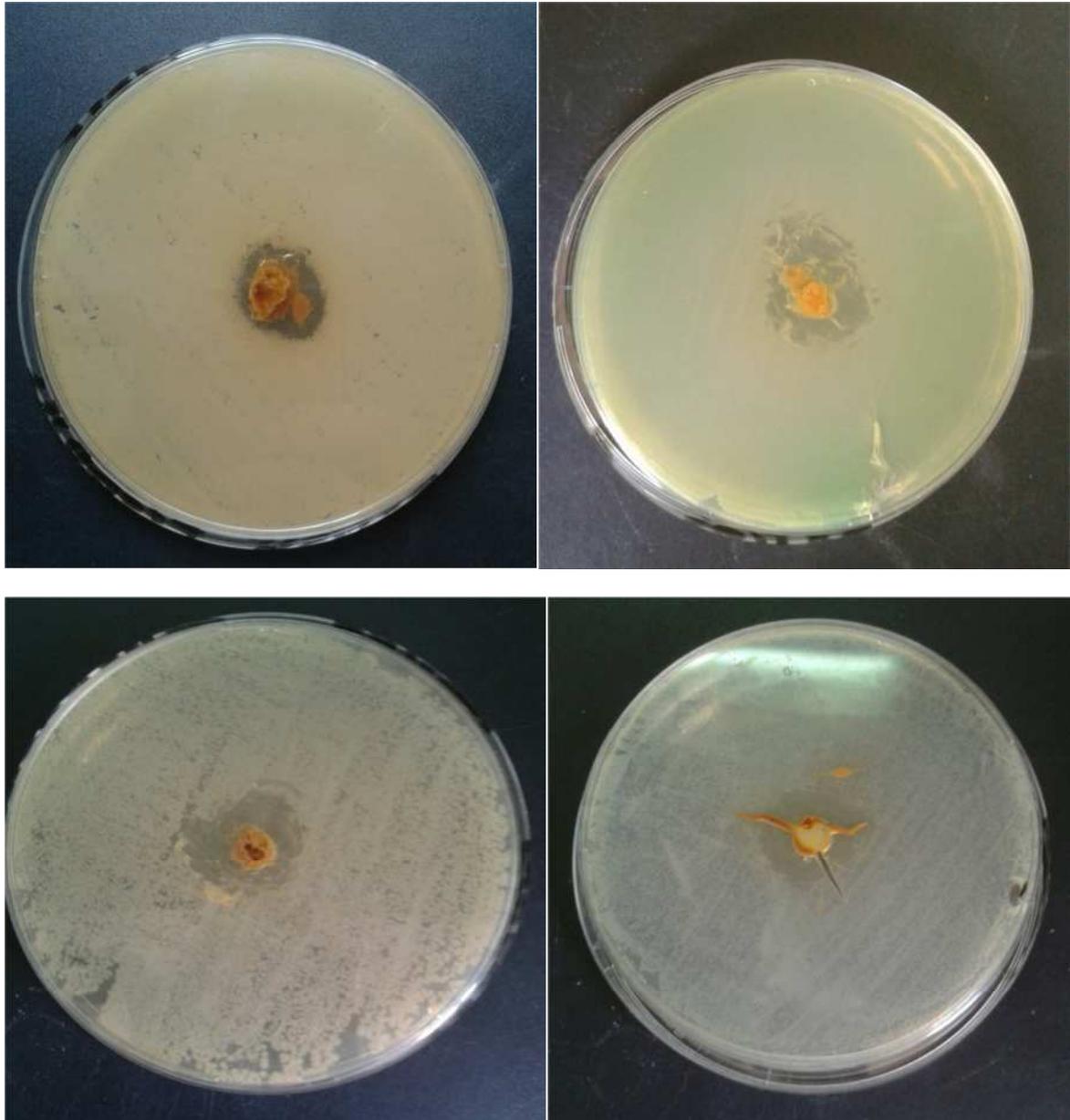


Figure 18 : Diamètres des zones d'inhibition (concentré de propolis) en photos vis-à-vis *S. aureus* et *P.aeruginosa*, *K. pneumoniae* et *E. coli* respectivement.

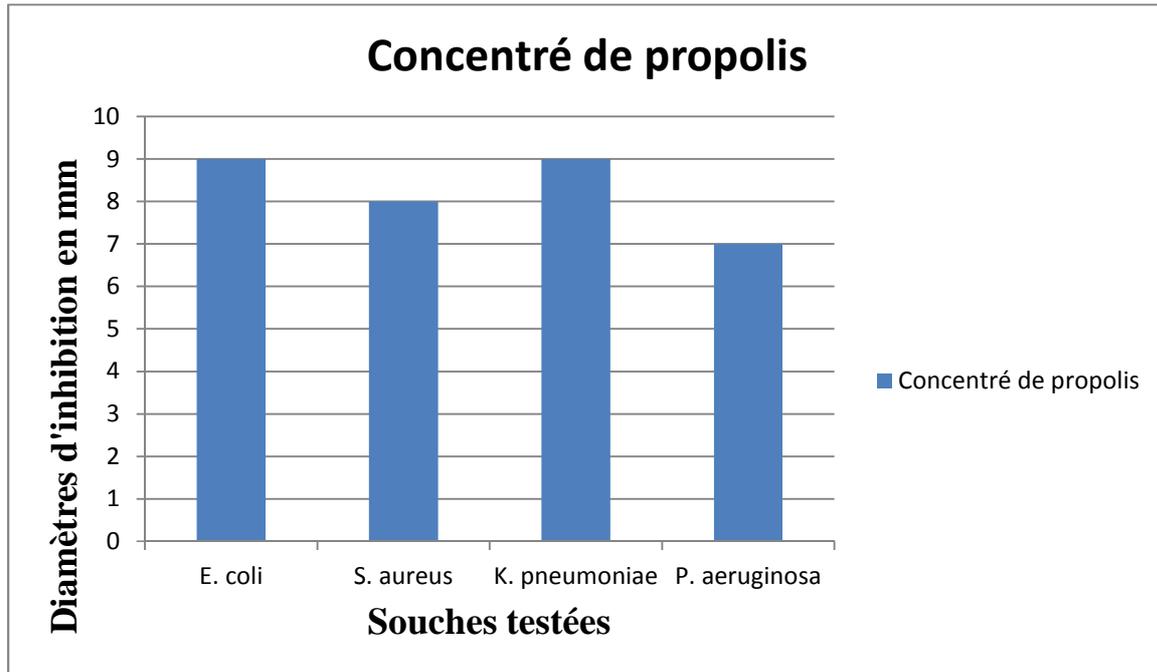


Figure 19 : Diamètres des zones d'inhibition (puits inclus) générés par des puits rempli de concentré de propolis vis-à-vis des souches testées.

1.1.2. Résultats de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) et de la CMB (Concentration Minimale Bactéricide)

Tableau VI : Résultats des CMI et CMB en mg/ ml de sept échantillons

Echantillons	GR		M1+GR		M2+GR		M1		M2		M1+P		M2+P	
	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB	CMI	CMB
<i>S. aureus</i>	256	/	Non identifié		256	256	256	512	256	256	/		256	256
<i>K.pneumoniae</i>	64	64	256	256	128	128	256	256	256	256	256	256	256	256
<i>P.aeruginosa</i>	128	128	512	512	/		256	256	128	64	256	256	256	256
<i>E. coli</i>	256	512	256	256	256	256	256	256	256	256	/		256	256

Discussion

Les résultats obtenus concernant l'activité antibactérienne de nos échantillons testé par la méthode de diffusion sur gélose (disques et puits) en mesurant les diamètres des halots d'inhibition montrent que celle-ci est en fonction du type de miel, les mélanges effectués, de leurs concentrations et de la bactérie cible.

Ces résultats témoignent que la combinaison entre chacun des 2 miels (sain foin et lavande) avec de la propolis en poudre et de la gelée royale augmente l'activité antibactérienne de ces échantillons.

Notre étude a révélé qu'entre les deux miels, avec M1 (Lavande) les diamètres des halos d'inhibition sont légèrement supérieures à ceux du M2 (Sain foin),

On constate que la lavande est plus foncée que le sain foin, selon BOGDANOV et BLUMER (2001) les miels foncés ont une activité inhibitrice plus élevée, dans ce contexte DESCOTTE (2009) dit qu'il faut également prendre en compte la nature des fleurs sur laquelle sont allées butiner les abeilles, car en fonction des espèces florales, les miels auront des essences essentielles différentes, ce qui explique les particularités thérapeutiques de certains miel.

Les 4 souches testées sont sensibles vis-à-vis des échantillons testés, à savoir *Escherichia coli* et *S. aureus* sont les plus inhibées avec des halos variant de 12mm à 40mm et de 10mm à 15mm respectivement. Puis, *Pseudomonas aeruginosa* et *Klbesiella pneumoniae* moyennement sensible avec des halos d'inhibitions variant de 7mm à 12mm et 9mm à 23mm respectivement.

Nos résultats ne sont pas loin des résultats de CHAUHAN *et al.* (2010), qu'ils ont réalisés des travaux « *in vitro* » sur l'utilisation du miel brut et transformé contre six souches bactériennes : *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* par la technique de diffusion sur gélose. Les zones d'inhibition varient de 6,94mm à 37,94mm.

ASSIE. (2004), a révélé que les espèces les plus sensibles étaient : *Streptococcus pyogènes*, *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*. Les autres espèces telles que *Enterococcus faecalis*, *Klbesiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Clostridium tetani* ont présentés une sensibilité à un degré moindre.

L'activité antibactérienne du miel est sujette à controverse. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène.

Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes. Cette solution concentrée de glucides retire, après absorption, l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes (BOGDANOV, 1997). De plus, son degré d'acidité, et la valeur de pH le plus souvent faible inhibe la multiplication des bactéries (TORRES *et al.*, 2004 ; COUQUET, 2013). En outre, le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine du miel (ADCOCK, 1962 ; MANDEL *et al.*, 2011).

KWAKMAN *et al.* (2010), ont démontrés pour la première fois que le miel contient un peptide antimicrobien, défensine-1, qui a été déjà isolée de la gelée royale produite par les jeunes ouvrières. Ce peptide contribue de manière significative à l'activité antibactérienne du miel.

L'interaction complexe d'espèces végétales, physiologie végétale, les conditions de croissance, les variations saisonnières et la physiologie des abeilles rendent difficile de prédire si oui ou non un échantillon de miel donné est susceptible d'avoir une activité antimicrobienne.

Les diamètres obtenus indiquent que les composants actifs de la propolis sont plus solubles dans l'éthanol à 80%. Ces composants sont probablement les flavonoïdes qui sont détectés par analyses chimiques. Ces composants seraient impliqués selon la littérature dans l'effet antibactérien de propolis (KUJUMGIEV et al.1999 ; RHAJAOUI et al.2001....).

Les propolis testées sont faiblement actives sur : *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* et *P. mirabilis*. Les diamètres d'inhibition varient de 10 à 16mm. La propolis est plus active sur ces bactéries. Ces diamètres d'inhibition sont de 14mm pour *P. aeruginosa* et *K. pneumoniae* et de 16mm pour *P. mirabilis* (SEGUENI . 2011).

Nos résultats de mesure des diamètres des zone d'inhibition provoqué par la gelée royale varient de 7 mm à 15 mm, toutes les souches testées présentent une sensibilité qui varie selon la souche, la gelée royale à un effet bactéricide sur *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *K. pneumoniae* respectivement, quant à *P. aeruginosa* est moins sensible avec un effet bactériostatique. On remarque une légère diminution de l'effet antibactérien avec le facteur temps.

Bien que tous les types des gelées royales soient exposés aux activités antibactériennes, les résultats varient en fonction de la période de collecte. Les valeurs de la concentration létales minimales de 2 jours de collecte de la gelée royale ont été les plus efficaces comparées aux deux 1^{ère}s et 3^{ème}s collections, contre le microorganisme testé.

Les résultats actuels sont en général d'accord avec ceux de KRASIKOVA (1955) mentionne que la gelée royale collectée par les larves de 1 à 2 jours avait une action bactéricide contre *Bacillus alvéoles* et *Streptococcus apis*, tandis que les larves collectées après 4 à 5 jours ne l'ont pas, Abd-Alla et al (1995) ont montrés que la gelée royale du 3^{ème} jour de greffage a donné la plus haute activité antibactérienne par rapport à d'autres collections. Ils ont constatés que la plupart des organismes d'essai était *S. aureus* qui est sensible suivie par *B. subtilis* et *E. coli*.

En outre, la même tendance a été remarquée par OWAYSS (1996), lorsqu'il a testé la gelée royale recueillis après une alimentation complémentaire des abeilles mellifères, contre les mêmes micro-organismes.

En revanche, des concentrations élevées ont été enregistrées par ESHRAGHI (2005) a constaté que 143mg/ml de la gelée royale n'a pas inhibé la croissance de *Streptomyces* ou *E. coli*, tandis que chacun des 200, 330 et 1000mg/ml de la gelée royale a inhibé la croissance la des quatre souches testées de *Streptomyces*, *S. aureus* et *E. coli*.

De plus, VERGÉ (1951) a suggéré que le pH de la gelée royale est un facteur important. Le contraire, HELLEU (1956) a conclu que l'acidité n'est pas importante, mais il a indiqué que la gelée royale neutralisée perd sa capacité à inhiber

D'après ces résultats on constate que les valeurs de la CMB sont égales à celles de la CMI. A l'exception du M1 (la lavande) sur *S. aureus* et aussi sur *P. aeruginosa* et sur *E. coli* on remarque bien une différence de valeur dans la gelée royale. La quasi-totalité des CMI obtenus se situent au environ de 256mg/ml de concentration.

CHAUHAN et al. (2010), ont évalué la concentration minimale bactéricide (CMB) par la méthode de dilution du miel est transformé sur des bactéries Gram positif et à Gram négatif. Les bactéries les plus sensibles étaient *Salmonella typhimurium*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Les valeurs de CMI et de CMB ont été trouvées dans la gamme de 0,625 à 5,000mg/ml. Dans le même contexte, FIDALEO et al. (2011) ont trouvé une inhibition complète de *S. aureus* entre 5 et 7,5% (v/v). Alors que, AHMED et al. (2012) ont rapporté des résultats de CMI de l'ordre de 90-91% et de 56 et 96% vis-à-vis *P. aeruginosa* et *E. coli* respectivement.

KWAKMAN et al. (2008) ont étudié l'effet d'un échantillon de miel médical « REVAMIL » vis-à-vis des isolats résistants aux antibiotiques : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Enterococcus faecium*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae* et *Klebsiella oxytoca*. Après 24 heures, toutes les souches ont été tuées avec une concentration comprise entre 10% - 40% (v/v).

Toutes les espèces bactériennes testées sont sensibles à différentes combinaison de facteurs bactéricide dans les échantillons, ce qui indique que ces bactéries ont été tuées par des mécanismes distincts. Cela démontre clairement l'importance de la nature multifactorielle des échantillons pour une activité à large spectre bactéricide.

Dans d'autres situations, l'activité bactéricide dépend de la présence combinée de plusieurs facteurs. Par exemple, le pouvoir bactéricide du miel sur *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* nécessite l'action combinée du peroxyde d'hydrogène et du MGO.

En outre, plusieurs facteurs d'origine végétale contribuent à l'activité antimicrobienne du miel qui sont peut être influencés par les conditions environnementales telles que le climat, l'eau et les nutriments disponibles.

Au vue de l'ensemble des résultats obtenus dans ces études, nous pouvons conclure que de nombreux miels possèdent un large spectre antibactérien. En effet, celui-ci s'étend à la plupart des bactéries à Gram positif et à Gram négatif, qu'elles soient sensibles ou résistantes aux antibiotiques.

L'efficacité des miels à travers les différentes études reste difficile à réaliser, et cette difficulté réside au niveau des paramètres internes et externes incontrôlables.

Les produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale) sont des composés biologiques très complexe, d'une très grande diversité, leurs conférant une multitude de propriétés, aussi bien sur le plan nutritionnel que sur le plan thérapeutique.

Notre travail qui a pour but de déterminer l'effet antibactérien de deux miels ainsi que des mélanges miel+propolis et miel+gelée royale récoltés en ALGERIE, les résultats d'analyse des miels et des mélanges ont manifesté un effet inhibiteur et un autre létal sur les souches testées avec des différences d'un type à un autre.

L'effet bactéricide des produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale) dépend de différents facteurs comme leur composition, leur origine florale et géographique ceci explique les différences constatées durant l'étude.

Le spectre d'activité antibactérien des produits de la ruche est large et semble couvrir en particulier tous les germes mis en causes dans les infections cutanées.

Les produits de la ruche trouvent leur place dans l'arsenal thérapeutique car devant l'émergence des germes résistants aux antibiotiques, ils sont une réponse efficace contre les agents infectieux.

Afin de conserver l'effet antibactérien de l'eau oxygénée, ces produits doivent être stockés dans un récipient opaque et fermé dans un endroit frais et à l'abri de la lumière. En vue de fins curatives, il est recommandé d'utiliser un miel frais et naturel.

La valeur médicinale des produits de la ruche est de plus en plus démontré scientifiquement ce qui constitue d'importance de leur utilisation seuls ou en combinaison en médecine. Ainsi, le secteur de l'industrie pharmaceutique, alimentaire et cosmétique.

Le miel est un aliment médicament pour un meilleur résultat on fait la combinaison de ces différents produits.

Pour les perspectives d'avenir ;

- Déterminer un spectre antibactérien des produits de la ruche pour combattre l'antibiorésistance liée à l'usage des antibiotiques
- Contribuer à des combinaisons entre les produits de la ruche dans la recherche d'optimiser leurs effets
- Favoriser l'utilisation dans le milieu hospitalier
- Encourager l'intégration des produits de la ruche dans notre ration alimentaire

Références bibliographiques

A

ABD-ALLAH Magda, S., Mishref, A. and Ghazi, I.M. (1995). Antimicrobial potency of royal jelly collected from queen cells at different larval ages. *Annals. Agric.Sci., Ain Shams Univ., Cairo*, 40 (2) : 597-608p.

ABDUSALAM, K.S., MOHAMED, M., EL-NAWAWY, M.A. (1989). Effect of propolis on some bacterial species. *Egyptian journal of phytopathology* 21 (1), 61-68p.

ADCOCK D. (1962). The effect of catalase on the inhibine and peroxide values of various honeys. *Journal of Apicultural Research*, 1, 38-40p.

AHMED M., DJEBLI N., MESLEM A., AISSAT S. (2012). Antibacterial activity of various honey types of Algeria against Pathogenic Gram- (Négative) Bacilli: *Ecsherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 211-214p.

ASSIE B., DESCOTTES B. (2004). Le miel comme agent cicatrisant. Thèse d'exercice : Médecine. Toulouse : Toulouse III. 115p.

ATTIPOU. K ; ANOUKOUM. T ; AYTE. A ; MISSOUHOU. K ; JAMES. K (1998). Traitement des plaies au miel. *Texpérience du CHU de Iomé. Médecine d'Afrique noire*, 45(11). 3p.

B

BACHA. H. C ; (2005). Le miel entre le coran et la science. *La revue Al-iaajaz Alilmi* : N°15. 6-11p.

BARNUTIUL. I., MARGHITAS L. AL., DEZ MIREAND. S. et al ; (2011). Antimicrobial compounds of royal jelly. *Bulletin UASVM Animal Science and Biotechnologies*, vol.68, n° 1-2, p. 85-90.

BECHET G., 2002. Les trésors de la ruche. Chapitre 2 : Articles journal le soir, p21-22. France.

BIRI M., 2003. Le grand livre des abeilles : cours d'apiculture moderne. Edition VECCHI. 256p.

BOGDANOV S., MARTIN P., LÜLLMANN C. (1997). Hormonized methods of the European Honey commission. *Apidologie, extra issue*, 1-59p.

BOGDANOV S. & BLUMER P. (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue suisse d'Apiculture*, 98(3), 107-114p.

Références bibliographiques

BOGDANOV S ., 2003. Miel : définition et directives pour l'appréciation et l'analyse. Centre suisse de recherche apicole, 31p.

BOGDANOV S, GALLMANN P, STANGACIU. S; THEODORT CT, (2006): Produits apicoles et santé. ALP Forum. N°41F. 52p.

BOSSI B. (2009). Journal Belty. BOSSI N°01/2009.

BRADBEAR N., 2005. Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), 25p.

BRADBEAR N., (2010). Produits forestiers non ligneux : Le rôle des abeilles dans le développement rural, Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. ISSN 1020-9727.

BRUNEAU. E., 2008. Les miels de chez nous. Revue Abeille & Cire. N°125. 3p.

C

CHAUHAN A., PANDEY V., CHACKO K .M. & KHANOAL R.K. (2010). Antibacterial activity of raw and processed honey. *Electronic journal of biology*, 5 (3), 58-66. ISSN 1860-3122.

CHERBULIEZ T., 2001. L'apithérapie. CD-ROM.

CLEMENCE H. (2005). Le miel de la source à la thérapeutique, université Henri Poincaré (Nancy), 35-42-44-p.

COUQUET Y. (2013). Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel.

COOPER R. (2007). Honey in wound care antibacterial properties. *GMS Kranken hans-shygiene Interdisziplinär*, vol.2. N° 2. DOC 51.

D

DARRIGOL, JEAN-LUC. (1979). Le miel pour votre santé, St-jean-de-Braye (France), Edition Dangles, 140p.

DESCOTTES B. (2009). Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 années. *Phytothérapie*, 2 (7), 112-116.

Références bibliographiques

DILNAWAZ S., SHAMSU. Z., BAQIR NAQUI S., RAFIS .M. & GHULMAN A . (1995). Studies on the antimicrobial activity of honey. Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences Vol. 8(1), p. 51- 62.

DIMITROVA B., GEVRENOVA R., ANKLAM E. (2007). Analysis of phenolic acids in honeys of different floral origin by solid-phase extraction and high-performance liquid chromatography. Phytochemical analysis, vol.18; n°1, p.24-32.

DOMEREGO, ROOH *et al.* (2007). Les remèdes de la ruche, Monaco, Alpen Editions, 96p.

DONADIEU. Y., (2004 b). Le miel. Thérapeutique naturelle. Edition MALOINE, Paris, 37p.

DRAGO.L., MOMBELLI, B.D.E., VACCHI, E., FASSINA, M., TOCALLI, L., GISMONDO, M.R. (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract.J Chemother 12 (5), 390-5p.

E

EFEM S. E.E. (1988). Clinical observations on the wound healing properties of honey. British Journal of Surgery; 75, 679-681.

EMARAH M.H. (1982). A clinical study of the tropical use of bee honey in the treatment of some ocular diseases. Bull. Islamic Med, 2 (5), 422-5.

ESHRAHGI (2005). An evaluation of the potent inhibitory effects of royal jelly fractions against streptomyces bacteria. Pak.J.Med.Sci., 21 (1), 63-68p.

F

FIDALEO M ., ZUORRO A . & LAVECCHIA R. (2011). Antimicrobial activity of some Italian Honeys against pathogenic Bacteria. *Via Eudossiana*, 18, 00184 Roma (Italy), 6p.

FONTANA R. , MENDES M.A, MONSON DE SOUZA B. *et al.* (2004). Jelleines a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honey bees (*Apis mellifera*). Peptides, vol. 25, n°6, p.919-928;

FOURNIER., ROBERT, (2009). ABC de l'apithérapie, Paris, Edition Grander, 104p.

Références bibliographiques

FRANÇOISE S. (2014). La propolis : Définition, récolte, propriété et utilisation. Tournefeuille. Propotolouse 1214.

G

GOUT J., JARDEL C., 1998. Microbiologie alimentaire. 2^{ème} édition DUNOD. Paris, 384p.

H

HAKIM H. (2000). La prévention du cancer par l'alimentation et le rôle des produits de la ruche : Apithérapie. La science de l'abeille pour l'énergie et le bien-être. N°070QG79436, 32-33p.

HAMOUDA H.M., MARZOUK D.S. 2011. Antibacterial activity of Egyptian honey from different sources. International journal of microbiological research, vol.2, n°2; p.149-155.

HELLEU E. (1956). Contribution à l'étude des propriétés anti-bactériennes de la gelée royale : Effect bactericides et antibiotiques de la gelée royale neutralisée. Ann Inst. Pasteur, 91 (2), 231-237p.

HUCHET E, COUSTEL J, GUINOT L, (1996). Les constituants chimiques du miel. Méthode d'analyse chimique. Département de science et l'aliment. Ecole Nationale Supérieure des Industries et Alimentaire. France. 16p.

HOYET C. (2005). Le miel : de la source à la thérapeutique. Université Henri Poincaré-Nancy 1, faculté de pharmacie.106p.

I

IRISH J., BLAIR S. & CARTE D.A. (2011). The Antibacterial Activity of Honey. *Australian Flora*, 6(3) p.

IRLANDE D. (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques utilisation dans les plaies cutanées. 6p.

J

JEAN-LUC DORRIGOL., 2007. Apithérapie, Miel, Pollen, Propolis, Gelée royale, Editions Dangles. France. 32-33-34-36-117-193p.

Références bibliographiques

JEFEREY. AE ; ECHAZA RRETA. (1996). Uses médical of honey. Medecin and honey. Revue. Loimed. Volume 7. N°3. 39-49p.

JEFFEREY E, and ECHAZA RRETA M. (1996). Medical uses of honey. Facultad de medicina veterinaria y zootécnica, universidad autonoma de yacutàn, Merida, Yucatàn, Mexico.

JONES R.(2001). Honey and healing through the ages. In Honey and Healing (MONN P. and JONES R., Eds.). International Bee Research Association: Cardiff, UK., 1-4p.

K

KESKIN N., SELC U.K., HAZIN., HÜSNÜCAN BOSER K., MINE KÜRKC UOGLU. (2001). Antibacterial and chemical composition of Turkish propolis, Z Naturforsch 56c, 1112-1115p.

KOO H., GOMES B.F.A., ROSALEN P.L., AMBERASANO G.M.B., PARCK Y.K., CURY J.A. (2000). In vitro antimicrobial activity on propolis and Arnica-montana against oral pathogens. Arsh Oral Biol, 45 (2), 141-148p.

KUJUMGIEV A., TSVETKOVA L., SERKEDJIEVA Y., BONKOVA V.S., CHRISTOV R., POPOV S. (1999). Antimicrobial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographie origin, J. Ethropharmacol 64 (3), 235-40p.

KWAKMAN P.H.S. , JONANNES P.C. VAN DEN AKKER. GÜ□LÜ A. , ASLAMI H. , JAN M. BINNEKADE, DE BOER L. , BOSZHARD L., PAULUS F. , MIDDELAOEK P. , ANJE A. TE VELDE, VANDENBROUCKE-GRAULS C.M.J.E. , SCHULTZ M.J. , & ZAAT S.A.J. (2008). Medical-Grade Honey Kills Antibiotic-Resistant Bacteria In-vitro and Eradicates Skin Colonization. *Clin Infect Dis*, 46 (11).

KWAKMAN P.H. S; TE VELDEA. A; DE BOER L. et al. (2010). How honey killes bacteria. FASEB journal, vol 24, N°7, 2576-2582p.

KWAKMAN P. H. S. and ZAAT S; A. J. (2012). Antibacterial components of honey. IUBMB life, 1 (64), 48-55p.

L

LAURENT O. (2005). Les bienfaits du miel, Paris, Editions de VECCHI S. A, 101p.

Références bibliographiques

LOBREAU C, MARMION V, CLEMENT M-C. (1999). Les miels. In « Techniques de l'ingénieur ». 1-20p.

LEQUET L. (2010). Du nectar à un miel de qualité : Contrôle analytique du miel et conseils pratiques à l'intention de l'apiculteur amateur. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon, France.

M

MATEESCU C. (2001). Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles. Directrice de Recherche en Apithérapie, Institut de Recherche Apicole. Bucarest-Roumanie.

MOLAN P.C. (1992). The antibacterial activity of honey, variation in the potency of the antibacterial activity. *Bee world*, 73, 59-76 p.

MOLAN P. C. (1998). A brief review of the use of honey as a clinical dressing. *Aust j wounes Manager*, (6), 148-158p.

MOLAN P. C. (2001). Why honey is effective as a medicine: its use in modern medicine. In *Honey and Healing*. (MONN, P., AND JONES, R, EDS.), International Bee Research Association, Cardiff, UK., 5-14p.

MOLAN P. C. (2009). The antibacterial activity of honey: The nature of the antibacterial activity. Private Bag 3105, 5-28p.

N

NDAYISABA G; BAZIRA L; HABONIMANA E. (1992). Evolution Clinique et bactériologique des plaies traitées par le miel. Analyse d'une série de 40 cas. *Médecine d'Afrique noire*. 3p.

NICOLAÛ Jean. (2014/2015). Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine. Université d'Angers, 73p.

NOLWENN EON. (2011). De la fleur à l'abeille, de l'abeille au miel, du miel à l'homme : Miel et autres produits de la ruche, Université de NANTES faculté de pharmacie, (72-97)-(106-107)-(111-116) p.

O

Références bibliographiques

OLAITAN P. B., ADELEKE O. E., OLA L. O. (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *After Health Sci*; vol.7; N°3, 159-165p.

OWAYSS, A.A. (1996). The effect of supplementary Feeding of honey bees, *Apis mellifera* L., on brood, honey and royal jelly. M.Sc. Thesis, Fac. Agric. Fayoum, Cairo Univ., 83-85p.

P

PERRETIN V.F., SHWARTZ L., CRISTA M., BOEGILIN G., DASEN, & M.TEUBER. (1997). Antibiotic résistance spread in food, *Nature*. 389 ; 801-802p.

PHILIPPE J.M. (1999). Le guide de l'apiculture. SARL EDITION SUD. 347p.

PHILIPPE J.M. (2007). Le guide de l'apiculture. Edition EDISUD. 319p.

POIROT B. (2013). L'apithérapie médecine moderne.23p.

PROST J.P. (2005). Apiculture, connaître l'abeille, conduit du rucher.7^{ème} edition. Paris, 689p.

R

RAVAZZI G. (2003). Abeilles et apiculture, Editions de VECCHI S.A. 52, rue Mont martre 75002 Paris. 111p.

RAVAZZI G. (2003). Abeille et apiculture. Edition de VECCHI. 159p.

RHAJAOUI M., OUMZIL H., FAID M., LYNGOUBI M., ELYACHIOUI M. (2001). Antibacterial activity of a Moroccan propolis extracts. *Sciences letters* 3 (3), 201-207p.

ROSSANT A. (2011). Le miel : un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de doctorat, Université de Limoges. France.

ROSSANT A ; DESMOULIERE A. (2011). Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes, Thèse de doctorat, université de limoges. France. 132p.

S

SAINT-LAGER J. (1871). La colonisation de Kabylie par l'immigration. Edition Librairie-editeur.

Références bibliographiques

SALOMON D; BAROUTI N; CHANTAL ROSSET C. & WHYNDHAM-WHITE C. (2010). Le miel: de Noé aux soins des plaies, Revue, Revue médicale Suisse ; 6, 871-874p.

SCHWEITZER PAUL. (2004). Pouvez-vous me faire une analyse pour savoir si ce miel de qualité.

SEGUENI NARIMANE. (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis, Université Mentouri de Constantine, 127p.

SHERLOCK O., DOLAN A., RAHMA ATHMAN., POWER A., GETHIN G., COWMAN S. &, HUMPHREYS H. (2010). Cmpparison of the antimicrobial activity of Ulmo honey from chile and Manuka honey against methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas aeruginosa*. BMC complementary and Alternative Medecine, 5, 1472-6882 p.

T

TETART G. (2004). « Diététique naturelle et santé parfaite ». Les produits apicoles. XVII^{ème} congrès de l' AISLF. CR17 « Sociologie et anthropologie de l'alimentation », 9p.

TORRES VAZQUEZ A., FANG F.C. (2001). *Salmonella* evasion on the nadph phagocyte oxidase. Microbes infect. 3,1313-132010.1016/S, 1286-4579, (1), 01492-7.

V

VERGÉ J. (1951). L'activité antibactérienne de la propolis, du miel et de la gelée royale. Apiculteur, 95 (6) : Sect. Sci, 13-20p.

Webographie

www.bee-hexagon.net. BOGDANOV S. (2012b). Miel en médecine. Bee produit des sciences.

Bee Product Science, www.bee-hexagon.net April 2015, p6. Propolis: composition, health, medicine: A review Stefan BOGDANOV.

BOGDANOV S. Royal jelly, bee brood: composition, health, medicine: a review [en ligne]. 2011. Disponible sur : <[http://www.beehexagon.net/files/file/file E/Health/R J Book Review.pdf](http://www.beehexagon.net/files/file/file%20E/Health/R%20J%20Book%20Review.pdf)>. Consulté le 27.11.2011.

Références bibliographiques

www.Angelfire.com : MONZUR A. (2002): Bees and the hidden miracles of honey. Muslim technologist.

www.Developpementdurable.com./.../2009/.../le-miel-et-les-miracles-d. TOUTCHKOV H. (2009). Le miel et les miracles de l'apithérapie, développement durable.

Fr.wikipedia.org/wiki/apiculture. Définition de l'apiculture. **ANONYME 1**

www.apia.com .tn/pdf/miel.pdf : L'élevage Apicole-Apia. **ANONYME 2**

www.info soir.com /actualité/5381-ils-veulent-exporter-le-miel-algerien-le-plaidoyer-des-apiculteurs.html. **ANONYME 3**

alger-rri.fr/Alger/documents_Algeriens/economique/pages/127_moderisation_apiculture.htm. **ANONYME 4.**

www.melibiotech.com /physicochimie-miel_9.html. MELIBIOTECH l'expert du miel médical. Le miel de revamil. **ANONYME 5.**

Lameillerie.net/propo.php : La propolis : Origine de la propolis. **ANONYME 6.**

www.alterafrica.com/propolis.htm: Produits exotiques, bio & équitable. **ANONYME 7.**

<File:///E:/La> propolis vertus de la propolis, propriétés de la propolis – Ruchers de Lorraine.htm. **ANONYME 8.**

Références bibliographiques

Annexes

Annexe I : composition des milieux de culture utilisés (g/l)

- **Gélose nutritive (GN)**

Peptone.....	10g
Extrait de viande.....	3g
Extrait de levure.....	3g
Chlorure de sodium.....	5g
Agar.....	18g

pH=7,2±0,2

Stérilisation à 120°C/15mn

- **Gélose de Mueller Hinton (MH)**

Extrait de viande.....	3g
Hydrolysate acide de caséines.....	17,5g
Agar.....	18g

pH=7,4

Stérilisation à 121°C/15mn

Après refroidissement, 5ml de l'additif Hecktoen sont rajoutés au 225 de la gélose Hecktoen

Milieux liquides

- **Brain Heart Infusion Broth (BHIB)**

Protéose-peptone.....	10g
Infusion de cervelle de veau.....	12,5g
Infusion de cœur de bœuf	5g
Chlorure de sodium.....	5g
Phosphate disodique.....	2,5g
Glucose.....	2g
Eau distillée.....	1000ml

pH=7,4

Stérilisation à 121°C/15mn

- **Eau physiologique stérile**

Chlorure de sodium (NaCl).....9g

Eau distillée.....1000ml

pH=7

Stérilisation à 121°C/15mn

Propolis brute

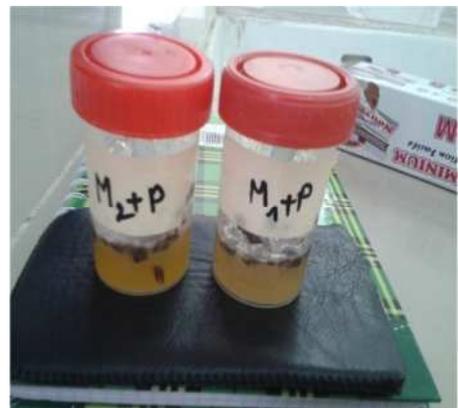


Gelée royale



Miels (sain foin et la lavande)

**Pour le mélange miel+propolis on prend 1g
de propolis pour 20g de miel**



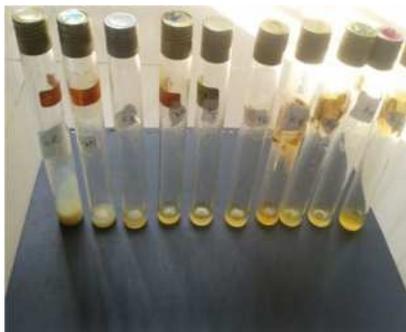
Pour le mélange miel+gelée royale on 0,5g de gelée royale pour 10g de miel



Annexe II : Figures des résultats de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) sur les souches testées



Figure 1 : Résultats de la CMI des échantillons témoins vis-à-vis *K.pneumoniae* et *S.aureus*



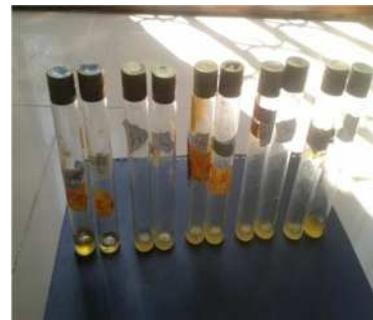
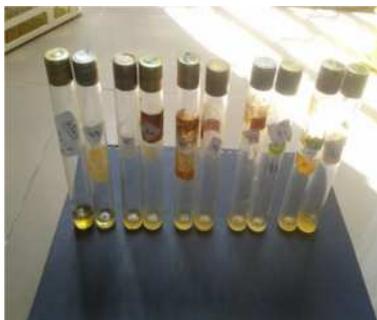
**Figure 2 : Résultats de la CMI de la gelée royale
Vis-à-vis *K.pneumoniae***

**Figure 3 : Résultats de la CMI de M1+GR
vis-à-vis *K.pneumoniae***



**Figure 4 : Résultats de la CMI du M2+GR
vis-à-vis *K. pneumoniae***

**Figure 5 : Résultats de la CMI du M1+P
vis-à-vis *K. pneumoniae***



**Figure 6 : Résultats de la CMI
du M2
vis-à-vis *S. aureus***

**Figure 7 : Résultats de la CMI
du M2
vis-à-vis *k.pneumoniae***

**Figure 8 : Résultats de la CMI
du M2+P
vis-à-vis *S.aureus***



Figure 9 : Résultats de la CMI des échantillons témoins vis-à-vis *P. aeruginosa* et *E. coli*



Figure 10 : Résultats de la CMI du M1 vis-à-vis *P. aeruginosa*

Figure11 : Résultats de la CMI du M2 vis-à-vis *P. aeruginosa*

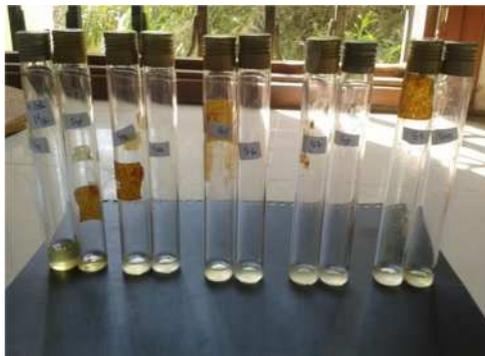


Figure 12 : Résultats de la CMI du M2 vis-à-vis *E. coli*

Figure 13 : Résultats de la CMI du M2+P vis-à-vis *E. coli*



Figure 14 : Résultats de la CMI de la gelée royale vis-à-vis *E. coli*

Figure 15 : Résultats de la CMI M2+G vis-à-vis *E. coli*

Annexe III : Résultats de la CMB (Concentration Minimale Bactéricide)

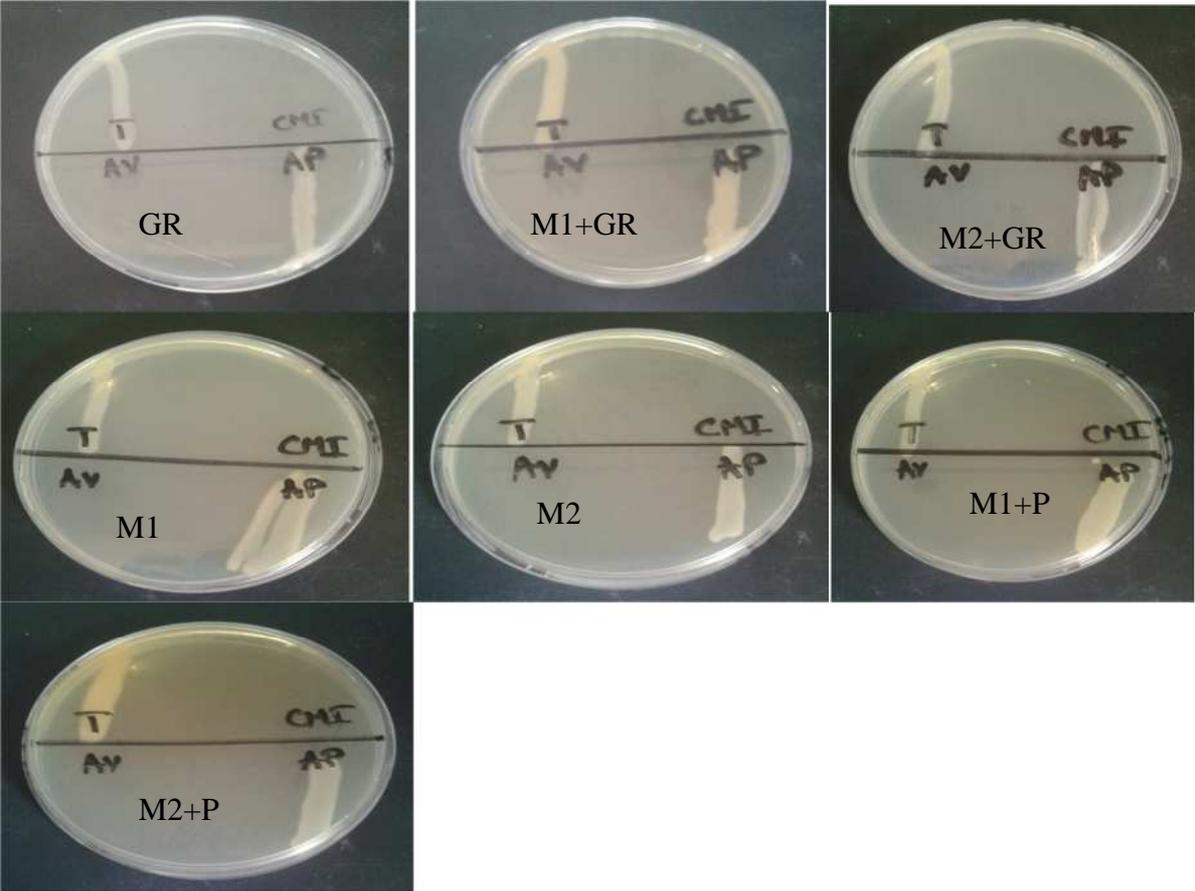


Figure 16 : Résultats des CMB de sept échantillons vis-à-vis *K. pneumoniae*.

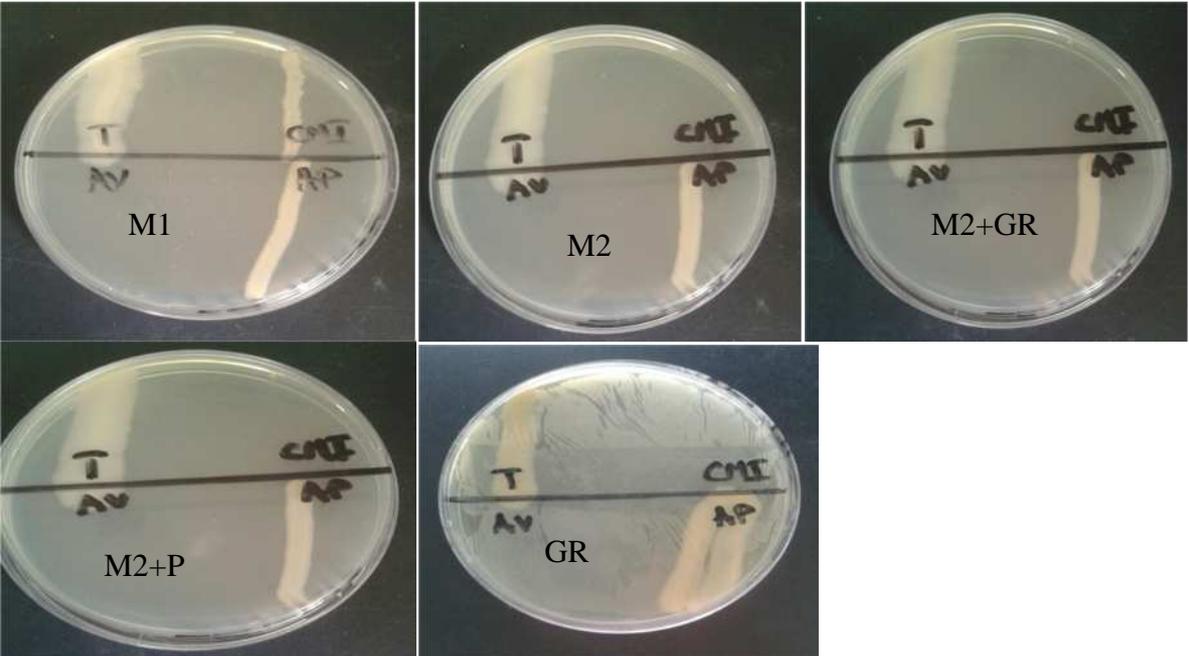


Figure 17 : Résultats de la CMB de sept échantillons vis-à-vis *S. aureus*.

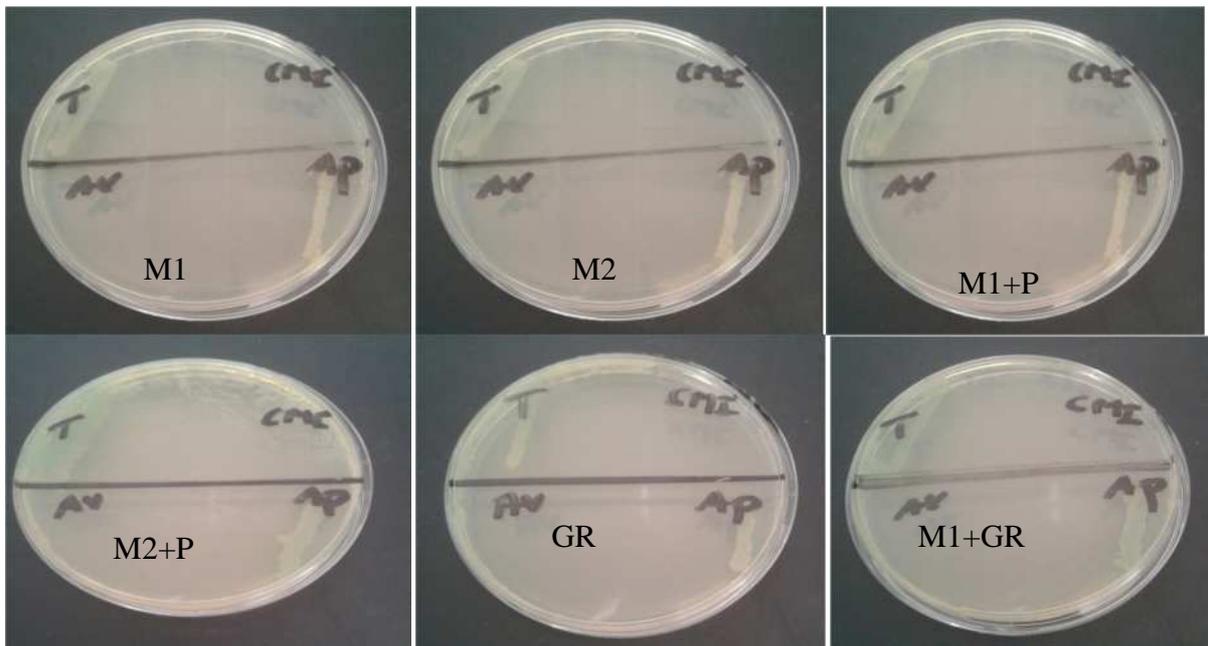


Figure 18 : Résultats de la CMB de sept échantillons vis-à-vis *P. aeruginosa*.

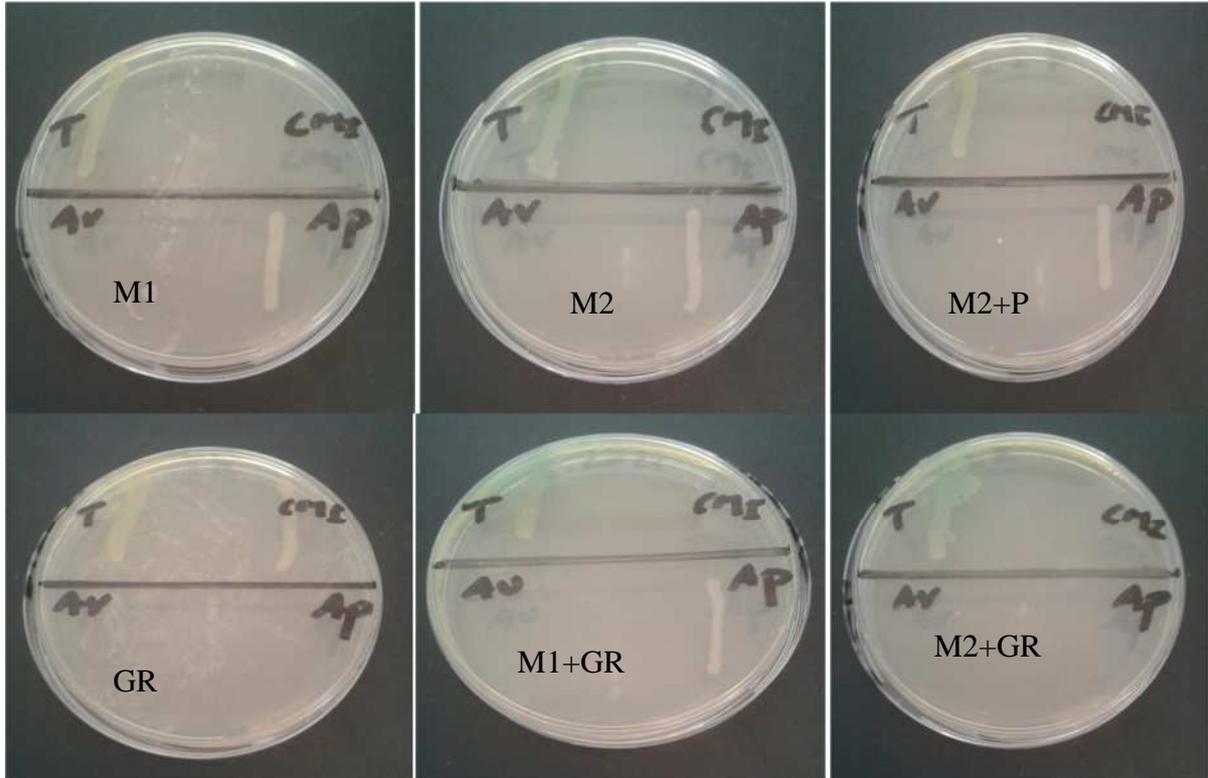


Figure 19 : Résultats de la CMB de sept échantillons vis-à-vis *E. coli*.