République Algérienne Démocratique et Populaire

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

Université -YAHIA FARES - MEDEA

Faculté des Sciences

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Spécialité Microbiologie appliquée

Mémoire de Fin de Cycle

En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

Etude de l'activité antibactérienne de quelques produits de la ruche

Présenté par :

Moulai mostefa Nafissa & Chikhaoui Ahlam & Melikaoui Samiha

Devant le jury composé de :

-Mme ZERGOUG. A	**MCB**	**Promotrice**
-Mme BOUMEDIENE. F	**MCB**	**Président**
-Mr AINAS. M	**MCB**	**Examinateur**

Année universitaire : 2021 / 2022



Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidé à être ce que nous sommes et qui nous ont entouré avec tant d'amour et d'affection.

Nous tenons à exprimer toute notre gratitude envers notre promoteur Dr Zergoug Amina , pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien. Il a toujours été à l'écoute et disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.

Nos profonds remerciements s'adressent à Mme Boumediene. F pour l'honneur qu'il nous a fait de présider ce jury.

Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à Mr Ainas. M d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et

d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa

présence dans ce jury.



Dédicaces

Je dédie ce modeste travail:

A mes très cher parents, pour leurs sacrifices durant touts ces années d'études

A mon mari A mes frères et mes sœurs A mes beaux parents

A toute ma famille

A mes binômes Ahlam et Samiha et leurs familles

A tout mes amis A tous ce qui mont aider de près et de loin

A tous ceux qui me sont chers

Nafissa



Je dédié ce travail à:

A la mémoire de mes grands parents qui n 'ont pas pu partager avec moi cet instant de bonheur et de joie que dieu les bénissent

Merci a mes parents. Pour l 'exemple qu 'ils m 'ont donné et me donnent et surtout pour m 'avoir fait canfiance pendant ces années d 'études, malgré quelques frayeurs le but est Atteint!

A ma chére grand mère «saadia» je la souhaite une longue vie

A mon partenaire de vie «Tarek Alloti»

Mes chères frères «Sofiane», «Ishak», «ayoub», «meriem»

Mes tantes mes oncles ma tante mes cousin mes cousine

Mes chères amies amis merci a «wiaam melikaoui» un binôme rêve, souvent patiente, Toujours disponible. A ma chère «Maissa kouissmi» mon ami d 'enfance

Mes chères amis «wiaam ferrahi» «Farida Azouni» «nawal» «Yassmin Amri» A tout la promotion microbiologie appliqué

Ahlam



Je

Remercie tout D'abord Dieu de m'avoir accordé des connaissance de la science et de m'avoir aidé à réaliser ce travail .

Je dédie ce modeste travail de fin d'etudes :

- A mes parents Qui m'ont soutenu durants ce long trajet d'etudes car toute reussite dans ma vie est grâca à leur s'acrifice leur encouragement , leur amour et leur soutien merci infiniment …

- A celui qui j'aime beaucoupe et qui ma soutennue toute au long de ce projet mon marie " Hamza Djebara " et ma belle mére .

- A mes chéres soeurs : Nabila , Ghania, djamila , Malake pour leur conseil je vous remercie d'etre toujour à mes cotés

-A mes fréres : " Idriss , omar "

- A leur maris respectif " Nassime , Ben hawa , samir " ceux qui consederis comme mes fréres que dieu vous bénisse

- A ma meilleur Amis " Ahlem chikhaoui " qui n'a pas cessé de me conseiller Encouragement et soutenir tout au long ma vie

- A mon d'amis d'enfance "maissa " et mes amis : Aicha , nabila ,wiame ,farida

Samiha "wima "

Liste des figures :

Figure 1 : miel 2

Figure2: Composition générale du miel 3

Figure 3 : Différents types d'activités biologiques des produits du miel 5

Figure 4: Composition générale de la gelée royale 8

Figure 5 : Différents types d'activités biologiques de la gelée royale 9

Figure 6: Composition chimique de la propolis 12

Figure 7 : Les activités biologiques de la propolis 13

Figure8: Echantillons des produits de la ruche analysés 19

Figure 9: lecture des résultats d'antibiogramme 22

Figure 10: Teste catalase (échantillon) 28

Figure 11: coloration de gram de quelque bactérie 29

Figure 12: Les résultats d'antibiotiques testés vis-à-vis les souches bactériennes (gram +) 30

Figure 13: Les résultats d'antibiotiques testés vis-à-vis les souches bactériennes (gram -) 30

Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes (gram+) 31

Figure 15 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes (gram-) 32

Figure 16: dilution des échantillons de miel 33

Figure 17: préparation des échantillons de miel 33

Figure 18: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées(échantillon 1) 34

Figure 19: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées(échantillon 2) 35

Figure 20: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées(échantillon 3) 36

Figure 21: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits éthanoliques 40

Figure 22: activité antibactérienne (miel, propolis ,gelée royale) sur les bacteries (*Pseudomonas ;Staphylococcus aureus ;Proteus*) 40

Figure 23: Diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis les souches bactériennes testées 41

Figure 24 : les résultats du test de l'activité bactéricide ou bactériostatique 43

Figure 25: la gamme de dilutions 45

Figure 26 : La microplaque 45

Liste des tableaux

Tableau I : Activité antibactérienne du miel contre les bactéries causant une infection potentiellement mortelle pour l'homme 16

Tableau II: Effets de la propolis contre les micro-organismes pathogènes et virus d'après. 18

Tableau III: Description des échantillons collectés 19

Tableau IV: Préparation des concentrations des miels 23

Tableau V : Teste catalase 28

Tableau VI: caractéristiques des bactéries 29

Tableau VII : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion1) 34

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion2) 35

Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion3) 36

Tableau X : Résultats de spectrophotométrie des échantillons de miel 37

Tableau XI : Taux d'extraction et Rendement (%) obtenues 39

Tableau XII : Résultats de synergie (extrait1) 42

Tableau XIII : Résultats de synergie (extrait 2) 42

Tableau XIV : concentration minimale inhibitrice (miel 3 ;Propolis ;Gelée royale) 44

Tableau XV : Les résultats obtenus par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP). 46



Liste des abréviations

GR : gelée royale.

Gram + : gram positive.

Gram - : gram négative.

MH : Mueller-Hinton.

MCF : mac Ferland.

Mm : millimètre.

Ml : millilitre.

µl : microlitre.

Min : minute.

H : heure.

% : pourcentage.

UFC : unité formant colonie.

CMI : concentration minimale d'inhibition.

DO : densité optiques.

DOT : densité optiques témoin.

CLSI : clinical & laboratory standards.

EUCAST :european committee on antimicrobial susceptibility testing .

Miel 1 : miel de jujubier (sidr).

Miel 2 : miel de montagne.

Miel 3 : miel d'euphorbe.

DMSO : diméthylsulfoxyde.

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Résumé

Introduction 1

Synthèse bibliographique

I. Généralités sur les produits de la ruche **2**

I.1. Le miel 2

I .1.1 Définition 2

I .1.2 Origine 2

I .1.3 Composition 3

I.1.4 Propriétés 3

I.1.5 Caractéristiques 5

I.1.6 Posologie 6

I.2. La gelée royale 7

I .2.1 Définition 7

I .2.2 Origine 7

I .2.3 Composition 7

I.2.4 Propriétés 8

I.2.5 Caractéristiques 9

I.2.6 Posologie 10

I.3. Le propolis 11

I .3.1 Définition 11

I .3.2 Origine 11

I .2.3 Composition 12

I.2.4 Propriétés 12

I. 3.5 Caractéristiques 14

I. 3.6 Posologie 14

II. Activité anti bactérienne de chaque produits **15**

II.1 Miel 15

II.2 Gelée royal 16

II.3 Propolis 17

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes **19**

I.1.Origine des échantillons 19

I .2 Evaluation de l'activité antibactérienne 20

I.2.1 Les microorganismes testés 20

I.2.2 Revification de souches 20

I.2.3 Les testes de confirmation 20

I.2.3.1 Teste de catalase 20

I.2.3.2 Coloration de gram 21

I.2.4 Préparation des suspensions bactériennes 21

I.2.5 Conservation des souches 21

I.3 Antibiogramme 21

I.3.1 les antibiotiques 22

II Préparation des échantillons du miel **22**

II.1 Méthode des puits de diffusion 23

II.2 Méthode de spectrophotométrie 23

III Extraction des composes phénolique **24**

III .1 Rendement d'extraction des composés phénoliques 24

III .2 Dosage des polyphénols totaux 24

IV Aromatogramme **25**

IV .1 Lecture des aromatogrammes 25

V Étude de la synergie entre extrait de miel et antibiotiques de miel/propolis, miel/gelée royale, propolis/gelée royale **25**

VII Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique **26**

VIII Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) **26**

IX Activité antibiofilm **27**

Résultat et discussion

I. Evaluation de l'activité antibactérienne **28**

I.1 Les testes de confirmation 28
I.1.1 Teste de catalase 28
I.1.2 Coloration de gram 29
I.1.3 Antibiogramme 30

II. préparation des échantillons de miel **33**

II.1 Méthode des puits de diffusion 33
Echantillon 1(miel d'euphorbe) 34
Echantillon 2(miel de montagne) 35
Echantillon 3(miel de jujubier) 36
II.2 Méthode de spectrophotométrie 37

III Extraction des composes phénolique **39**
III .1 Rendement d'extraction des composés phénoliques 39
III .2 Dosage des polyphénols totaux 39

IV Aromatogramme **40**
IV .1 Lecture des aromatogrammes 40

V Étude de la synergie entre extrait de miel et antibiotiques , miel/propolis miel/gelée royale, propolis/gelée royale **41**

VII Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique **43**

VIII Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice) **44**

IX Activité antibiofilm **45**

Conclusion et perspectives **47**

Références bibliographiques **49**

Annexes **56**

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 3miels (Jujubier (sidr) ; de Montagne ; d'Euphorbe), la propolis et la gelée royale, récolté A la région de Médéa, ainsi que leurs mélanges, vis-à-vis quelques souches bactériennes de différentes gram.

L'approche expérimentale est basée sur l'évaluation de ce pouvoir antibactérien à travers des différentes techniques conventionnelle.

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.

La méthode des puits par diffusion montre que les trois miels ont un effet antibactirienne sur certain bactérie a gram positif et a gram négatif et la lecture des aromatogramme démontrer que tout les échantillions ont un effet inhibitrice ,et aussi tout les échantillions ont un effet bactéricide vis-à-vis les souches testées .

Mots clés : propolis ; gelée royale ; miels ; antibiotique ; sensibilité bactérienne.

Abstract

Honey, royal jelly and propolis are bee products containing several natural antibiotic substances.

This work is a contribution to the evaluation of the antibacterial effect of 3 honeys (Jujube (sidr); Mountain; Euphorbia), propolis and royal jelly, harvested in the Médéa region, as well as their mixtures, against a few bacterial strains of different gram.

The experimental approach is based on the evaluation of this antibacterial power through different conventional techniques.

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

The method of wells by diffusion shows that the three honeys have an antibacterial effect on certain gram-positive and gram-negative bacteria and the reading of the aromatograms demonstrate that all the samples have an inhibitory effect, and also all the samples have a bactericidal effect against to the strains tested.

Keywords: propolis; Royal jelly ; honeys; antibiotic; bacterial sensitivity.

ملخص

العسل وغذاء ملكات النحل والكعبر من منتجات النحل التي تحتوي على العديد من المضادات الحيوية الطبيعية. A
هذا العمل هو مساهمة في تقييم التأثير المضاد للبكتيريا لثلاث أنواع من العسل (عناب (سدر)؛ جبلي؛ اللباينة) ، الكعبر وغذاء ملكات النحل ، التي تم جمعها من ولاية المدية ، بالإضافة إلى خلطهم مع بعض ، ضد عدد من السلالات البكتيرية المختلفة .

يعتمد المنهج التجريبي المتبع في هذا العمل على تقييم القوة المضادة للبكتيريا من خلال تجارب مختلفة. أظهرت النتائج التي تم الحصول عليها بوضوح تأثير هذه المنتجات على حساسية البكتيريا، وقد لوحظ هذا التأثير المثبط لمعظم العينات المختبرة مع اختلاف معين من عينة إلى أخرى ومن سلالة إلى أخرى.

توضح طريقة الآبار عن طريق الانتشار أن العسل بأنواعه الثلاثة له تأثير مضاد للجراثيم على بعض البكتيريا موجبة الجرام وسالبة الجرام، وتوضح قراءة مخطط الأروماتوجرام أن جميع العينات لها تأثير مثبط، كما أن جميع العينات لها تأثير مبيد للجراثيم. مقابل السلالات المختبرة.

الكلمات الرئيسية: دنج. غذاء ملكات النحل؛ العسل ;مضاد حيوي؛ حساسية جرثومية.

Introduction

La pollinisation par les abeilles est d'une importance capitale. Grâce à elles, nous pouvons consommer des aliments riches en vitamines et profiter des fleurs. Sans les abeilles, notre monde serait moins varié et moins coloré. Les abeilles contribuent de manière essentielle à notre qualité de vie.

« si l'abeille disparaissait de la surface du globe, l'homme n'aurait plus que quatre années à vivre » Albert Einstein.

De l'Antiquité à la commercialisation du sucre de canne, et du sucre de betterave en particulier, le miel était très consommé pour son pouvoir sucrant ; il était également employé pour ses propriétés thérapeutiques. En fait, il est toujours utilisé dans l'alimentation et la diététique, et uniquement comme remède populaire. Les produits de la ruche : pollen, propolis, gelée royale, introduits depuis quelques décennies dans les rendez-vous diététiques témoignent d'un grand engouement commercial ; la cire d'abeille était excipient dans les soins de beauté. (***Claude Viel, 2003***).d'ou la nécessité de faire connaitre l'importance de ces produits dérivés de la ruche.

Les chercheurs scientifiques ont démontré les multiples vertus des produits de la ruche: antibactériennes, antifongiques, antivirales,... à l'heure où la médecine moderne se trouve confrontée à divers problèmes (résistances aux antibiotiques, augmentation des dépenses de santé...). Toutefois ces recherches restent encore peu nombreuses ou incomplètes (***Boukraa, 2008***).

Dans cette optique notre travail fixe pour principal objectif l'étude In vitro de l'effet antibactérien de trois 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 détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique ainsi que la l'étude de la synergie entre les extraits éthanoliquesde nos produits, vis-à-vis de dix souches bactériennes.

I. Généralités sur les produits de la ruche

I.1. Le miel

I .1.1 Définition :

Le miel est un assemblage complexe, fruit de l'interaction entre les fleurs butinées, le sol et les systèmes métaboliques liés à la singularité génétique des abeilles. Ce mélange de sucres, de composés phénoliques, de vitamines, d'acides aminés, d'oligoéléments et de molécules spécifiques peut lui conférer des activités biologiques particulières ***(Bonté & Desmoulière, 2013)..***

Le miel est le seul produit au monde qui soit consommé par l'homme et fabriqué par l'insecte ; de couleurs et de saveurs variées, paré de mille vertus, il parvient sur notre table telle que les infatigables ouvrières l'ont élaboré, en prélevant les ressources dans leur environnement sans ajout ni transformation naturel et authentique (***Clement.2009***) .



Figure 1 : miel (***clément, 2009***).

I .1.2 Origine :

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

cire. Le miel engrangé dans les hausses de la ruche pourra alors être récolté par un apiculteur, tandis que les abeilles conserveront leurs réserves pour passer l'hiver(***Cavelier .2013***)

I .1.3 Composition :

la composition du miel varie selon son origine végétale et conditions climatique au moment de la production du miel .Une analyse de 490 échantillons de miel américains a donné une moyenne de 69 ,5% de fructose glucose ; 8,8% d'autre sucre ;17,2% d'eau et de petites quantités d'acides libres, de lactone , de cendre et d'azote .le miel est hygroscopique peut absorber de l'eau s'il est exposé à l'air avec une humidité relative supérieure à 60% la couleur du miel frais varie selon la source végétale et les miels deviennent plus foncés pendent le stockage, en particulier a des températures élevées. (***Crane & Visscher, 2009***).

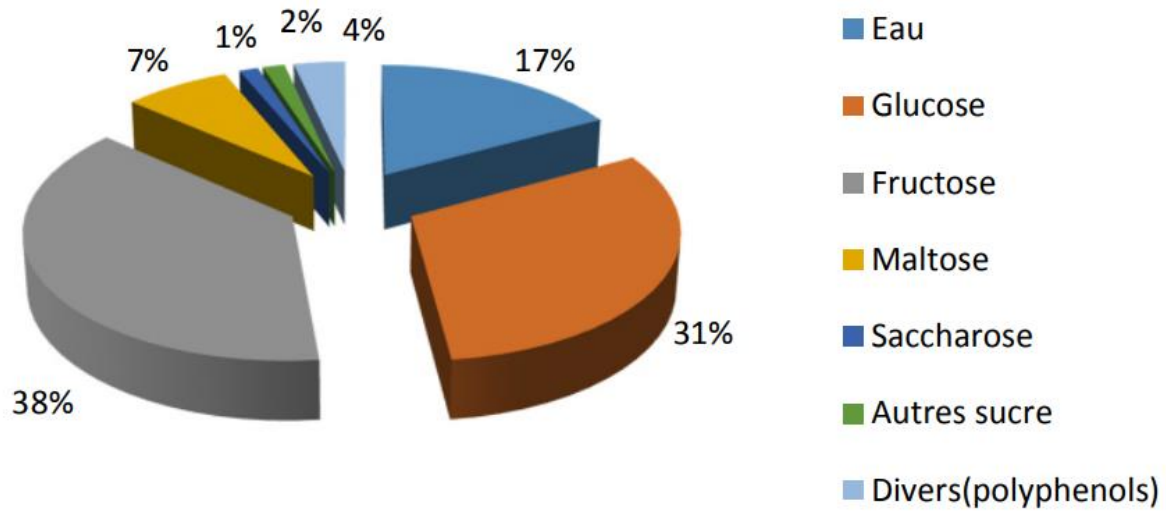


Figure2: Composition générale du miel (***Bruneau, 2002***).

I.1.4 Propriétés :

Le miel est utilisé comme médicament depuis l'antiquité dans de nombreuse culture dans la médecine populaire (***Molan, 1992***).

Le miel possède en plus de ses activités énergétiques et nutritionnelles Une action cicatrisante et désinfectante, il peut aider la plaie à se refermer et à soulager les patients souffrant de brûlures grâce à sa forte teneur en flavonoïdes qui réduiraient l'état inflammatoire (***Erejuwa, 2012 ; Dumbrava, 2013***). Des études ont montré des activités antifongiques contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* et *Trichosporron sp* (**Shenoy, 2012**), ainsi que des activités

antivirales contre l'herpès simplex de type 1 et de type 2 sur les lésions, notamment grâce aux flavonoïdes (***Amoros ,1992***) et au monoxyde d'azote (***Cavia ,2007***) contenus dans certains miel.

L'activité antibactérienne du miel a été signalée pour la première fois en 1892 sur certains bactéries telles que *Salmonella Typhy*, *Salmonella Paratyphy*, et *Staphylococcus aureus* (***Cortopassi-Laurino Et Gelli, 1991***). Tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne, mais il présente de manière générale une activité envers des espèces bactériennes aérobies et les anaérobies, aussi bien Gram (+) que Gram (–) *(Ahmadi ,2013*).

Le miel pur a des propriétés bactéricides contre les bactéries pathogènes et les entéropathogènes, y compris *Salmonella spp*., *Escherichia coli*, *Shigella spp*. et de nombreuses autres espèces à Gram négatif **(*Adebolu, 2005*)**

Le tractus gastro-intestinal (GIT) contient de nombreux microbes bénéfiques importants. Par exemple, les bifidobactéries sont l'une des micro-organismes présents principalement pour la subsistance d'un système gastro-intestinal sain Il a été suggéré que la consommation d'aliments riches en probiotiques peut augmenter la population de bifidobactéries dans le tube digestif.

Les activités biologiques et le développement de cette bactérie sont encore améliorés dans la présence de prébiotiques. Des études ont montré que la nature le miel contient une grande quantité de prébiotiques (***Abeshu & Geleta, 2016***) .

Quelques des essais expérimentaux in vitro et in vivo sur le miel ont signalé comme un complément alimentaire de premier plan qui accélère la croissance des Lactobacillus et des Bifidobactéries et catalyse leur puissance probiotique dans le GIT (***Kajiwara et al 2002***)(***Shamala et al 2000***). Sous in vitro conditions, ingrédients prébiotiques dans le miel tels que l'inuline, l'oligofructose et les oligosaccharides ont favorisé l'augmentation dans le nombre de Lactobacillus acidophilus et L. plantarum de 10 à 100 fois, ce qui était bénéfique pour l'intestin microbiote (***Cardarelli et al, 2008***) .

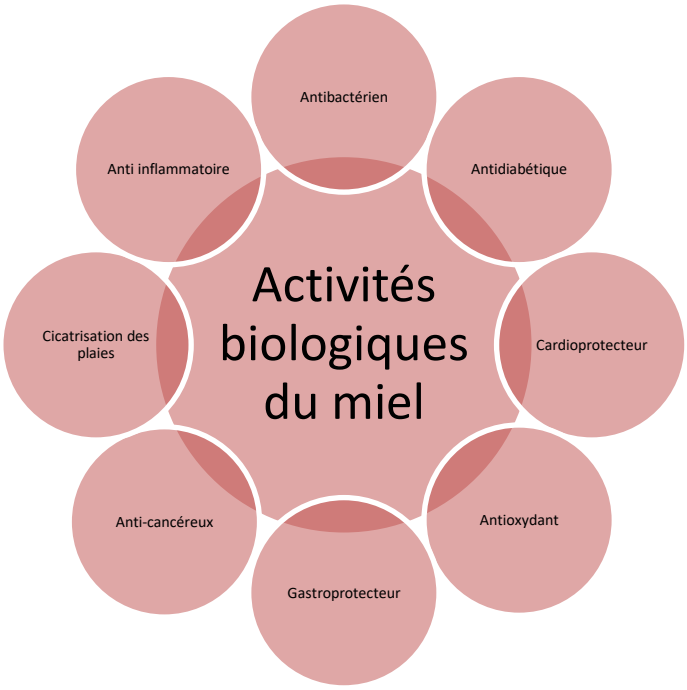


Figure 3 : Différents types d'activités biologiques des produits du miel.

I.1.5 Caractéristiques :

Le miel est délicieux

L'odeur du miel est variable (***Blanc, 2010***). L'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les tournesols, par exemple, donnent un miel jaune d'or; le trèfle donne un miel sucré et blanc. Le miel foncé a généralement un goût plus prononcé et sa teneur en sels minéraux est élevée ; le miel clair a une saveur plus délicate (***Bradbear, 2005***).

Le miel est visqueux

La viscosité du miel est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle il est conservé ; par ailleurs, les sucres contenus dans le miel peuvent cristalliser en partie sous l'influence de certains facteurs (température, agitation, composition chimique), entraînant alors une modification complète de son aspect mais sans rien changer à sa composition (***Donadieu, 2008***).

Le miel a une faible teneur en humidité

L'activité de l'eau est le facteur le plus déterminant pour l'observabilité d'une denrée alimentaire. L'influence de la composition du miel sur la valeur aw a été étudiée dans les travaux de RUEGG et al (1981). Les valeurs aw du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l'aw est < 0,60 peuvent être, du point de vue microbiologique, qualifiés de stables. Bien que l'activité de l'eau soit un facteur de qualité important, on ne la détermine que rarement (***Bogdanov et al. 2003***).

Le miel est hygroscopique

Le miel tend à absorber l'humidité de l'air et si on le laisse trop longtemps dans une atmosphère humide, cette absorption peut être considérable. Un miel normal, contenant 18% d'eau, peut atteindre, au bout de trois mois, une hygrométrie de 55%, son poids a alors augmenté de 84%. D'autre part, lorsqu'on veut dessécher le miel, il est nuisible de le maintenir en atmosphère rigoureusement sèche, parce qu'il se forme en surface une pellicule dure qui empêche le reste d'eau de s'évaporer (***Emmanuelle et al., 1996***).

.

Le miel est acide

Le pH du miel varie entre 3,2 et 5,5. Il est généralement inférieur à 4 dans les miels de nectar, supérieur à 5 dans ceux de miellat (sapin = max 5,3). Les miels à pH bas (type lavande = min 3,3) se dégradent plus facilement : il faudra alors prendre un soin particulier à leur conservation (***Gonnet et Vache, 1985***)

I.1.6 Posologie :

Le miel est généralement sans danger pour les adultes et les enfants de plus d'un an. Il peut être utile pour traiter les brûlures, la toux et éventuellement d'autres affections.

Sécurité et effets secondaires

Le miel peut être utilisé sans danger comme édulcorant naturel, antitussif et produit topique pour les plaies et plaies mineures.

Peu de contre-indications sont retrouvées à l'utilisation du miel. L'ingestion est formellement contre-indiquée chez le nourrisson de moins de 12 mois en raison du risque de clostridium botulinium.

Les patients allergiques aux pollens et en particulier de composés doivent être prévenus d'une possible réaction, même si les cas d'allergies rapportés sont très rares. Attention également aux miels contenant des granyotoxines.

Les miels biologiques sont à privilégier car ils contiennent généralement moins de contaminants et composés toxiques. (***Balas, 2015***)

Interactions

Il n'y a actuellement aucune preuve pour montrer comment le miel pourrait interagir avec d'autres médicaments.**(*Meo Sa, 2017*)** (***Samarghandian ,2017***).

I.2. La gelée royale

I .2.1 Définition

La norme ISO définit la gelée royale comme un mélange de sécrétions de glandes hypopharyngiennes et mandibulaires d'abeilles ouvrières, sans aucun additif, et précisément : Elle constitue la nourriture des reines au stade larvaire et au stade adulte. Il s'agit d'un aliment brut et naturel, non transformé (hormis la filtration) et exempt d'additifs. La couleur, le goût et la composition chimique de la gelée royale sont déterminés par l'absorption et la transformation par les abeilles nourries avec les deux types d'aliments suivants pendant la période de production de gelée royale :

-type 1 : uniquement les aliments naturels de l'abeille (pollen, nectar et miel);

-type 2 : les aliments naturels de l'abeille et d'autres nutriments (protéines, hydrates de carbone, etc.).

La gelée royale est une substance visqueuse sécrétée par les glandes hypophrygiennes et mandibulaires des abeilles ouvriers (apis mellifera) qui contient une quantité considérable de protéines , d'acide amines libre , de lipides, de vitamines , de sucre et de substances bioactives telles que le 10 hydroxy-trans-2-acide décénoique , protéine anti bactérienne et protéine de 350KDA (***orsolic, 2013***) .

La gelée royale est utilisé depuis l'antiquité pour la les soins et la sante humaine et elle est toujours très importante dans la médecine traditionnelle, la gelée royale ont fait l'objet de plusieurs recherche sur leur activité antimicrobienne on raison d'utilisation traditionnelle étendues et pour une application future en médecine (***Gilia, 2016***).

I .2.2 Origine :

La gelée royale est le produit de la sécrétion des glandes hypopharyngiennes (sécrétion claire) et des glandes mandibulaires (sécrétion blanche) des ouvrières âgées généralement de 5 à 15 jours, lorsqu'elles disposent de pollen, d'eau, et de miel dans leur ruche, à une température convenable. La sécrétion des glandes labiales céphaliques pourrait participer aussi à la formation de la gelée royale (***Ravazzi, 2007***).

I .2.3 Composition :

La composition de la gelée royale est différente suivant qu'elle est destinée aux larves d'abeilles ouvrières ou aux larves de reines et dépend également de la race des abeilles la produisant (***Rigal, 2012***). La composition de la gelée royale la plus fréquemment citée est la suivante (Figure 4).

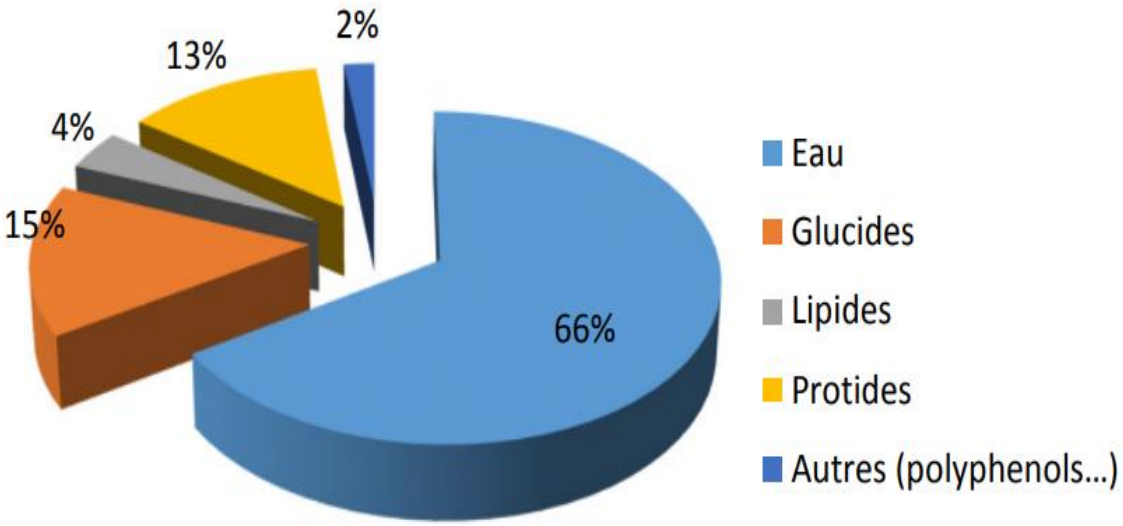


Figure 4: Composition générale de la gelée royale (***Ravazzi, 2007***).

I.2.4 Propriétés :

La gelée royale possède une activité antivirale notoire ,ces propriétés sont associée a des terroirs , des méthodes de récolte et de conditionnement qui préservent les qualités de ces produits fragiles . (***Flurin, 2009***). Elle possède des propriétés antitumorales grâce à l'acide 10-hydroxydécanoïque, mais également une activité antivirale, utile dans les traitements des hépatites et des grippes (***Fujiwara,1990 ; Boukaraa, 2008***). Cette substance possède aussi une action anti-inflammatoire qui découle de l'inhibition de la production des cytokines proinflammatoires (***Ncube, 2008***). Elle présente aussi une activité inhibitrice sur des champignons tels que *Candida albicans, C. glabrata, C. krusei* et *Trichosporon spp* (***Boukaraa, 2008).***

La gelée royale a des effets inhibiteurs in vitro sur plus de 150 bactéries, plusieurs champignons et virus (***Mateescu, 2016***) citant :

Lactobacillus plantarum	*Escherichia coli*	*Leuconostoc mesenteroïdes*
Micrococcus luteus	*Enterococcus faecalis*	*Micrococcus varians*
Bacillus licheniformis	*Erwinia carotovora*	*Pseudomonas fluorescens*
Bacillus subtilis	*Lactococcus lactis ssp*	

Plusieurs substances sont responsables de cette activité antimicrobienne à savoir : Les flavonoïdes : sont des cofacteurs de l'activité antimicrobienne dans la gelée royale (***Mateescu,***

2016). Plus particulièrement, l'Acide 10-hydroxy-2-décenoique (10-H2DA) a des effets antibactérien et antifongique reconnus. Notamment, il exerce une activité contre *Micrococcuspyogenes* ; il représente ¼ de l'activité de la pénicilline. En outre, il joue un effet inhibiteur contre *Escherichia coli*. L'activité de cet acide n'est que de 1/5 de l'activité de la chlorotétracycline (***Mateescu, 2016***). Les peptides : jouent également un rôle important dans le pouvoir antibactérien de la gelée royale, les Jelleines-I et II sont actifs contre certaines espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif (***Fontana, 2004***). La royalisine un autre peptide qui présente une action antibactérienne contre les bactéries à Gram-positif. Les tests de diffusion en agar ont montré que la fraction peptidique présente un effet inhibiteur contre l'agent pathogène de l'abeille (Paeni) *Bacillus larvae*, l'agent pathogène principal de la loque américaine, ainsi que contre d'autres bactéries Gram positives comme *Bacillus subtilis* et *Sarcina lutea* (***Mateescu, 2016***).

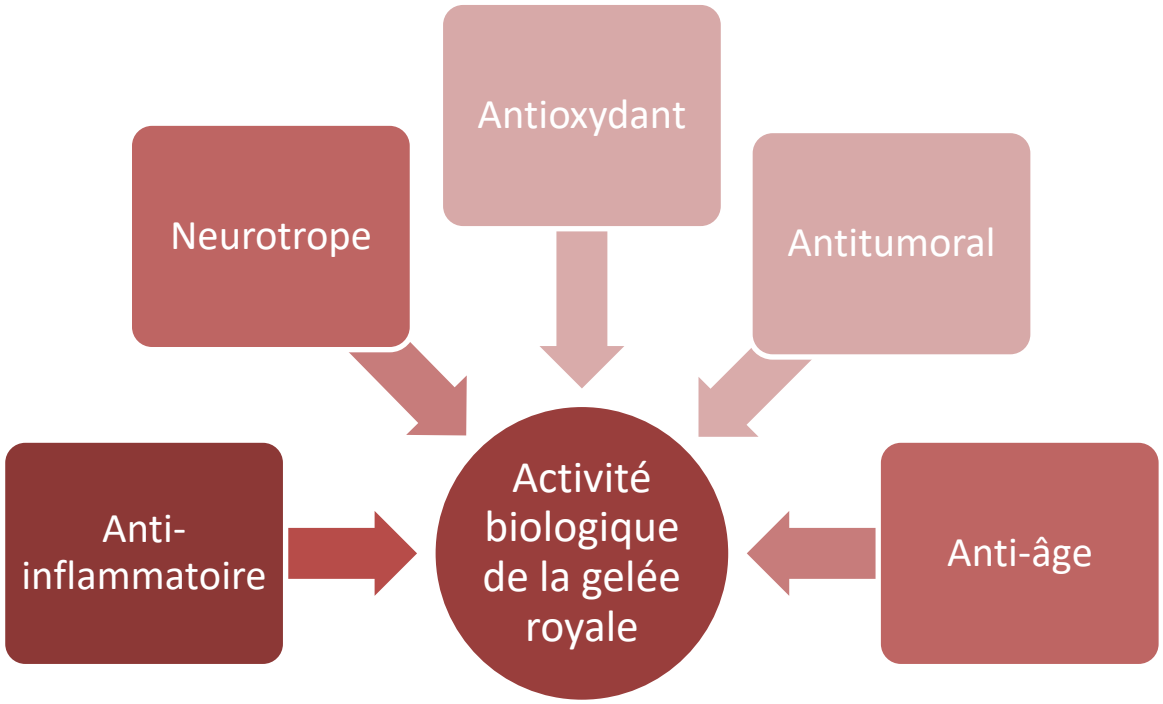


Figure 5 : Différents types d'activités biologiques de la gelée royale

I.2.5 Caractéristiques :

La Gelée Royale est une substance produite par les abeilles à partir de leurs glandes hypopharyngiennes et mandibulaires. Elle est la nourriture de toutes les larves pendant les 3 premiers jours de vie, et les larves de reine en seront exclusivement nourries. Les autres sont ensuite nourries de bouillie larvaire, un mélange de nectar et de pollen moins nutritif.

La Gelée Royale est la substance la plus riche et la plus élaborée de la ruche. Tout ce qui différencie une reine d'une ouvrière est l'alimentation à la Gelée Royale que reçoit la

première pendant sa vie larvaire. Or, elles sont morphologiquement et physiologiquement très différentes. La reine vie jusqu'à 5 ans, contre quelques semaines pour l'ouvrière ; elle est capable de pondre 1000 à 2000 œufs par jour en saison, soit plus que son poids, alors qu'une ouvrière est stérile.

Pour récolter la Gelée Royale, l'apiculteur partitionne la ruche avec une « grille à reine », permettant aux abeilles de passer mais bloquant la reine, qui est de taille supérieure. Il introduit ensuite dans la partie isolée de la reine, dite partie orpheline, des « cupules royales », qui sont des prémices de cellules royales. Il aura préalablement introduit dans chacune une larve d'abeille. Les abeilles vont alors remplir les cupules de Gelée Royale, pensant élevée de nouvelles reines. La reine ne pouvant accéder à ces cupules, ne pourra pas détruire les larves de futures reines. Avant operculation des cellules royales, l'apiculteur récupère les cupules, retire les larves et récolte par aspiration la Gelée Royale.

La Gelée Royale est de couleur blanc-jaunâtre, son odeur est quelque peu piquante au nez et phénolée. Lorsqu'elle est consommée pure, son goût est acide, doucereux et piquant. ***(laboratoire-mediflor,2018***)

I.2.6 Posologie :

La gelée royale peut être consommée par tous. "Les personnes âgées y trouveront en particulier un excellent stimulant des capacités cognitives et de l'énergie, sans interaction avec d'autres traitements en cours éventuels", assure la spécialiste. Toutefois, il est recommandé d'attendre l'âge de 5 ans avant d'en donner aux enfants et les femmes enceintes et allaitantes demanderont l'avis de leur médecin traitant avant de faire une cure.

Si vous la prenez pure, la posologie est de 300 à 700 mg (soit une tête d'épingle de produit) à prendre chaque jour pendant un mois environ. Sa saveur est un peu acide et pourrait déplaire à certains. Une astuce : prenez un verre de jus de fruit juste après ou mélangez-la à une cuillerée de miel, aux propriétés antibactériennes. La posologie de la gelée royale lyophilisée est entre 100 et 250 mg par jour à prendre durant 4 à 6 semaines.(*Ingrid Haberfeld ; 2019)*

Effets indésirables

La gelée royale peut provoquer des réactions allergiques chez l'homme, allant de l'urticaire à l'asthme, voire à l'anaphylaxie mortelle.L'incidence des effets secondaires allergiques chez les personnes qui consomment de la gelée royale est inconnue. Le risque d'avoir une allergie à la gelée royale est plus élevé chez les personnes qui ont d'autres allergies.(***Leung et al , 1997***).



I.3. La propolis :

I .3.1 Définition :

La propolis est une substance produite par les abeilles qui constitue un mélange de cire et de matériel botanique comme les bourgeons, les résines végétales. Elle est utilisée par les ouvrières pour colmater les trous et les fissures de leur ruche pour la protéger contre les conditions météorologiques défavorables et comme c'est une substance antiseptique, elle protège ainsi la ruche contre les contaminations bactériennes ainsi que les invasions étrangères ***(Philippe, 1999)*** (***Andelkovi & al, 2016)***.

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses : Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence a une température assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux ; Par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité (***Debuyser, 1984***) .

Types de propolis : propolis verte, noire, brune...

- **La propolis brune à jaune de peuplier, contre les verrues :**
  Elle est récoltée en France et en Europe. Son action antibactérienne agit rapidement. Elle s'utilise à petites doses car elle est puissante. Elle soulage vite les petits soucis de l'hiver et les imperfections cutanées (verrues). On la trouve sous la forme de sirop, d'extrait alcoolique, de spray, de pommade...
- **La propolis verte du Brésil, contre les mycoses et les cellules cancéreuses** : elle est prélevée par les abeilles sur le " romarin des champs " (Baccharis dracunculifolia). Une plante connue pour sa teneur élevée en terpénoïdes, qui sont des actifs à forte action anti-inflammatoire. Cette plante synthétise également un dérivé de l'acide cinnamique : l'artépilline C très étudiée pour ses propriétés cytostatiques (anticancéreuses). Cette variété de propolis est disponible en France sous une forme sèche, en capsule.
- **La propolis rouge de palétuvier :**
  elle provient des mangroves des pays tropicaux. Elle est particulièrement antivirale. Elle se décline en gélule, extrait, sirop...

I .3.2 Origine :

Depuis les temps les plus anciens, les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient la résine des bourgeons de divers arbres et en particulier celle du peuplier.(***Debuyser., 1984***).

La propolis est un complexe d'une série de substances résineuses gommeuses. Elle est recueillie principalement par les abeilles à partir de plantes, arbres, de bourgeons d'arbres. Il est bien connu qu'en Europe et dans les régions au climat tempéré. Les abeilles récoltent ses précieuses substances sur les bourgeons de peupliers, les Bouleaux, les Aulnes, les Marronniers d'Inde, les Frênes, les Saules, les Epicéas et les Chênes, etc. Dans les autres régions, il existe

d'autres plantes à part celles citées avant telles que la Macaranga Tanarius en Okinawa (***Kumazawa et al, 2008)(Bankova et al ,2000)***.

I .2.3 Composition :

La propolis est composée de résine, de cire, des sécrétions salivaires et du pollen (***Amigou, 2016***). L'origine botanique et les modifications issues des sécrétions hypopharyngiennes des abeilles (hydrolyse des hétérosides de flavonoïdes en aglycone) sont les deux facteurs responsables de sa composition (***Cardinault, 2012***).

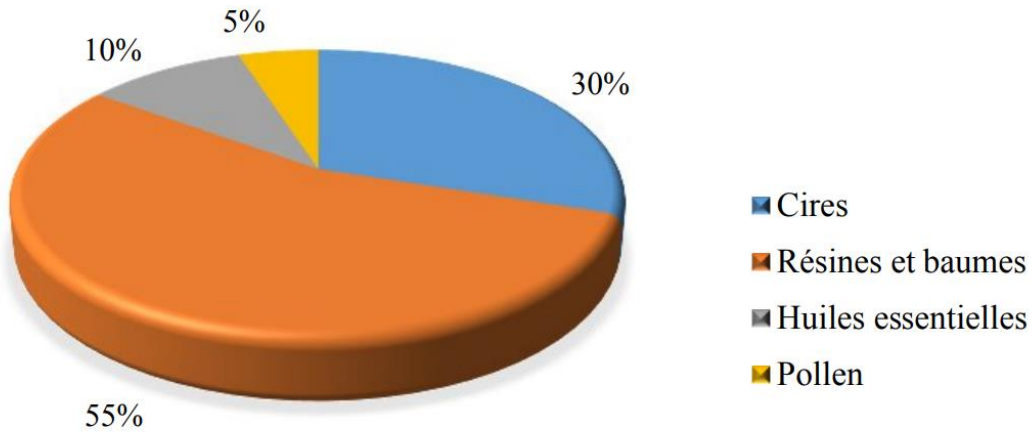


Figure 6: Composition chimique de la propolis (***Philippe, 1999***).

La propolis est composée aussi de plus de 40 flavonoïdes, de composés phénoliques, d'aldéhydes aromatiques, d'acides gras aliphatiques, de sucres, d'acides aminés, d'oligo-éléments et de vitamine. On peut la trouver dans différents produits tels que ; des pommades, des emplâtres, des lotions ou de gaze (***Caillas, 1964***).

I.2.4 Propriétés :

La propolis semble remarquablement prometteuse. En effet, on lui a découvert des propriétés antibactériennes, antivirales, antifongiques, antiparasitaires, analgésiques, antioxydants, anti-inflammatoires, immunostimulantes, cicatrisantes et même anti oncotiques.

Activité antioxydant La richesse de la propolis en flavonoïdes lui confère une propriété à piéger les radicaux libres, elle possède aussi d'autres composants responsables du pouvoir

antioxydants comme l'acide caféique, l'acide caféoylquinique, l'acide cinnamique, et leurs dérivés, ainsi que la drupanine (***Cousin, 2014***).

Propriété immunostimulante Augmente le nombre de macrophages et la quantité d'anticorps (***Sauvager, 2012***).Propriété anti-inflammatoire Les flavonoïdes inhibent la synthèse de monoxyde d'azote, de prostaglandines et des cytokines inflammatoires (***Cousin, 2014).***

Propriété cicatrisante et régénératrice La propolis favorise la multiplication des fibroblastes et la stimulation de la synthèse de l'élastine ***(Sauvager, 2012***). Propriété antifongique et antiparasitaire Elle présente des effets contre l'Aspergillus et la toxoplasmose (***Sauvager, 2012***).

Propriété cytostatique (anti-cancéreuse) La propolis contient des substances cytotoxiques naturelles comme les flavanones, l'artépilline C et les diterpénoïdes qui déclenchent l'apoptose des cellules cancéreuses (***Gharbi, 2011***).

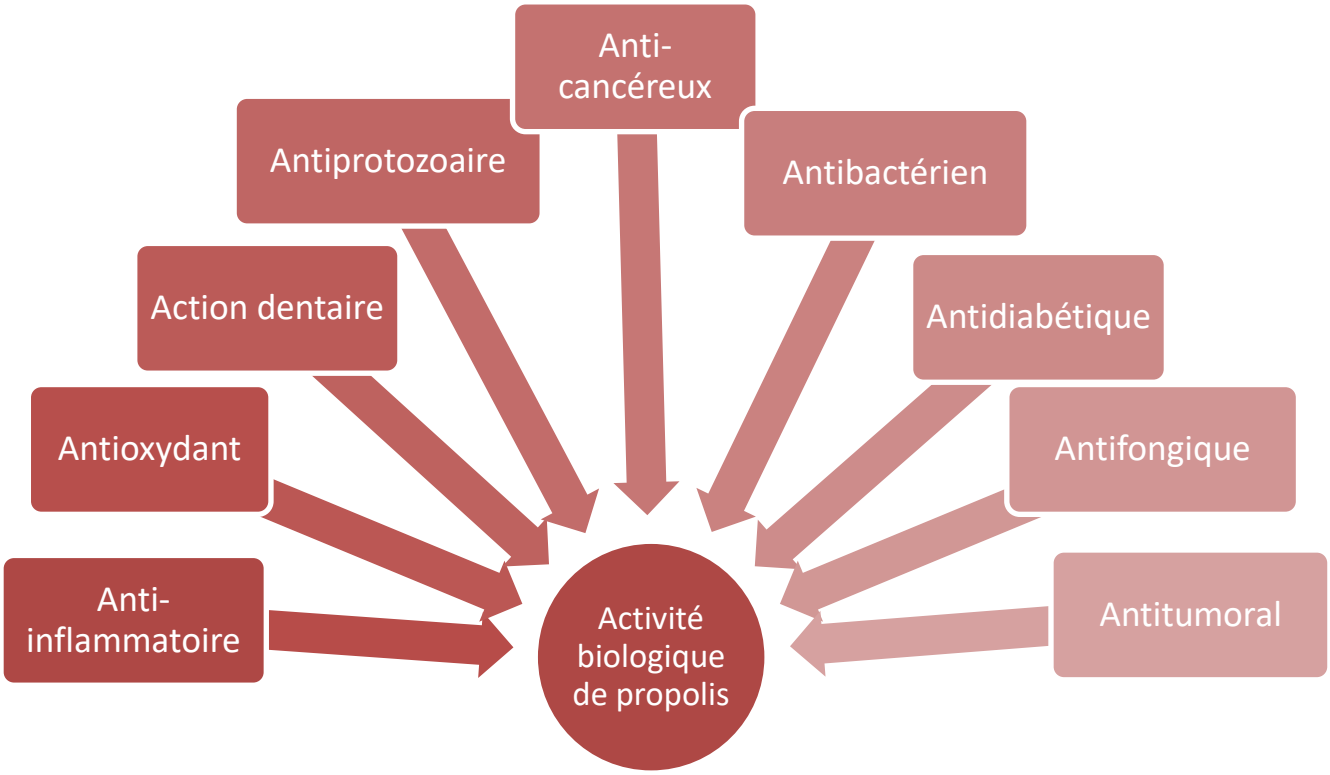


Figure 7 : Les activités biologiques de la propolis**.**

I. 3.5 Caractéristiques :

La propolis est récoltée sur une grande variété d'arbres et d'arbustes. Chaque région et chaque colonie, semble avoir ses propres sources de résine préférées. Ce qui explique la grande variation de la couleur et de l'odeur de la propolis ainsi que sa composition (***Krell, 1996*).**

La propolis est une substance résineuse, d'aspect hétérogène qui présente les caractères suivants :

Couleur : Elle varie selon sa provenance, allant de jaune clair au brun très foncé, presque noire en passant par toutes les gammes des bruns (brun jaune, brun vert et brun rouge).

Odeur : Elle a une odeur variable suivant son origine, en général, arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc…) (*tosi, enzo a., ciappini, maria, cazzolli, ampelio & tapiz, luis. 2006).*

Saveur : Elle est souvent amère et âcre.

I. 3.6 Posologie :

Il n'existe aucun consensus sur la normalisation de la posologie des produits thérapeutiques à base de propolis.
Toutefois, les cliniciens recommandent de prendre 1 g de propolis pure par voie interne, 1 à 3 fois par jour, pour traiter les infections des voies respiratoires. Il est conseillé de se référer aux indications des fabricants pour les extraits. En cas de doute, demandez l'avis d'un professionnel de la santé.

Les produits destinés à un usage externe ont des teneurs variables en propolis. Il est indiqué de se rincer la bouche durant 60 à 90 secondes, 1 à 2 fois par jour pour traiter la gingivite et les plaques dentaires.

Il est conseillé d'appliquer de la pommade à la propolis pour traiter les plaies cutanées, les infections vaginales, l'herpès génital et les brûlures. La posologie est de 4 applications par jour, pendant 10 jours. La teneur en propolis dans les pommades varie d'un fabricant à un autre.

II. Activité anti bactérienne de chaque produits

II.1 Miel :

L'utilisation du miel comme remède traditionnel contre les infections microbiennes remonte à l'Antiquité ***(Molan, 1992***) .Des recherches ont été menées sur le miel de manuka (L. scoparium)(***Visavadia. 2006***) ; dont l'efficacité a été démontrée contre plusieurs agents pathogènes humains, notamment *Escherichia coli* (*E. coli*), Enterobacter aerogenes, Salmonella typhimurium, S. aureus (***Lusby ; 2005),*** Des études en laboratoire ont révélé que le miel est efficace contre le S. aureus résistant à la méthicilline (SARM), les streptocoques β-hémolytiques et les entérocoques résistants à la vancomycine (ERV) (***Allen et al. 2000***) ; (***Kingsley ,2001***).

Cependant, les miels nouvellement identifiés peuvent présenter des avantages ou des similitudes avec le miel de manuka en raison de l'activité antimicrobienne accrue, de la production locale (donc de la disponibilité) et d'une plus grande sélectivité contre les organismes médicalement importants. Les staphylocoques à coagulase négative sont très similaires à S. aureus (***Cooper. 2002),(Abhishek, 2010***). dans leur sensibilité au miel de puissance antibactérienne similaire et plus sensibles que les espèces Pseudomonas aeruginosa (P. aeruginosa) et Enterococcus.

Le miel inhibe la croissance des micro-organismes et des champignons. L'activité antibactérienne du miel, principalement sur les bacilles gram positifs est largement documentée (***Bogdanov ; Jurendic ; Sieber& Gallmann. 2008***). Les activités bactériostatiques et bactéricides ont été démontrées sur de nombreuses souches, dont certaines résistantes à des antibiotiques (comme le staphylocoque résistant à la méticilline) (***Zumla ;Lulat , 1989***).

De plus, il a également été démontré que le miel pouvait inhiber in vitro le virus de la rubéole, la Leishmaniose, et l'Echinococcus. L'effet antimicrobien du miel est dû à différentes substances et dépend de son origine botanique (***Molan ,1992***).

On ne connaît pas encore précisément tous les composants antibactériens du miel mais quatre facteurs sont largement mis en avant : l'osmolarité, le pH acide, le peroxyde d'hydrogène, et le système non-peroxyde (***Bogdanov,1997***).

Tableau I : Activité antibactérienne du miel contre les bactéries causant une infection potentiellement mortelle pour l'homme.

Souche bactérienne	Importance clinique	Auteurs
Proteus spp	Septicémie, infections urinaires infections de plaies	Molan ,1992
S. aureus	Infection communautaire et nosocomiale	Taormina, Niemira& Beuchat ,2001
E. coli	Infection des voies urinaires, diarrhée, septicémie, infections des plaies	Chauhan , Pandey , Chacko & Khandal, 2010
P. aeruginosa	Infection de plaie, ulcère du pied diabétique, Infections urinaires	Chauhan, Pandey, Chacko& Khandal ,2010
Salmonella enterica sérotype Typhi	Fièvre entérique	Mulu, Tessema & Derbie ,2004

Dans un autre travail algérien, les auteurs ont rapporté que E. coli et Pseudomonas aeroginosa sont les moins résistantes à l'effet de trois types de miel testés. Staphyloccocus aureus s'est avérée moyennement sensible, alors que Serratia marcescens est partiellement résistante aux deux miels parmi les cinq testés et entièrement résistante à un autre type de miel. Cependant, la levure, Candida albicans a montré une faible sensibilité pour tous les miels testés (***Merah et al. 2010***).

II.2 Gelée royal :

La gelée royale a des effets inhibiteurs in vitro sur plus de 150 bactéries, plusieurs champignons et virus (***Mateescu, 2016***) citant : *Lactobacillus plantarum, Escherichia coli, Leuconostoc mesenteroïdes, Micrococcus luteus ,Enterococcus faecalis, Pseudomonas fluorescens, Bacillus licheniformis ,Erwinia carotovora , Micrococcus varians, Bacillus subtilis, Lactococcus lactis ssp.*

Plusieurs substances sont responsables de cette activité antimicrobienne à savoir :

Les flavonoïdes : sont des cofacteurs de l'activité antimicrobienne dans la gelée royale (***Mateescu, 2016***).

Plus particulièrement, l'Acide 10-hydroxy-2-décenoique (10-H2DA) a des effets antibactérien et antifongique reconnus. Notamment, il exerce une activité contre Micrococcuspyogenes ; il représente ¼ de l'activité de la pénicilline. En outre, il joue un effet inhibiteur contre Escherichia coli. L'activité de cet acide n'est que de 1/5 de l'activité de la chlorotétracycline (***Mateescu, 2016***).

Les peptides : jouent également un rôle important dans le pouvoir antibactérien de la gelée royale, les Jelleines-I et II sont actifs contre certaines espèces bactériennes à Gram positif et à Gram négatif (***Fontana, 2004***).

La royalisine un autre peptide qui présente une action antibactérienne contre les bactéries à Gram-positif. Les tests de diffusion en agar ont montré que la fraction peptidique présente un effet inhibiteur contre l'agent pathogène de l'abeille (Paeni) Bacillus larvae, l'agent pathogène principal de la loque américaine, ainsi que contre d'autres bactéries Gram positives comme Bacillus subtilis et Sarcina lutea (***Mateescu, 2016***).

II.3 Propolis :

La propolis est le produit de l'abeille ayant l'activité antimicrobienne la plus élevée. L'activité antibactérienne de la propolis a été confirmée par de nombreuses études scientifiques et démontrée contre les deux types de bactéries à Gram positif et à Gram négatif, à la fois aérobies et anaérobies. Bien que la composition de la propolis diffère considérablement en fonction de son origine botanique, tous les types examinés de propolis ont révélé une forte activité antibactérienne (***Bankova, 2005***)

Cette activité antibactérienne de la propolis de peuplier et d'autres types de propolis d'origine géographique et botanique différentes sont similaire (***Kujumgiev, 1999***).

L'activité antibactérienne de la propolis contre des bactéries pathogènes ou nocives est résumée dans le tableau 2 ci-dessous (***Ghisalberti, 1979***) .

La propolis est plus active contre les pathogènes à Gram-positifs malgré que de nombreuses bactéries à Gram négatives sont également inhibées (Tableau II).

Tableau II: Effets de la propolis contre les micro-organismes pathogènes et virus d'après (***Ghisalberti, 1979***).

Microorganisme	Espèces
Bactéries à Gram positif	*bacillus cereus, Bacillus mesentericus, Corynebacterium spp., Corynebacterium diphtheriae, Diplococcus pneumonae, Enterococcus spp., Mycobacteria sp., Mycobacterium tuberculosis, Staphylococcus aureus, Streptococcus: S. critecus, S. epidermis, S. faecalis, S. mutans, S. pyogenes, S. viridans, S. sobrinus,*
Bactéries à Gram négatif	*Branhamella catarrhalis, E. coli, Helicobacter pylori, Klebsiella mozaemae, Proteus vulgaris, Pseudomonas aeruginosa, Salmonella : S. choleraesuis, S. dublin, S. enteritidis, S. exneri, S. gallinarum, S. pullorum, S. paratyphi-A, S. paratyphi-B, Shigella dysinteriae, Sh. sonnei*
Champignons	*Aspergilus sp., Candida albicans, C. guiliermondi, C. parapsilosis, C. tropicalis; Cryptococcus sp., Cryptococcus neoformans, Histoplasma capsulatum, Madurella mycetomi, Microsporum: audoinini, canis, cepleo, distortum, ferrugeneum, gypseum; Piedrahortae, Phialophora jeanselmei, Saccharomyces sp., Trichophyton: sp., mentagrophytes, rubrum, Trichosporon cutaneum*
Virus	*Adenovirus, Coronavirus, Herpes symplex, Influenca A et B virus, Newcastle disease virus, Polio virus, Vaccinia, Rotavirus; Vesicular Stomatitis Virus, Coronar virus*
Parasites	*Cholomonas paramecium, Eimeria: magna, media, perforans; Giardia lambia, Giardia duodenalis, Trichomonas vaginalis, Trypanosoma cruzi, Trypanosoma evansi*

Chez les bactéries Gram positif (+) : l'activité antibactérienne de la propolis contre les bactéries Gram (+) semble principalement attribuable aux flavonoïdes, acides aromatiques et esters présents dans la résine. peuvent rompre l'effet de barrière de la membrane des bactéries, ce qui permet de faciliter l'assimilation d'exogènes comme les antibiotiques. Cet effet est d'ailleurs plus prononcé chez les bactéries à Gram positif, sans doute à cause de l'absence de barrières supplémentaires sur la membrane externe, contrairement aux bactéries à Gram négatif (***Kujumgiev ,1999***).

Chez les bactéries Gram négatif (-) : c'est parce que la présence de lipopolyssacharide chargé négativement qui agit comme une barrière dans les bactéries gram négatif et la production des enzymes hydrolytiques qui casse vers le bas les ingrédients active de la propolis (***Jastrzebska-Stojko ,2013***) .

Matériel et méthodes

I. Matériel et méthodes :

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire Microbiologie de l'université de Dr YAHIA FARES MEDEA. Cette étude consiste à tester l'activité antibactérienne de quelques échantillons des produits de la ruche.

I.1.Origine des échantillons :

Les échantillons des produits de la ruche sont aux nombre de quatre (tableau III), récoltés durant l'année 2021 dans la région (Médéa) et offert par les apiculteurs. L'ensemble des échantillons (figure8) ont été déposés dans des flacons en verre bien fermés et enrobés avec du papier aluminium pour assurer l'obscurité, puis transportés et conservés au réfrigérateur.

Tableau III: Description des échantillons collectés.

Echantillons	Etat	Couleur	Poids (g)
Miel de Jujubier (sidr)	Cristallisé	claire et dorée	250
Miel de Montagne	Cristallisé	Marron	250
Miel d'Euphorbe	Cristallisé	Marron	250
Gelée royale	Gélatineuse	Blanche	20
Propolis	Poudre	Marron	20



Figure8: Echantillons des produits de la ruche analysés**.**

I .2 Evaluation de l'activité antibactérienne :

I.2.1 Les microorganismes 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 et positif (*Pseudomonas aerogenosa, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Esherichia coli, Candida albicans, Citrobacter, Enterobacter cloacea, Salmonella typhimurium, proteus, streptococcus).*

L'ensemble de ces souches appartiennent à la collection du Laboratoire pédagogique de microbiologie de faculté de science biologique de l'université YAHIA FARES de Médéa isolées préalablement de sondes urinaires 2021 .

I.2.2 Revification de souches :

Les souches (*Escherichia coli, Pseudomonas aerogenosa, Citrobacter,Proteus , Enterobacter, streptococcus)* elles ont étés conservées sur le boillon nutritif à 4C°.

Les souches (*Staphylococcus aureus, Candida albicans, Staphylococcus epidermidis , Salmonella typhimurium)* conservées sont repiquées sur le milieu Muller Hinton. Le milieu de culture ensemencé est incubé à l'étuve à 37° C pendant 18-24 heure .

I.2.3 Les testes de confirmation :

I.2.3.1 Teste de catalase :

Principe :

L'enzyme catalase sert à neutraliser les effets bactéricides du peroxyde d'hydrogène (***Wheelis, 2008***) .La catalase accélère la décomposition du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) en eau et oxygène (2H 2O 2 + Catalase $2H_2O + O_2$) ; $H_2O_2 = 2H_2O + O_2$ 2.(***Clarke & Cowan , 1952***) Cette réaction est évidente par la formation rapide de bulles.

Protocole :

Placez une lame de microscope à l'intérieur d'une boîte de Pétri.Gardez le couvercle de la boîte de Pétri à disposition. L'utilisation d'une boîte de Pétri est facultative car la méthode peut être effectuée correctement sans elle. Elle vise à limiter les aérosols dont il a été démontré qu'ils portaient des cellules bactériennes viables.(***Duke & Jarvis. 1972***) ., prélevez une colonie bien isolée d'une culture pure (18 à 24 heures d'incubation) et placez-la sur la lame de microscope.Veillez à ne pas prendre d'agar. Ceci est particulièrement important si la cuture a été réalisée sur une gélose au sang. Les globules rouges peuvent entraîner une réaction faussement positive. (***Forbes et al. 2007***). À l'aide d'un compte-gouttes ou d'une pipette Pasteur, déposez 1 goutte de $H_2O + O_2$ à 3% sur la colonie. Ne pas mélanger.Couvrez immédiatement la boîte de Pétri avec un couvercle et observez la formation immédiate de bulles (O 2 + eau = bulles).

I.2.3.2 Coloration de gram :

Principe :

La coloration de gram est fondé sur l'action successive d'un colorant d'aniline, le cristal violet, d'iode puis d'un mélange d'alcool et d'acétone .dans un premier temps, le colorant pénètre dans la paroi et le cytoplasme .dans un second temps l'iode réagit avec le colorant et le rend insoluble ce qui permet l'identification de gram.

Protocol :

Inonder le frottis séché à l'air et fixé à la chaleur pendant 1 minute avec le réactif de coloration au cristal violet. Veuillez noter que la qualité du frottis (concentration cellulaire trop lourde ou trop légère) affectera les résultats de la coloration.Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.Inondation avec le mordant : iode ou lugol. Attendez 1 minute.Laver la lame dans un jet doux et indirect d'eau du robinet pendant 2 secondes.Inondation la lame avec agent décolorant. Attendre 15 secondes ou ajouter goutte à goutte pour faire sortir l'agent de décoloration Inondation la lame avec contre-colorant, Patienter 30 secondes à 1 minute.Laver la lame dans un jet d'eau douce et indirecte de l'eau du robinet jusqu'à ce qu'aucune couleur n'apparaisse dans l'effluent, puis sécher avec du papier absorbant.Observez les résultats de la procédure de coloration sous immersion dans l'huile. Examiner au microscope, objectif x100.

I.2.4 Préparation des suspensions bactériennes :

Trois a cinq colonie bien isolées issues d'une culture de 18h sont dissocies dans 5ml d'eau physiologique suivi d'une agitation a l'aide d'un vortex et mesurer 0,5 mac Ferland a l'aide d'un densitomètre .

I.2.5 Conservation des souches :

A court terme :

A partir des souches pures on faire des repiquage dans des tubes de gélose de conservation en piqure centrale puis une incubation est réalisée pendant18 h à 37 c° ,les tubes sont ensuite conservé dans le réfrigérateur à - ± 1 c° , les repiquages sont réalisées tous les 15 jours .

A long terme :

Deux à trois colonies isolées issues d'une culture de 18 h sont dissocies dans 10 ml d'bouillon nutritif (BN) et incubé pendants 18 h à 37 c°, prends des epindorf stérile remplir 300 µl glycérol et 700 µl bouillon nutritif incubé survis d'une agitation à l'aide d'un vortex ensuite conservé dans le congélateur.

I.3 Antibiogramme :

Principe

Un inoculum standardisé de bactéries (le plus souvent 0.5Mcf) est tamponné sur la surface d'une boite de gélose Mueller-Hinton (MH). Des disques de papier filtre imprégnés d'agents antimicrobiens sont placés sur la gélose. Après une nuit d'incubation, le diamètre de la

zone d'inhibition est mesuré autour de chaque disque. En se référant aux tableaux de la norme CLSI ou EUCAST, on obtient un rapport qualitatif de sensible, intermédiaire ou résistant.007).

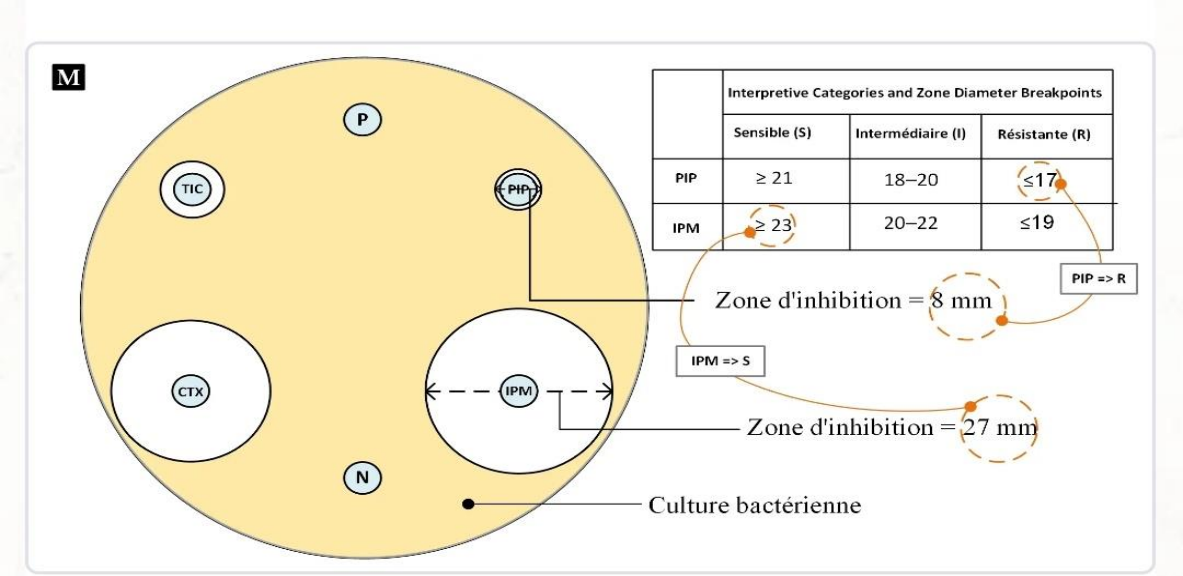


Figure 9: lecture des résultats d'antibiogramme(***microbiologie-clinique***).

I.3.1 les antibiotiques :

Les disques d'antibiotiques utilisés comme un témoin pour l'antibiogramme sont à large spectrantibactirienne

- Optochin
- Chloramphénicol
- Nétilmicine
- Kanamycin
- Rifampicinee
- Vancomycin
- Tobramycin
- Ticarcilline
- Oxacilline
- Gentamycine
- Tétracylcline
- Teicoplanine
- Azithromycine
- Aztréonam
- Lévofloxacine
- Pénicilline
- Ticarcilline+acide clavulanique
- Dihydrodaunomycin Hydrochloride HCI

II Préparation des échantillons du miel :

Les échantillons du miel a été utilisés pour les tests antibactériens sont soit purs à 100% ou dilués à 75%, 50%, 25% (v/v). Les séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau physiologique ou distillée stérile pour un volume final de 100ml ***(Nair, 2014***).

Tableau IV: Préparation des concentrations des miels (*Athmani et al., 2018*).

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

II.1 Méthode des puits de diffusion :

En milieu solide

C'est un test simple de criblage et de sensibilité, en utilisant une méthode dite de diffusion avec des puits creusé dans le milieu Mueller Hinton [(*Perez, 1990) ; (**Murat , 2004***)]. On utilise les pipettes pasteur flambées et refroidies pour creuser des puits de 0,8mm de diamètre comportant environ 100 µl d'échantillon de miel pur ou dilué.

Cette technique est répertoriée et décrite dans différentes publications. [(***Osho et Bello, 2002) ;(Assegid., 2004) ;(Melissa, 2004***)].

Mode opératoire

0,1 ml a été déposée de chaque souche puis on étal en surface du milieu Mueller Hinton (MH) par écouvillonnage. Les échantillons de miel ont été versés avec une seringue stérile pour les miels purs et par micropipettes pour les miels dilués dans les puits creusés à raison de cinq puits par boite. Incubation a été fait à 37°±2C pendant 24h.

II.2 Méthode de spectrophotométrie :

Cette technique a l'avantage de donner des pourcentages d'inhibition qui estiment plus exactement l'activité de nos échantillons du miel qui était approximative avec la technique des puits de diffusion.

Cette méthode repose sur la préparation des dilutions de miels avec le milieu de culture liquide bouillon nutritive et la suspension bactérienne dont la concentration totale est 5% (v/v). Et cela pour pouvoir quantifier l'inhibition faite par le miel.

Cette fois-ci La détermination de l'activité antibactérienne de miel se fait dans une microplaque de 96 puits. 200µl de chaque dilution a été déposé dans chaque puits. On incube les plaques à 37°±2 pendant 18h. La lecture des résultats se fait à l'aide de spectrophotomètre ou un lecteur de microplaques qui détermine les densités optiques de Chaque dilution

On utilise la formule suivante pour estimer les pourcentages d'inhibition de nos échantillons du miel : Pourcentage de croissance= (DO de teste/DO de témoin) x 100.

III Extraction des composes phénolique :

Principe

C'est l'étude de la capacité d'extraction des principes actifs par des différents solvants. Dans notre cas c'est une extraction liquide-solide. Cette dernière se définit comme une opération de séparation d'un ou plusieurs constituants solides ou liquides contenus dans un corps solide par solubilisation dans un fluide. Ce fluide appelé généralement solvant (***Ferhoum, 2010***).

Dans cette présente étude on a utilisé deux solvants organiques de polarités différentes (l'acétate d'éthyle et éthanol 96%).

Mode opératoire

Le protocole de la macération de propolis consiste à mélanger 10 g de cette dernière dans150mL du solvant (éthanol) (même chose pour les miels sauf gelée royale). Le mélange subit ensuite une agitation pendant 2h à température ambiante (15-20°C). Puis une centrifugation à 4000g pendant 10 min. Le surnageant est récupéré et évaporé sous vide dans un évaporateur rotatif. Une moitié de l'extrait sec est récupérée dans l'éthanol qui va nous servir pour le dosage des polyphénols, une autre moitié est récupérée dans le DMSO pour l'évaluation de l'activité antimicrobienne. Ces extraits sont conservés dans des ependorfs au réfrigérateur à (4°C) pour les extraits récupérés par le DMSO.

III .1 Rendement d'extraction des composés phénoliques :

Le rendement désigne la masse de l'extrait déterminée après évaporation du solvant, il est exprimé en pourcentage (%) par rapport à la masse initiale de la matière soumise à l'extraction (la propolis). Le rendement est calculé par la formule suivante : R%=m/m0

- R (%) : Rendement exprimé en pourcentage %.
- m : Masse en gramme de l'extrait sec résultant.
- m0 : Masse en gramme de la propolis.

III .2 Dosage des polyphénols totaux :

Principe

Le principe de la méthode est basé sur l'oxydo-reduction. Le réactif de Folin Ciocalteu est un acide de couleur jaune, constitué de polyhétérocycles acides contenant du molybdène et du tungstène (*GERVAISE, 2004*). La méthode consiste à réduire le mélange d'acide phosphotungstique (H3PW12P40) et d'acide phosphomolybdique (H3PMo12O40), lors de l'oxydation des phénols, en un mélange d'oxydes bleus de tungstène (W8O23) et de molybdène (Mo8O23). La présence de carbonates de sodium rend le milieu légèrement alcalin.

Mode opératoire

Selon SINGLETON et ROSSI. (1965) la procédure pour le dosage des polyphénols totaux consiste à la préparation de 125µL à partir de chaque extrait et 500µl d'eau distillée sont ajoutés puis additionné de 125µl du réactif de folin-ciocalteu. Après 6min, un volume de1,25mL de la solution carbonates de sodium (Na2CO3) à 7% est ajouté. Le volume total agité puis ajusté à 3 ml avec l'eau distillée. Les absorbances sont mesurées à 760nm après incubation pendant 1h à l'obscurité. La concentration des polyphénols totaux est déterminée à partir d'une courbe (étalon) en utilisant l'acide gallique comme standard avec une gamme allant de 0 à 200µg/Ml.

IV Aromatogramme :

Pour ensemencer les boites de Pétri contenant le milieu Mueller- Hinton (MH) un écouvillonnage est réalisé. Un écouvillon est trempé dans la suspension bactérienne, puis l'essorer en pressant fermement sur la paroi interne du tube. L'écouvillon est frotté sur la totalité de la surface gélosée, de haut en bas en stries serrées.

Des disques stériles sont déposés délicatement sur la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile. Un volume de chaque extrait (récupéré avec du DMSO) est déposé sur les disques. un volume de DMSO déposé sur un disque est servi de témoin négatif. Les boites de Pétri sont incubées pendant 18 heures à 37°C.

IV .1 Lecture des aromatogrammes :

La lecture des aromatogrammes a été faite par la mesure des diamètres des zones d'inhibition au tour des disques. Les résultats sont exprimés par le diamètre de la zone d'inhibition qui peut être symbolisé par des signes d'après la sensibilité des souches vis-à-vis des extraits (*Ponce , 2003*).

- Non sensible (-) ou résistante : diamètre ≤ 8mm .
- Sensible (+) : diamètre compris entre 9 à 14 mm .
- Très sensible (++) : diamètre compris entre 15 à 19 mm .
- Extrêmement sensible (+++): diamètre > 20mm.

V Étude de la synergie entre extrait de miel et antibiotiques de miel/propolis, miel/gelée royale, propolis/gelée royale :

Cette technique se fait à l'aide de spectrophotomètre , on prépare des combinaisons entre eux et des combinaisons entre ATB (Gentamycine) et des extrais et ensuite on va faire des combinaisons entre miel 3(miel de jujubier) et les autre produits on va remplir les puits des microplaque avec des solution (combinaisons des extrais et BHIB + suspension bactérien) avec le classement des qui on à proposés et incubé à 37°C pendant 18 h.

VII Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique :

La nature de l'activité de chacun des produits testés a été déterminée par la méthode de Pibiri, (2003). À partir des aromatogrammes de 24 h, les zones translucides entourant les disques ont été repiquées à l'aide d'une anse stérile dans des tubes à essai contenant le milieu nutritif. Les tubes ont été par la suite incubés à 37°C, puis observés après 24 h puis 48H.
Un test de confirmation a été réalisé pour les tubes ne présentant aucun trouble ; un deuxième repiquage a été effectué sur MH (en stries). Au bout de 24 h d'incubation à 37°C, l'absence de développement bactérien confirme l'effet bactéricide et la développement bactérien confirme l'effet bactériostatique.

VIII 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, 1g 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.

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.

IX Activité antibiofilm :

Méthode de plaque de culture de tissus (TCP)

Elle a été décrite en 1985 par le groupe de recherche de Christensen, qui a pour but d'évaluer quantitativement la formation de biofilm.

À partir d'une culture pure et jeune de 24h, on ensemence 5 ml de TSB, qu'on incube à 37 ° C pendant 18 à 24h (Tré - *Hardy et al. 2*007). Après incubation des dilutions appropriées sont effectuées afin d'obtenir une suspension bactérienne équivalente à 10 % UFC / ml par ajustement de l'absorbance à 0.08-0.1 à une longueur d'onde de 630nm. Les puits stériles d'une microplaque de 96 puits (polystyrène) sont remplis avec 150µL de cette suspension bactérienne. Les puits de la colonne 12 servant de contrôle, sont remplis avec 150 µL de milieu TSB, Après incubation à 37 ° C pendant 24h en condition statiques, les puits de la microplaque sont vides de leur contenu puis laves trois fois consécutives avec 0.2 ml d'eau physiologique stérile pour éliminer les bactéries libres planctoniques.

Les cellules bactériennes adhérentes à la paroi interne des puits et formant un biofilm sont colorées par le cristal violet 0.1 % (m / v). Après 10 à 15 minutes, la solution de cristal violet est éliminée et les puits sont laves trois fois avec de l'eau distillée afin d'éliminer toute trace de colorant non fixe. Les microplaques renversées sont couvertes de papier absorbant et laissées sécher à la température ambiante pendant 15 minutes.

Enfin, les puits sont remplis de nouveau avec 150µL d'une solution d'éthanol (95 %) pour libérer le colorant fixe au sein des cellules emprisonnées dans le biofilm ainsi forme. La densité optiques (DO) de tous les puits sont déterminées par l'intermédiaire d'un lecteur ELIZA a une longueur d'onde 590 nm.

Selon les travaux de Christensen et al . (1985) et de Hola et Ruzicka . (2011) , les souches compte tenu de leur pouvoir adhérent , ont été classées en trois catégories : non adhérentes , faiblement adhérentes et hautement adhérente (*Stepanovic et al , 2000*) :

DO ≤ Dot (Témoin)	Non formatrice du biofilm
Dot × 2≤ DO ≤ Dot × 4	Modérée
Dot × 4 ≤ DO	Fortement formatrice du biofilm

Résultats et discussion

I. Evaluation de l'activité antibactérienne

I.1 Les testes de confirmation :

I.1.1 Teste de catalase :

Les résultats de teste catalase sur les bactéries à gram + et gram – (tableau V)

Tableau V: Teste catalase

Bactéries	*Staphylococcus aureus*	*Staphylococcus epidermidis*	*Candida albicans*	*streptococcus*
Teste de catalase	+	+	+	-

Bactérie	*Esherichia coli*	*Salmonella typhimurium*	*Citrobacter*	*Pseudomonas aerogenosa*	*proteus*	*Enterobacter cloacea*
Teste de catalase	+	+	+	+	+	+

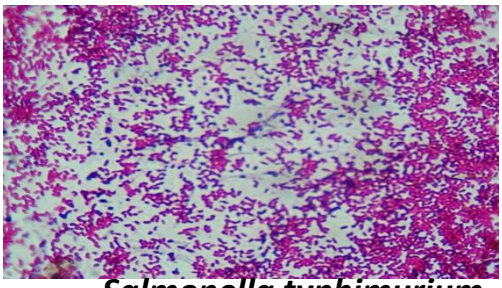


Figure 10: Teste catalase (échantillon).

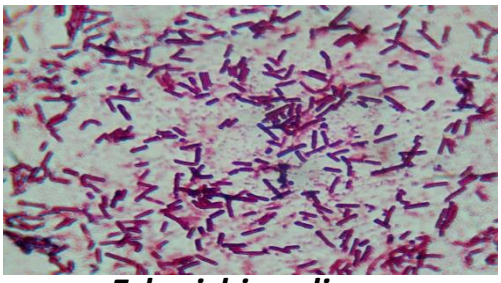
I.1.2 Coloration de Gram :

Tableau VI : caractéristiques des bactéries.

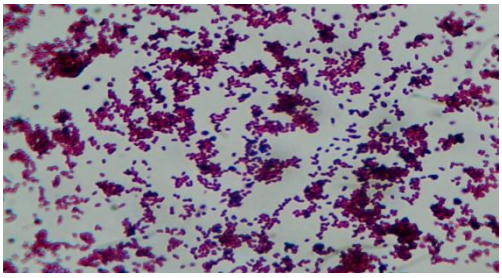
Bactéries	Gram	Mobilité	Forme
Staphylococcus aureus	+	immobile	cocci
Staphylococcus epidermidis	+	immobile	cocci
Candida albicans	+	-	bacille
streptococcus	+	immobile	cocci
Esherichia coli	-	mobile	bâtonnet
Salmonella typhimurium	-	mobile	bacille
Citrobacter	-	mobile	Bacille coccobacille
Pseudomonas aerogenosa	-	mobile	Bacille
proteus	-	mobile	Bacille
Enterobacter cloacea	-	mobile	bacille



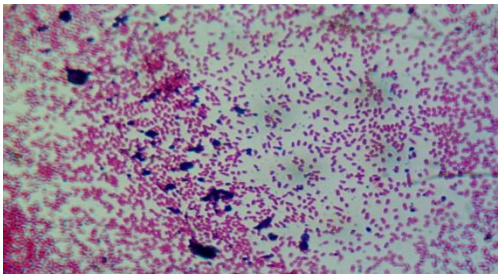
Salmonella typhimurium



Esherichia coli



Streptococcus



Citrobacter

Figure 11: coloration de gram de quelque bactérie.

I.1.3 Antibiogramme :

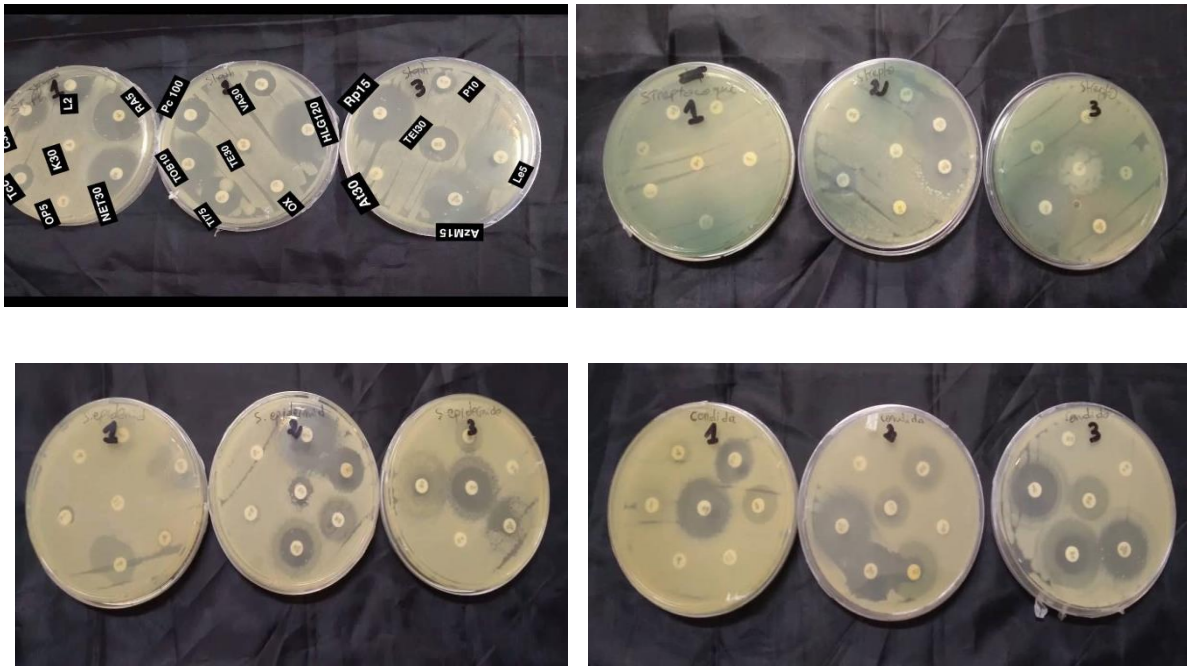


Figure 12: Les résultats d'antibiotiques testés vis-à-vis les souches bactériennes (Gram +) .

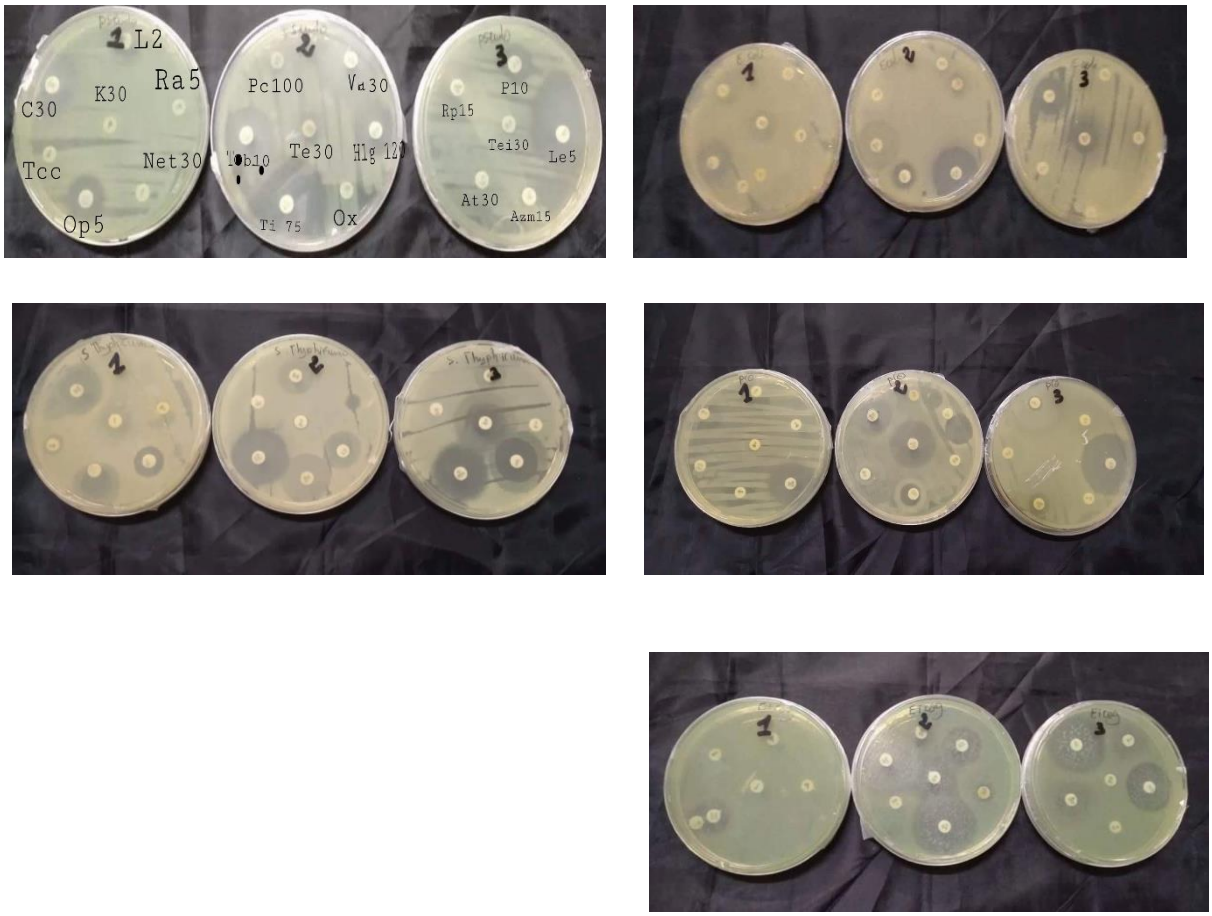


Figure 13: Les résultats d'antibiotiques testés vis-à-vis les souches bactériennes (Gram -)

Les résultats relatifs à l'antibiogramme des défférents antibiotiques utilisée sur dix souches bactériennes testées sont représentée dans diagramme à barre (figure) :

Pour *staphylococcus aureus* , *condida albicans* et *staphylococcus epidermidis* sont sensibles a tous les antibiotique qui on à utilisée avec une zone d'inhibition de 0.6 à 3.4 cm sauf que (OP ,TCC,OX,AT).

Pour *Escherichia coli* elle est sensible au les antibiotiques suivants (L2,C30,NET, VA,TOB,HLG, PC,TE,AZM, LE) avec une zone d'inhibition de 1à 2.8 cm avec un pic d'antibiotique (HLG) et résistante au autres .

Par rapport pseudomonas elle est preceque la même effet que *Escherichia coli* sauf que elle est résistante au deux antibiotiques (NET,L2).

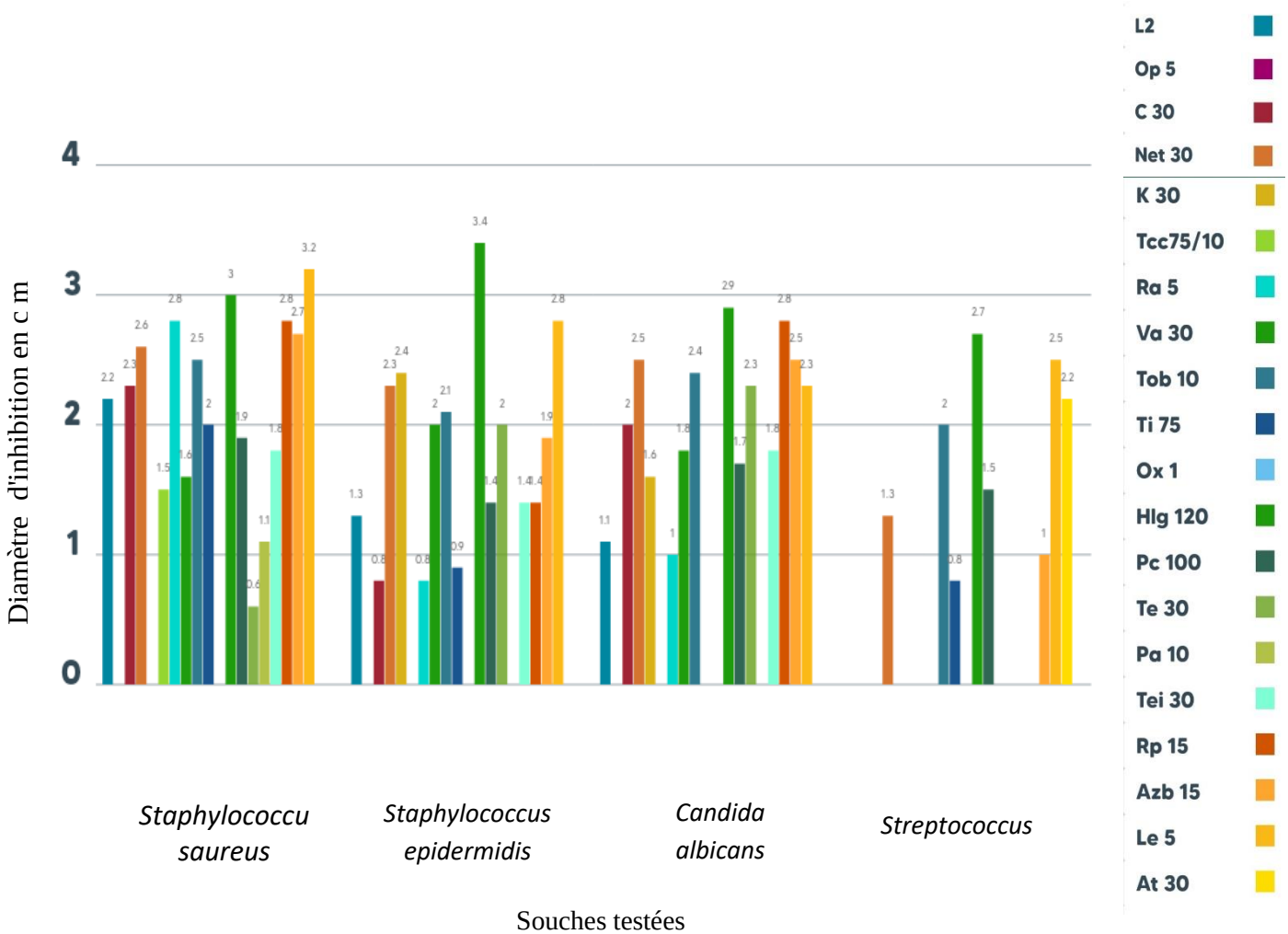


Figure 14 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes (Gram+).

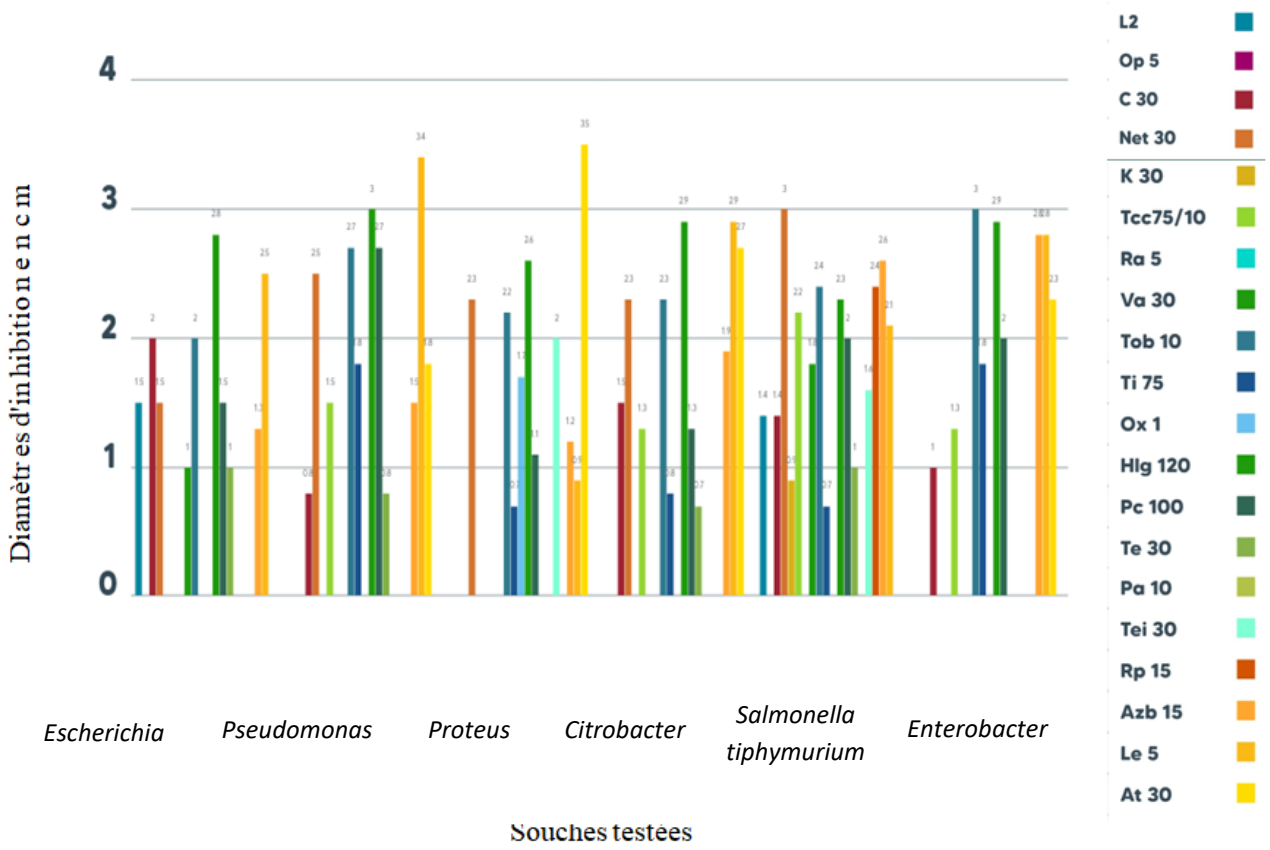


Figure 15 : Diamètres des zones d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes (Gram-).

Les souches de *Enterococcus faecalis* restent sensibles à l'ampicilline. Le taux de résistance de haut niveau à la gentamicine est stable aux alentours de 15 %. La résistance à la vancomycine est rare, présente chez seulement 0,2 % des souches d'hémocultures, mais la co-résistance à la gentamicine est en augmentation (55 %) et les quelques souches responsables d'épidémies ont été décrites comme appartenant au même complexe clonal CC2(***Bourdon ,2011***).

Escherichia coli d'origine aviaire résistantes aux antibiotiques d'utilisation courante en aviculture (Colistin et Enrofloxacin). (***Khribch .2017***) .

Staphylococcus aureus résistantes a la pénicilline 82,60% , la cefoxitine 78,26%, et des souches très sensibles a la vancomycine et teicoplanine 86,95% , la gentamicine 82,60% et une sensibilité modérée pour les autres types des antibiotiques, la spiramycine 47,82% ***(Aissou,2018)***.

II préparation des échantillons de miel



Figure 16:dilution des échantillons de miel**.**

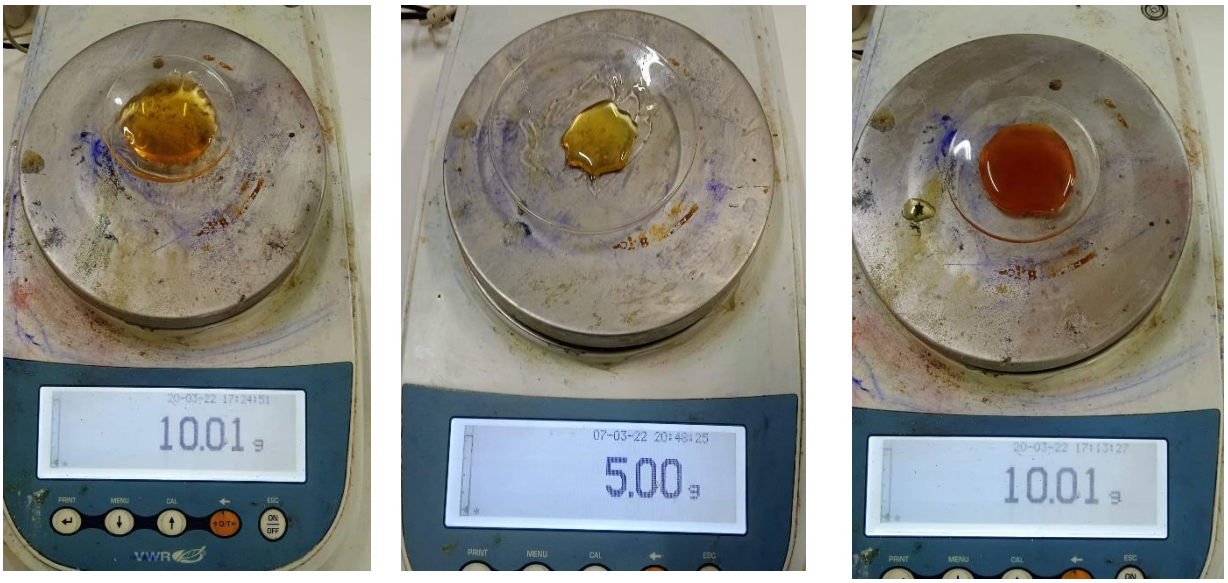


Figure 17: préparation des échantillons de miel**.**

II.1 Méthode des puits de diffusion :

L'effet antibactérien de trois types de miels sont étudiées sur dix types de souches bactériennes en utilisant 100µl de chaque dilution.

Echantillon 1(miel d'euphorbe) :

Tableau VII : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion1).

	Echantillon 1(miel d'euphorbe)				
	Pure	25%	50%	75%	100%
Proteus	35mm	0	28mm	30mm	35mm
Salmonella tiphymurium	42mm	23mm	27mm	30mm	40mm
Pseudomonas	43mm	28mm	30mm	33mm	40mm
Citrobacter	43mm	0	20mm	35mm	30mm
Escherichia coli	0mm	0mm	0mm	0mm	0mm
Candida albicans	35mm	0mm	33mm	35mm	0mm
Streptococcus	40mm	12mm	23mm	15mm	27mm
Enterobacter	0	0	0	0	0
Staphylococcus aureus	40mm	0	0	29mm	30mm
Staphylococcus epidermidis	30mm	0	0	0	0

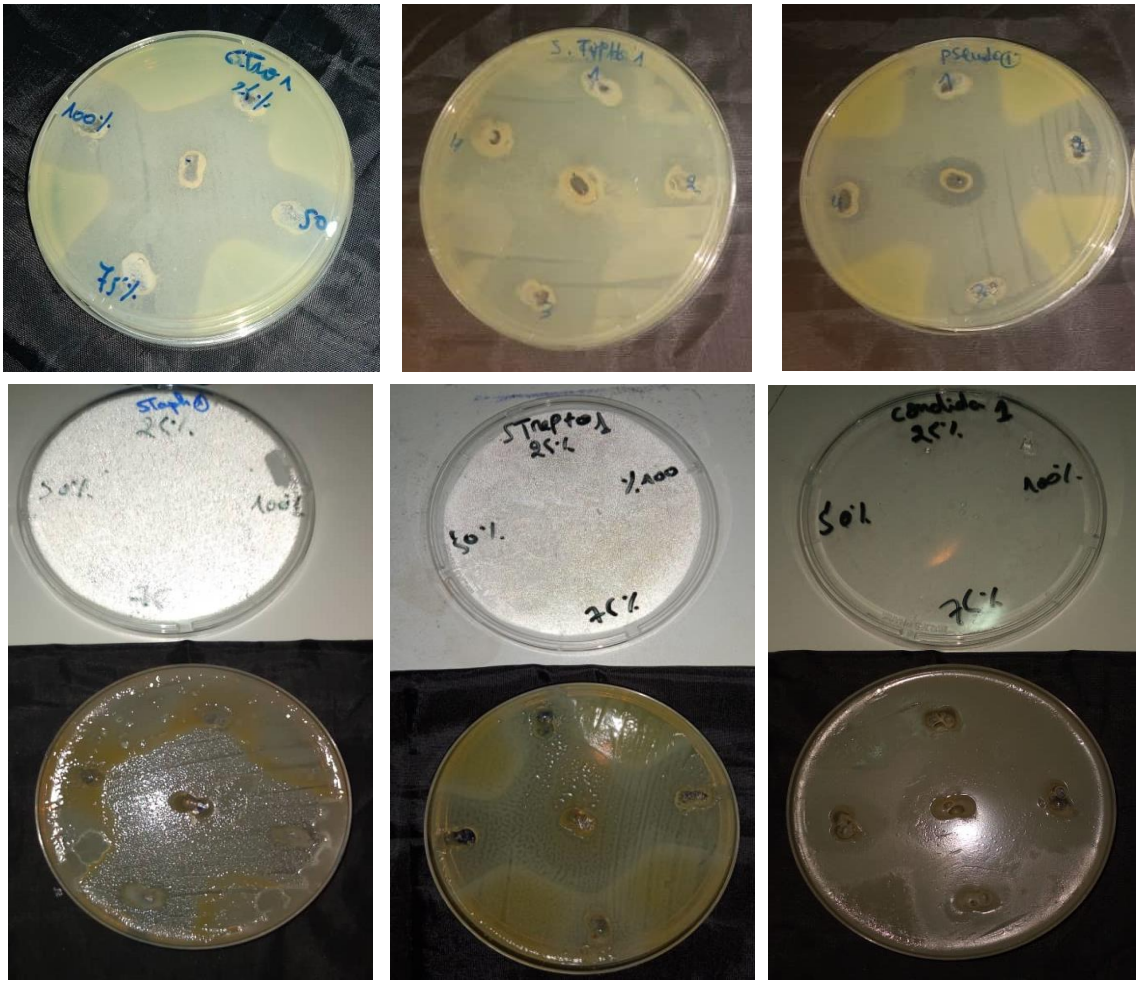


Figure 18: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées (échantillon 1).

Echantillon 2(miel de montagne) :

Tableau VIII : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion2).

	Echantillon 2(miel de montagne)				
	Pure	25%	50%	75%	100%
Proteus	30mm	22mm	28mm	29mm	30mm
Salmonella tiphymurium	45mm	25mm	30mm	35mm	45mm
Pseudomonas	40mm	18mm	30mm	39mm	40mm
Citrobacter	39mm	0	25mm	32mm	35mm
Escherichia coli	30mm	23mm	26mm	20mm	19mm
Candida albicans	40mm	25mm	26mm	33mm	35mm
Streptococcus	35mm	15mm	22mm	30mm	33mm
Enterobacter	25mm	0	0	12mm	20mm
Staphylococcus aureus	45mm	30mm	33mm	38mm	39mm
Staphylococcus epidermidis	40mm	0	20mm	35mm	30mm

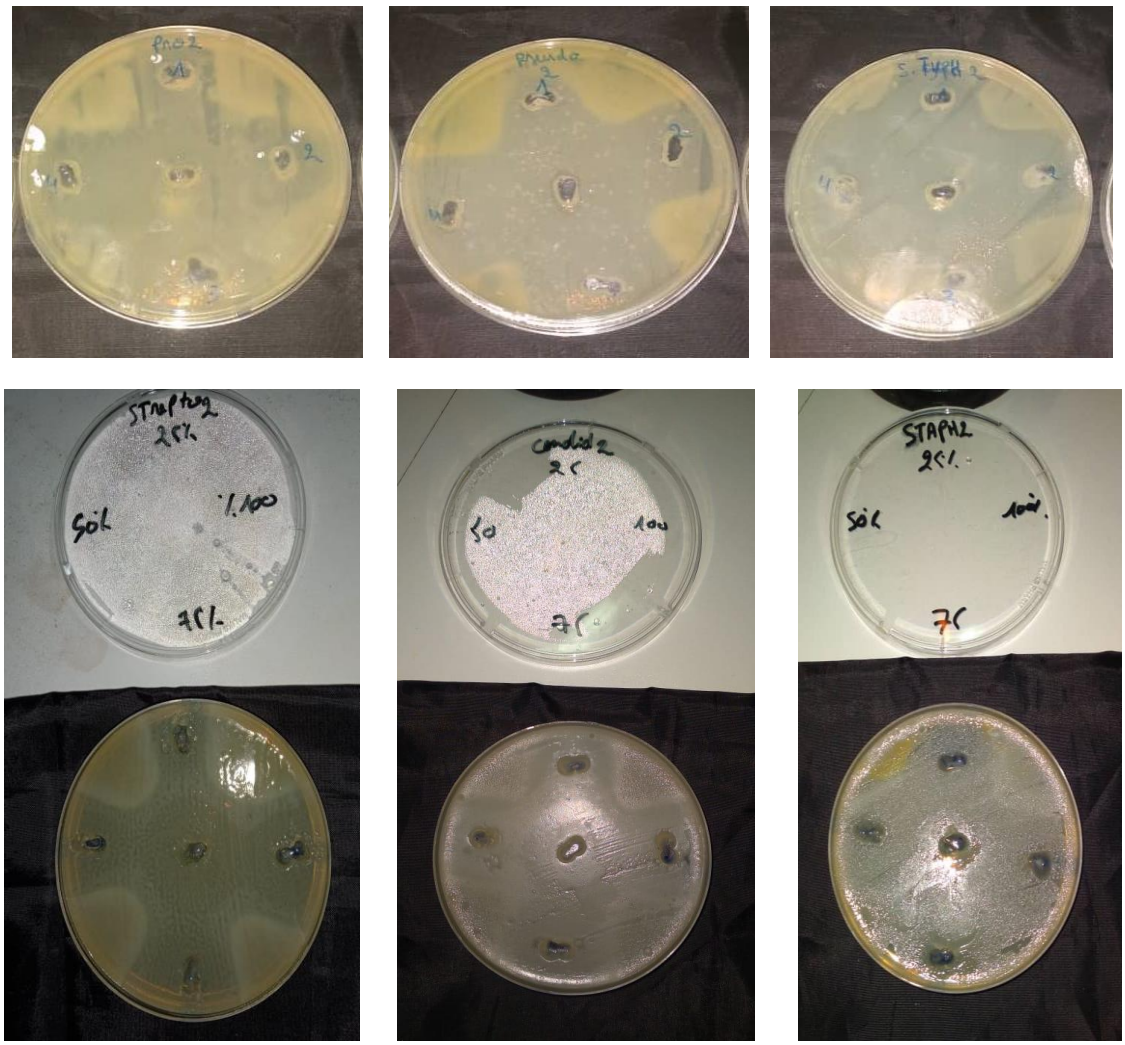


Figure 19: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées (échantillon 2).

Echantillon 3(miel de jujubier) :

Tableau IX : Diamètres des zones d'inhibition (puits) générés par des puits rempli du miel, sur les souches testée (échantillion3).

	Echantillon 3(miel de jujubier)				
	Pure	25%	50%	75%	100%
Proteus	40mm	30mm	22mm	35mm	40mm
Salmonella tiphymurium	40mm	26mm	30mm	33mm	37mm
Pseudomonas	50mm	39mm	38mm	43mm	44mm
Citrobacter	40mm	24mm	31mm	35mm	36mm
Escherichia coli	30mm	0	13mm	25mm	35mm
Candida albicans	43mm	35mm	35mm	40mm	40mm
Streptococcus	39mm	25mm	30mm	30mm	37mm
Enterobacter	70mm	0	25mm	26mm	12mm
Staphylococcus aureus	50mm	40mm	43mm	48mm	50mm
Staphylococcus epidermidis	40mm	28mm	30mm	30mm	38mm

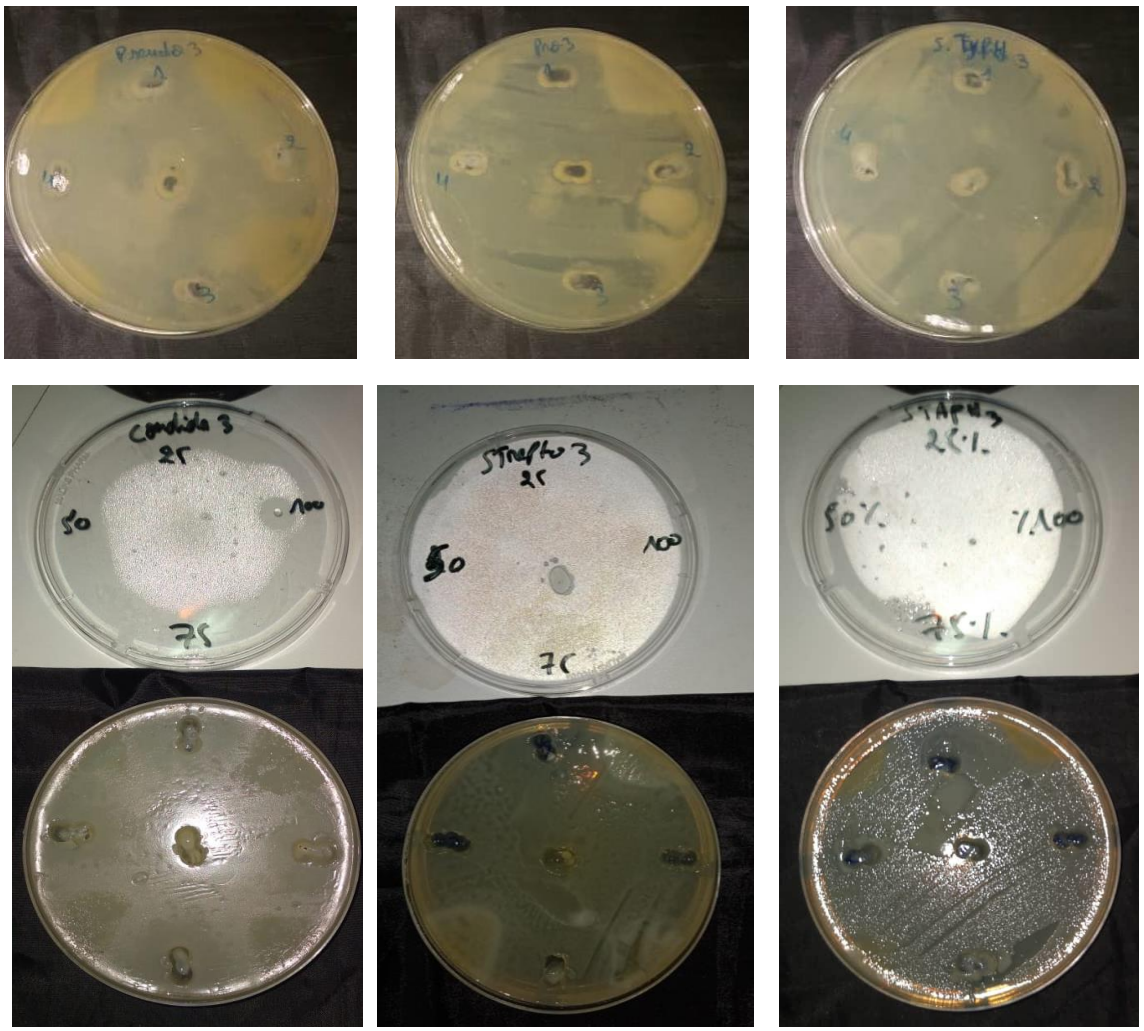


Figure 20: Diamètres des zones d'inhibition en photos vis-à-vis les souches testées (échantillon 3).

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des différentes dilutions des trois miels sur les dix souches bactériennes testées, sont représentés dans les tableaux (VII.VIII.IX) et illustrés par les figures (21.22.23).

Concernant les bactéries de (Gram +) :

L'échantillon 1: possède un effet antibactérien sur les deux bactéries *(Candida albicans* et *Streptococcus*) avec une moyenne zone d'inhibition a partir de (12mm) et les deux autres bactéries (*Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*) sont résistées pour les quartes dilutions et fait une zone pour les deux puits du miel pure

l'échantillon 2 : possède un effet antibactérien sur (*Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*;*Candida albicans* et *Streptococcus*) avec une moyenne zone d'inhibition de(+15mm)

l'échantillon 3 : possède un effet antibactérien sur (*Staphylococcus aureus*; *Staphylococcus epidermidis*;*Candida Albicans* Et *Streptococcus*) avec une meilleure zone d'inhibition de(+30mm).

Concernant les bactéries de (Gram -) :

l'échantillon 1 :concernant les deux bactéries (*Escherichia coli* ;*Enterobacter*) sont résistées et les autre bactéries (*Proteus ;Salmonella Typhimurium ;Pseudomonas ;Citrobacter*) sont faisaient un effet antibactérien avec une zone d'inhibition a partir de 20mm .

L'échantillon 2 : possède un effet antibactérien avec une moyenne zone d'inhibition de (+12mm) .

l'échantillon 3 : possède un effet antibactérien sur (*Proteus ;Salmonella Typhimurium ; Pseudomonas ;Citrobacter ;Enterobacter*) avec une meilleure zone d'inhibition de (+25mm).

D'après(*Bouchama et al .2014*) 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 testées ont l'effet le plus important. La souche S. aureus est moyennement sensibles à l'effet des échantillons alors que P. aeruginosa qui peut être considérer relativement résistante.

II.2 Méthode de spectrophotométrie

Tableau X : Résultats de spectrophotométrie des échantillons de miel.

Bactéries	Echantillon 1(miel d'euphorbe)					Echantillon 2(miel de montagne)					T^-/T^+	
	Pure	25%	50%	75%	100%	Pure	25%	50%	75%	100%	Milieu BHIB	L'eau Nacl
Proteus	0.865	1.276	1.210	0.516	1.190	0.585	1.155	1.169	0.720	0.974	1.134	0.047
Salmonella tiphymurium	1.134	0.891	0.853	0.736	1.237	0.272	0.564	0.526	0.405	0.506	1.089	0.044
Pseudomonas	1.105	1 .170	1 .102	1.093	1.104	1.014	1.027	0 .778	0.706	0.681	1.108	0.056
Citrobacter	0.753	1.256	1.360	1.283	1.331	0.309	1.561	1.373	1.463	0.231	1.138	0.042
Escherichia coli	1.142	0.954	0.941	0.893	1.252	0.292	0.773	0.636	0.556	0 .548	1.026	0.043
Candida albicans	0.901	1.113	1.153	0.572	1.190	0.226	1.221	1.295	1.125	0.795	1.075	0.043
Streptococcus	1.025	1.230	1.341	1.193	1.382	0.220	1.083	1.238	1.246	1.139	1.204	0.037
Enterobacter	1.283	1.503	1.525	1.469	1.264	0.214	1.269	1.316	1.299	0.893	1.017	0 .040
Staphylococcus aureus	1.105	1 .086	1 .213	0.658	1 .355	0.410	0.908	1.098	0.749	0.680	1.112	0.048
Staphylococcus epidermidis	1.223	1 .026	1.355	0 .586	1 .112	0.334	0.907	0.975	1.092	1 .190	1.143	0.049

Bactéries	Echantillon 3(miel de jujubier)					T^-/T^+	
	Pure	25%	50%	75%	100%	Milieu BHIB	L'eau Nacl
Proteus	0.912	1.065	1.041	0.787	1.061	0.070	0.036
Salmonella tiphymurium	0.310	0.607	0.488	0.445	0.627	0.068	0.072
Pseudomonas	0.554	0.969	0.944	0.894	0.859	0.037	0.035
Citrobacter	1.249	1.098	1.204	0.547	0.314	0.033	0.032
Escherichia coli	0.280	0.984	1.215	0.230	0.267	0.075	0.039
Candida albicans	0.280	0.766	1.295	0.220	0.346	1.044	0.039
Streptococcus	1.226	0.956	1.120	0.249	0.971	0.055	0.041
Enterobacter	0.275	1.311	1.109	1.080	1.203	1.203	0..037
Staphylococcus aureus	0.525	1.270	0.673	0.351	0.361	0.036	0.041
Staphylococcus epidermidis	0.363	1.430	1.164	1.347	1.327	1.271	0.037

L'utilisation d'un spectrophotomètre va nous permettre d'affiner et de confirmer les derniers résultats obtenus par la méthode de diffusion par puis ; L'inspection visuelle du point final peut ne pas être précise en raison d'impuretés dans les miels qui pourraient entraîner des erreurs et une détermination imprécise des niveaux de CMI, mais cela est surement par lecture spectrophotométrique.

Depuis(***Akinduti et al .2019***) Parmi tous les miels utilisés, le miel de faible CMI 31,25 et 125mg/ml a montré plus de 90% taux d'inhibition (soit 90,3%) qui est considéré comme MIC. Ceci est très définitif et précis pour donner la concentration ou dilution de miel capable d'inhiber efficacement les souches bactériennes. Dans la projection de l'activité antimicrobienne du miel, la méthode spectrophotométrique sur microplaque a fourni une méthode utile technique pour

déterminer les CMI et également pour un grand nombre d'échantillons d'essai, nécessitant de petites quantités de substances; cela peut être particulièrement important si la quantité de produit naturel est faible

III Extraction des composes phénolique

Une extraction est réalisée avec un solvant (éthanol) qui entre dans la composition de plusieurs préparations thérapeutiques (***Park et al., 1998***). Son efficacité dans l'étude de l'activité antibactérienne est confirmée (***Rhajaoui et al., 2001; Park et al., 200***2). Il s'évapore facilement et solubilise les composants actifs des produits (***Krell, 1996***).

III .1 Rendement d'extraction des composés phénoliques :

Le rendement de l'extraction éthanolique est déterminé par le calcul de la division de la masse d'extrait après la vaporisation sur la masse initial de chaque produits :R%=M/M0

- R (%) : Rendement exprimé en pourcentage % .
- M : Masse en gramme de l'extrait sec résultant .
- M0 : Masse initial en gramme de chaque produits.

Produits	Poids de l'extrait sec(M) (g)	Poids initial (M0) (g)	Rendement (%)
Miel 1	2.49g	10g	24.9
Miel 2	0.78g	10g	7.8
Miel 3	1.44g	10g	14.4
Propolis	0.59g	10g	5.9

Tableau XI : Taux d'extraction et Rendement (%) obtenues.

Les résultats obtenus montrent que le rendement le plus grand est marqué chez le miel 1 avec 24.9%puis le miel 3 avec 14.4 % et le miel 2 avec un rendement de 7.8% et en fin la propolis avec 5.9%. par rapport aux résultats obtenus par BOUDA et BOUNAB , 2017 on constate que la propolis a un rendement plus faible que les autre produits

III .2 Dosage des polyphénols totaux :

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux des extraits éthanoliques des quatre produits de la ruche ont été exprimées. Les teneurs en polyphénols totaux sont illustrées dans la figure (21).

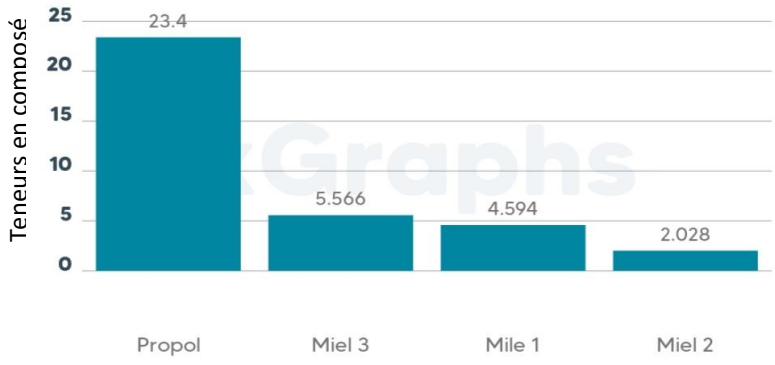


Figure 21: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits éthanoliques.

La propolis présente la teneur la plus élevée en composés phénoliques (23.4gEAG/100g) suivi par le miel 3 (5.566gEAG/100g) ; le miel 1 et le miel 2 possèdent des teneurs relativement faibles en ces composés avec (4.594gEAG/100g) et (2.080gEAG/100g)

Mouhoubi-Tafinine et al., (2016), ont rapporté des teneurs en composés phénoliques de la propolis (5,351g EAG/100g) inférieures à celles obtenus dans notre étude. De même Blanc et al. (2009), ont rapporté des teneurs en polyphénols du pollen (2,938 g EAG/100g). Ces variations dans les teneurs en composés phénoliques seraient en relation avec l'origine botanique et l'année de récolte (***Hegazi , 2000***)

Des valeurs de polyphenols plus importantes ont été rapportées par Ouchemoukh et al., (2007). Cette variation prouve que le taux en polyphénols varie en fonction de la source florale du miel, ainsi que des conditions climatiques et géographiques.

IV Aromatogramme

Les résultats de l'activité antibactérienne sont exprimés par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues (mm).

IV .1 Lecture des aromatogrammes :



Figure 22: activité antibactérienne (miel, propolis ,gelée royale) sur les bactéries

(Pseudomonas ; Staphylococcus aureus ; Proteus).

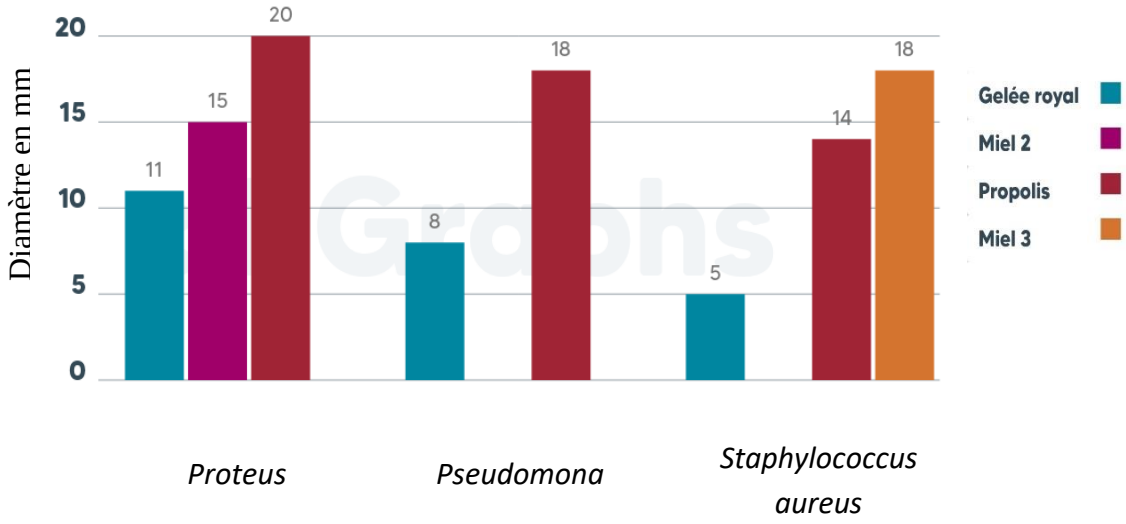


Figure 23: Diamètres des zones d'inhibition vis-à-vis les souches bactériennes testées.

Les résultats obtenu par l'application de trois bactéries en différents Gram *(Pseudomonas ;Staphylococcus aureus ;Proteus*)

Touts les échantillons (propolis ; gelée royale ; miel type 3 ; miel type2) ont un effet d'inhibition sauf le miel de type1.

D'après ces résultats nous constant bien que les deux miels (1 et 3) la gelée royal et le propolis ont un effet antibactérien avec des halos d'inhibitions allant de 5mm à 20 mm .

Pour la bactérie *Proteus* produit une zone d'inhibition de 13mm à 20 mm et la bactérie *Staphylococcus Aureus* elle produit une zone d'inhibition de 5mm à18 mm et la bactérie *Pseudomonas* produit une zone d'inhibition de 5mm à 17mm .

Donc pour proteus elle est très sensible par rapport nous échantillons ainsi que *Staphylococcus Aureus* et *Pseudomonas* sont très sensible par rapport nous échantillons.

V Étude de la synergie entre extrait de miel et antibiotiques, miel/propolis, miel/gelée royale, propolis/gelée royale

La synergie est l'amélioration de l'activité individuelle de deux composés différents une fois combinés. Si la combinaison entraîne un effet détérioré, on parlera alors d'antagonisme. L'effet moins synergique mais non antagoniste est appelé addition ou indifférence (***Rani et al., 2009***).

Tableau XII : Résultats de synergie (extrait1).

	S.Epi	pro	Salmo	ecoli	citro	s.aureus	pseudo	candida	entero	Strep	ATB	DMSO
ATB+ex3	0.508	0.543	0.616	0.516	0.547	0.738	0.731	0.733	0.774	0.654	0.049	0.045
ATB+ex2	0.403	0.369	0.381	0.464	0.523	0.554	0.540	0.558	0.608	0.605	0.047	0.044
ATB+ex1	0.454	0.458	0.453	2.084	0.479	0 .474	0.493	0.388	0.482	0469	0.048	0.067
exPP+ex1	2.1	2.158	1.156	2.084	2.151	2.229	2.269	2.391	2.268	2.317	0.048	0.53
exPP+ex2	2.368	2.399	1.851	2.171	2.191	1.872	1.997	2.441	2.233	2.258	0.044	0.047
exPP+ex3	2.205	2.068	2.267	2.344	2.265	2.027	1.853	1.619	1.852	1.972	0.049	0.040
ATB+exp	1.027	1.120	1.134	1.269	1.131	1.111	1.152	0.864	0.685	0.791	0.044	0.045
PP+gr	2.540	2.417	2.532	2.511	2.414	2.527	2.373	2.308	2.265	2.321	0.041	0.041

*ATB Antibiotique / ex extrait de miel /PP Propolis /gr gelée royale *

Tableau XIII: Résultats de synergie (extrait 2).

	S.Epi	pro	Salmo	ecoli	citro	s.aureus	pseudo	candida	entero	Strep	ATB	DMSO
ATB+GR	1.228	1.429	1.471	1.436	1.291	1.316	1.422	1.514	1.645	1.504	0.045	0.052
GR+ex1	1.015	1.285	1.321	1.240	1.207	1.218	1.314	1.291	1.180	1.826	0.053	0.042
GR+ex2	1.266	1.167	1.484	1.342	1.373	1 .044	1.422	1.222	1.191	1.264	0.045	0.039
ATB+PP	2.198	1.851	1.915	1.901	1.815	1.775	1.838	1.778	1.769	1.792	0.489	0.040
ATB+M3	0.301	0.355	0.275	0.368	0.409	0.432	0.269	0.485	0.347	0.260	0.119	0.040
GR+M3	1.207	1.490	1.353	1.239	1.486	1.341	1.460	1.186	1.124	1.201	0.072	0.050
PP+M3	2.361	2.379	2.309	1.957	2.318	2.376	2.316	2.326	2.418	1.267	0.075	0.048
GR+ex 3	1.486	1.536	1.648	1.430	1.643	1.642	1.587	1.630	1.746	1.651	0 .329	0.056

*ATB Antibiotique / ex extrait de miel /PP Propolis /gr gelée royale *

Chaque extrait éthanolique du miels ,de propolis et de la gelée royale a été combiné avec l'antibiotique (gentamicine) pour déterminer la capacité éventuelle des extraits éthanoliques à augmenter l'effet antibactérien.

Nous avons constaté que le miel collecté à partir de Médéa inhibe les cultures microbiennes. De plus, les cultures microbiennes d'agents pathogènes humains augmentent leur sensibilité au miel. Des résultats similaires ont été obtenus dans la présente étude; les cultures microbiennes augmentent la sensibilité des micro-organismes à la fois à la propolis et au miel. Une grande réduction a été obtenue dans la croissance des souches bactériennes lorsqu'il est cultivé dans le mélange (ATB+les 3 extraits de miels) et(ATB+Miel 3) pure par contre les extrait de(propolis +les trois extrais de miel) et le mélange de (propolis + gelée royale).

nombreuses études suggérant que la propolis exerce une forte activité anti-bactérienne Le mécanisme de l'activité antimicrobienne de la propolis est complexe et pourrait être attribué à l'activité synergique entre ses divers ingrédients biologiques puissants tels que les composés phénoliques et les flavonoïdes (***Krol et al.1993*****).**

Fondamentalement, les propriétés antimicrobiennes de la propolis sont lié à l'effet synergique de ses différents composés **(*Santos et al .2002***) De nombreux facteurs influencent l'activité antibactérienne de la propolis, tels que l'origine de la propolis, les espèces d'abeilles et la préparation de l'extrait. La propolis autrichienne a une activité puissante contre *Condida albicans* et la propolis allemande était active contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* (***Hegazi et al.2000***).

VII Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique

Les antibiotiques se définissent comme étant « une substance chimique produite par un microorganisme qui tue ou inhibe la croissance d'un autre microorganisme » (*Madigan et al., 2009*). Ceci s'applique également aux produits naturels tels que les produits de la ruche (*Cherbuliez and Domerego, 2003*).

La figure 26 présente les résultats du test de l'activité bactéricide ou bactériostatique de nos extraits sur les souches testées.

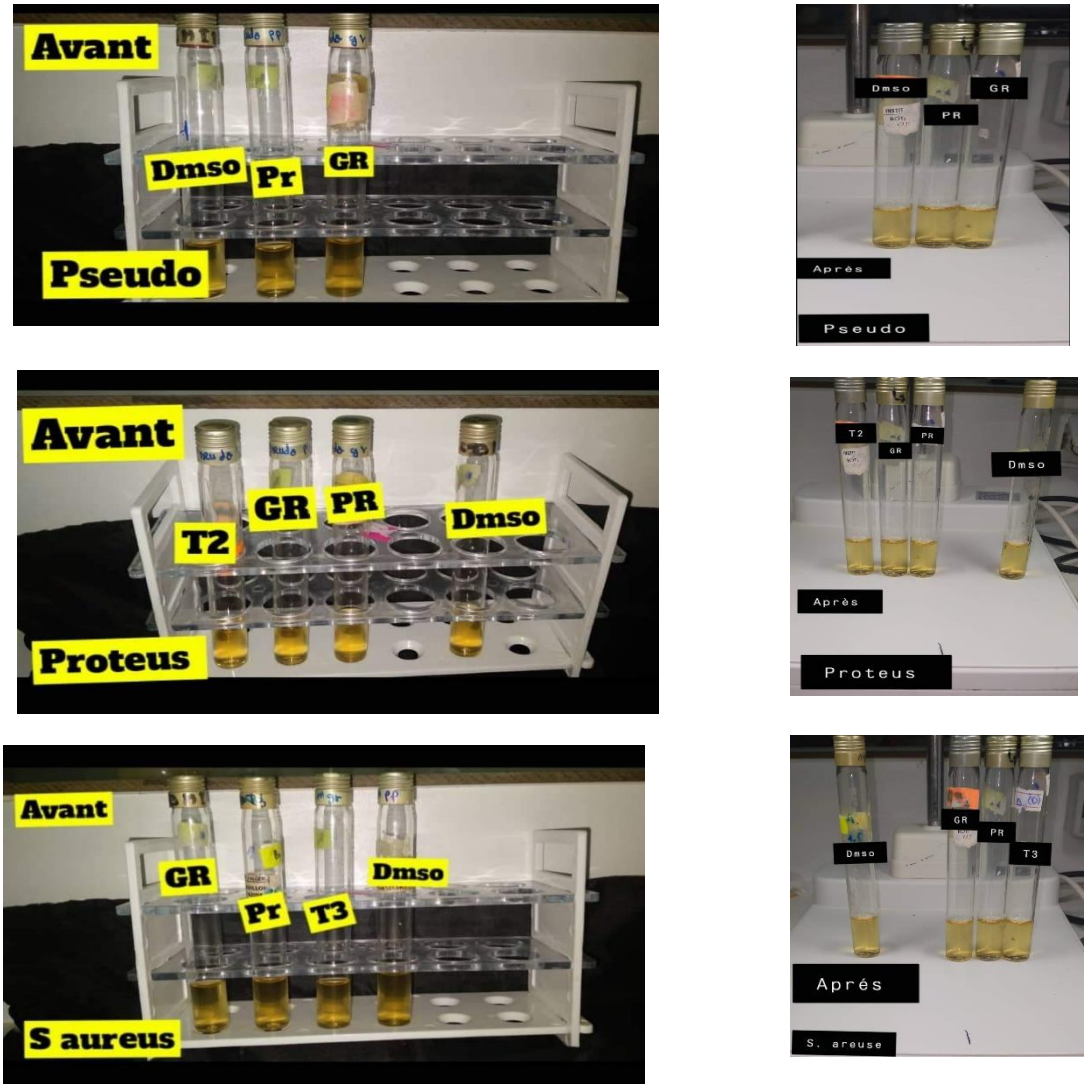


Figure 24 : les résultats du test de l'activité bactéricide ou bactériostatique.

A l'issue des deux périodes d'incubation, il a été constaté que l'extrait éthanolique de la propolis la gelée royale et les trois types de miels possède une activité bactéricide vis-à-vis les souches testées confirmé par l'ensemencement sur milieu solide.

VIII Détermination de la CMI (Concentration Minimale Inhibitrice)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée par la méthode de dilution sur milieu solide. Les résultats sont résumés dans le tableau (XIV).

Tableau XIV : concentration minimale inhibitrice (miel 3 ;Propolis ;Gelée royale).

Bactérie / produit	S.epi	pro	Salmo	ecoli	citro	s.aureus	pseudo	candida	entero	strep
miel 3	2.22±0	1.86±0	2.26±0	2.33±0	1.99±0	2.85±0	2.74±0	2.77±0	1.91±0	1.76±0
Propolis	1.74±0	0.82±0	0.59±0	0.59±0	3.00±0	0.47±0	2.60±0	3.00±0	0.58±0	0.45±0
Gelée royale	1.52±0	2.31±0	1.41±0	1.52±0	1.91±0	1.48±0	2.47±0	2.37±0	1.39±0	2.68±0

La meilleure CMI est observé avec miel 3 contre les souches *Proteus* et *Streptococcus* avec une valeur de 1.76 g /ml .

La meilleure CMI est observée avec propolis contre *Streptococcus ; Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec une valeur de 0.45 g/ml .

La meilleure CMI est observée avec la gelée royale contre *Escherichia coli* ; *Staphylococcus aureus* ;*Salmonella tiphymurium* ;*Enterobacter* ;*Staphylococcus epidermidis* ;avec une valeur 1.39 g/ml.

La CMI la plus élevée 2.85 g/ml enregistrée avec le miel 3 contre *Staphylococcus aureus*. La CMI la plus élevée 3 g/ml enregistrée avec la propolis contre *Citrobacter* et *Candida albicans*. La CMI la plus élevée 2.68 g/ml enregistrée avec la gelée royale contre *Streptococcus* .

La comparaison des valeurs des CMI de l'extrait éthanolique de la propolis obtenus, avec d'autres résultats déjà publiés montre que notre produit est plus actif sur *Staphylococcus aureus* que celui de l'Egypte une (CMI de 2,2g/ml) (***Hegazi et al., 2000).***

ASSIE. (2004), a révélé que les espèces les plus sensibles étaient : *Streptococcus pyogènes*, *Staphylococcus aureus*, et *Escherichia coli*.

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 *Escherichia 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, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*.

KWAKMAN et al. (2008) ont étudié l'effet d'un échantillon de miel médical « REVAMIL » vis-à-vis des isolats résistants aux antibiotiques : *Staphylococcus aure*us, *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).

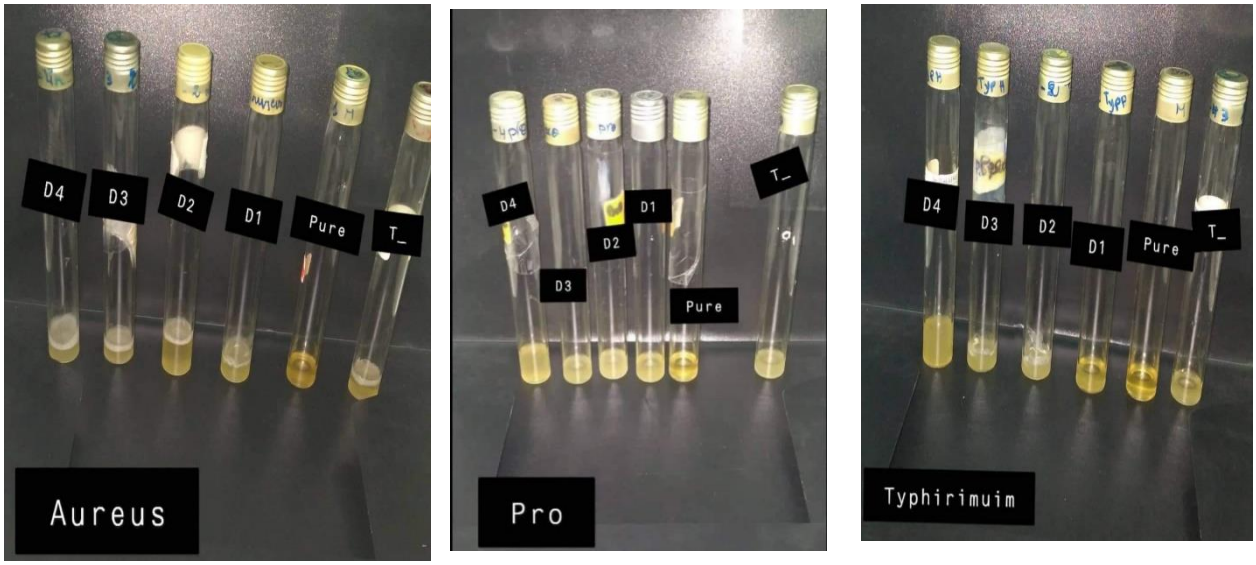


Figure 25 : la gamme de dilutions.

IX Activité antibiofilm

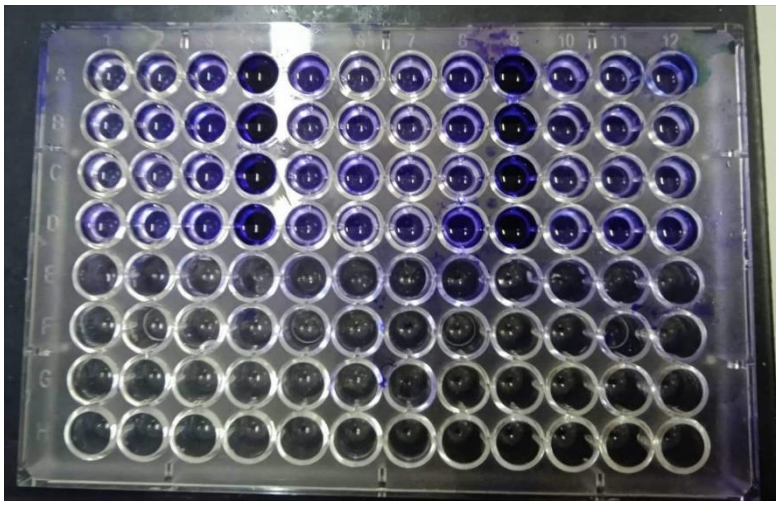


Figure 26 : La microplaque.

Tableau XV : Les résultats obtenus par la méthode de plaque de culture de tissus (TCP).

Staph t1 0.244	Staph t2 0.352	Staph t3 0.663	Staph PP 4.00	Staph gr 1.016	Staph t1 0.295	Staph t2 0.551	Staph t3 0.726	Staph PP 3.844	Staph gr 0.643	Bactérie 0.481	TSB 0.383
Pseudo t1 0.249	Pseudo t2 0.640	Pseudo t3 1.409	Pseudo PP 4.00	Pseudo gr 0.418	Pseudo t1 0.731	Pseudo t2 0.371	Pseudo t3 0.802	Pseudo PP 4.00	Pseudo gr 0.616	Bactérie 0.589	TSB 0.332
Staph t1 0.247	Staph t2 0.640	Staph t3 0.744	Staph PP 3.865	Staph gr 0.628	Staph t1 0.847	Staph t2 0.439	Staph t3 0.445	Staph PP 3.952	Staph gr 0.433	Bactérie 0.441	TSB 0.398
Pseudo t1 0.401	Pseudo t2 0.457	Pseudo t3 0.770	Pseudo PP 3.789	Pseudo gr 0.524	Pseudo t1 0.567	Pseudo t2 0.500	Pseudo t3 2.207	Pseudo PP 3.728	Pseudo gr 0.533	Bactérie 0.752	TSB 0.530
Staph t1 0.103	Staph t2 0.206	Staph t3 0.126	Staph PP 0.114	Staph gr 0.142	Staph t1 0.086	Staph t2 0.115	Staph t3 0.168	Staph PP 0.195	Staph gr 0.125	Bactérie 0.259	TSB 0.169
Pseudo t1 0.086	Pseudo t2 0.061	Pseudo t3 0.218	Pseudo PP 0.072	Pseudo gr 0.071	Pseudo t1 0.078	Pseudo t2 0.087	Pseudo t3 0.062	Pseudo PP 0.065	Pseudo gr 0.064	Bactérie 0.199	TSB 0.069
Staph t1 0.063	Staph t2 0.063	Staph t3 0.069	Staph PP 0.066	Staph gr 0.073	Staph t1 0.071	Staph t2 0.080	Staph t3 0.072	Staph PP 0.078	Staph gr 0.061	Bactérie 0.065	TSB 0.064
Pseudo t1 0.069	Pseudo t2 0.075	Staph t3 0.069	Pseudo PP 0.063	Pseudo gr 0.084	Pseudo t1 0.065	Pseudo t2 0.071	Pseudo t3 0.072	Pseudo PP 0.059	Pseudo gr 0.072	Bactérie 0.085	TSB 0.077

En se basant sur les résultats du test antibactérien, les extraits de nos produits ont été choisis pour tester leur effet sur l'élimination de biofilm de *Staphylococcus aureus* et *pseudomonas* . Les trois types de miels ne sont pas des producteurs de biofilms de s.aureus et même de *pseudomonas* , par contre , la gelée royale et la propolis sont des producteurs modérés .

Les bactéries productrices de biofilms sont intrinsèquement résistantes aux agents antimicrobiens ***(Donlan & Costerton.2002)*** et la sensibilité des bactéries biofilms aux agents thérapeutiques actuels reste faible.

Actuellement, Les recherches se concentrent sur le développement d'agents anti-biofilm qui ne sont pas toxiques, car on pense que ces molécules ne seront pas conduire à une future résistance aux médicaments(***Rabin et al.2015***). Des recherches visant de nouvelles.

Les anti-biofilm provenant principalement des produits apicoles ont longtemps vénérés pour leur guérison. Les propriétés anti-biofilm de les produits apicoles en tant qu'agent antibiotique naturel ont été largement étudié. Fortes activités antibactériennes de la propolis et

du miel contre les bactéries Gram-positives et Gram-négatives ont été rapporté(***Lu et al.2014).*** De plus, plusieurs enquêteurs ont examiné les effets du miel et de la propolis sur les biofilms. Campeau and Patel(***Campeau & Patel.2014).***

Conclusion et perspectives

Le travail réalisé sur les quatre produits de la ruche (gelée royale, miel, et propolis) , a permis la mise en évidence de l'effet antibactérien des extraits éthanoliques de ces trois produits sur quelques souches bactériennes. Ce travail a permis de dégager les concluions suivantes :

Les résultats obtenus concernant l'activité antibactérienne de nos échantillons testé par la méthode de diffusion sur gélose (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 témoigne que la combinaison entre chacun des 3 miels (d'euphorbe, de montagne et de jujubier) avec de la propolis en poudre et de la gelée royale augmente l'activité antibactérienne de ces échantillons.

On constate que le miel d'euphorbe possède un effet antibactérien sur les deux bactéries (*Candida Albicans* et *Streptococcus)* le miel de montagne possède un effet antibactérien sur (*Staphylococcus aureus ; Staphylococcus epidermidis ;Candida albicans et Streptococcus)* et le miel de jujibier un effet antibactérien sur (*Staphylococcus aureus ; Staphylococcus epidermidis ;Candida albicans et Streptococcus*)et s'est pour les Gram (+) par contre les Gram (-) en constate que le miel d'euphorbe possède un effet antibactérien (*Proteus ;Salmonelle tiphymurium ;Pseudomonas ;Citrobacter*) le miel de montagne possède un effet antibactérien avec une moyenne zone d'inhibition de (+12mm) et le miel de jujibier un effet antibactérien sur(*Proteus ;Salmonella tiphymuruim ;Pseudomonas ;Citrobacter ; Entérobacter*).

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.

Tous les produits étudiés renferment des composés phénoliques à des concentrations bien différentes.

L'étude de l'activité bactéricide et/ou bactériostatique des extraits éthanoliques a montré que tous les extraits de nos prduits étaient bactéricides.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à la compréhension de la qualité des produits de la ruche et leur implication dans la santé individuelle et collective des abeilles, mais également de l'homme. Ils nous ont permis également de mettre en avant les produits de la ruche locaux et de comparer leurs efficacités à ceux d'autres régions du monde.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à la compréhension de la qualité des produits de la ruche et leur implication dans la santé individuelle et collective des abeilles, mais également de l'homme. Ils nous ont permis également de mettre en avant les produits de la ruche locaux et de comparer leurs efficacités à ceux d'autres régions du monde.



Afin de compléter le présent travail, des études complémentaires peuvent être envisagées à savoir :

° Evaluer l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des différentes maladies.

° Etudier d'autre propriétés des produits de la ruche (effets antiviraux, antifongiques gastroprotecteurs, anti-inflammatoires), ainsi qu'identifier les composés impliqués dans ces activités.

° La réalisation des testes in vivo afin d'évalue les différents effets thérapeutique des produits de la ruche .

° Encourager l'intégration des produits de la ruche dans notre ration alimentaire

Liste des références

ABESHU M. A., GELETA B.(2016). Medicinal uses of honey. Biology and Medicine. pp 1-7.

ABHISHEK KJ, RAVICHANDRAN V, MADHVI S, AGRAWAL RK(2010). Synthesis and antibacterial evaluation of 2-substituted-4,5-diphenyl-N-alkyl imidazole derivatives. Asian Pac J Trop Med. pp472–474.

AISSOU, M.BOUSNANE, N.KAOUECHE, S.(2018). Etude de la résistance aux antibiotiques des souches *Staphylococcus aureus* isolées du milieu hospitalier .

Akinduti et al .(2019). Suitability of spectrophotometric assay for determination of honey microbial inhibition

ALLEN KL, HUTCHINSON G, MOLAN PC. (2000). The potential for using honey to treat wounds infected with MRSA and VRE. *First World Healing Congress, Melbourne, Australia.pp*10–13.

Amigou M. (2016). Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort. pp. 139, 27-41

AMOROS, M., SIMÕS, C.M.O., GIRRE, L., SAUVAGER, F., AND CORMIER, M. (1992). Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. Journal of Natural Products 55, 1732– 1740.

ANDELKOVI B., VUJISI L., CKOVI I. V., TESEVI V., VAJS V., DEVAC D. G. (2016). Metabolomics study of Populus type propolis. Pharmaceutical and Biomedical Analysis, S0731-7085, 30493-9.

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

BALAS.F .(2015). les proprietes therapeutiques du miel et leurs domaines d'application en medecine generale revue de la littérature .Thèse de doctorat, univ de nice sophia-antipolis faculte de medecine de nice.32p .

Ballot Flurin.C.(2009). Miels et gelée royale: leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. Phytothérapie 7, pp87–90 .

BANKOVA V., DE CASTRO SL., MARCUCCI MC. (2000). Propolis : récent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 31.pp 3 – 15.

Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. (2000). Propolis:récent advances in chemistry and plant origin. Apidologie 31pp 3 – 15.

BANKOVA, V.(2005). Recent trends and important developments in propolis research. Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.pp 29–32.

BLANC M.(2010) . Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges,pp 142 .

BOGDANOV S, JURENDIC T, SIEBER R, GALLMANN P.(2008). Honey for nutrition and health: a review. J Am Coll Nutr .pp677-89.

BOGDANOV S.(1997). Nature and origin of the antibacterial substances in honey. Lebensm Wiss Technol. pp748-753.

BOGDANOV S., BIERI K., GREMAUD G., IFF D., KANZIG A., SEILER K., STOCKLI H. et ZURCHER K.(2003). Produits Apicoles. 23 A Miel, pp1-37.

BOUCHAMA ,R.DJAOUANI ,D.(2014-2015).these de master etude de l'activité antibactérienne des produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale).

BOUKRAA, LAÏD. (2008). Activité Additif de la gelée royale et miel contre *Pseudomonas aeruginosa*. Révision de la médecine alternative. pp. 330-333.

BOUDA T , BOUNAB L(2017). Etude de l'activité antibactérienne de quelques produits de la ruche .

BOURDON .N.(2011) .Épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez les entérocoques en FranceEpidemiology of antimicrobial resistance in enterococci in France .

BRADBEAR N.(2005). Apiculture et moyens d'existence durables. Organisation des nations unies pour l'alimentation et l'agriculture. ISSN 1813-6001, Rome, 64 p.

BRUNEAU, M. (2002). Évolution des étagements ethnopolitiques dans les montagnes sinoindochinoises. Hérodote 89–117.

CAMPEAU ME, PATEL R.(2014) . Antibiofilm activity of Manuka honey in combination with antibiotics. Int J Bacteriol.

CARDARELLI H. R., BURITI F. C., CASTRO I. A., SAAD S. M. (2008) . Inulin and oligofructose improve sensory quality and increase the probiotic viable count in potentially synbiotic petit-suisse cheese. *LWT-Food Science and Technology.* pp1037–1046.

CARDINAULT N., CAYEUX M.O., PERCIE DU SERT P. (2012). La propolis : origine, composition et propriétés. Phytothérapie, 10.pp298-30

CAVELIER .E .(2013).le miel : composition et techniques de production. Mémoire de master de traduction italien-français, Univ Sorbonne Nouvelle Paris.8p .

CAVIA, M.M., FERNANDEZ-MUINO, M.A., ALONSO-TORRE, S.R., HUIDOBRO, J.F., AND SANCHO, M.T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. Food Chemistry 100, 1728–1733.

CHAUHAN A, PANDEY V, CHACKO KM, KHANDAL RK.(2010). Antibacterial activity of raw and processed honey. *Electron J Biol .pp*58–66.

CHERBULIEZ, T., AND DOMEREGO, R. (2003). L'apithérapie: médecine des abeilles (Ed. Amyris)

CLARKE, H., AND S. T. COWAN. (1952). Biochemical methods for bacteriology. J. Gen. Microbiol. pp187–197.

COOPER RA, MOLAN PC, HARDING KG.(2002). Honey and gram positive cocci of clinical significance in wounds. J Appl Microbiol. pp857–863.

CORTOPASSI-LAURINO, M., AND GELLI, D.S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physicochimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées Apis mellifera et de Méliponinés du Brésil. Apidologie 22, 61–73. vol. 10, no 1, p.

COUSIN L. (2014). L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse pour le diplôme d'état de Docteur en Pharmacie. Université de POITIERS Faculté de Médecine et de Pharmacie. pp. 77, 21-39.

Crane, Eva; Visscher, Kirk(2009) .encyclopédie des insectes .

CUSHNIE T.T ET LAMB A.J. (2005) . Dection of glangin-induced cytoplasmic membrane domage in staphyloccocus aureus by measuring potassium loss, J.Ethanopharmacol.
pp 243-248.

DONADIEU Y.(2008). Les Produits De La Ruche. Thérapeutiques naturelles. Edit, Maloine S. A, Paris.

DONLAN RM, COSTERTON JW.(2002). Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev; pp167-93.

DUKE, P. B., AND J. D. JARVIS.(1972). The catalase test—a cautionary tale. J. Med. Lab Technol. 29(2):203–204.

DUMBRAVA, D.-G., BORDEAN, D.-M., RABA, D.-N., DRUGA, M., MOLDOVAN, C., AND POPA, M.-V. (2013). antioxidant properties and other physicochemical characteristics of some honey varieties from west romanian area. international multidisciplinary scientific geoconference: sgem: surveying geology & mining ecology management, p101.

EMMANUELLE H., JULIE C. ET LAURENT G.(1996) . Les Constituants Chimiques du Miel. Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaire. apiservices, galerie virtuelle apicole.

EREJUWA, O.O, SULAIMAN, S.A., AND AB WAHAB, M.S. (2012). Honey: a novel antioxidant. Molecules 17, 4400–4423.

ERIC DEBUYSER.(1984). La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université De Nante, Faculté de pharmacie.

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

FONTANA R., MENDES M-A., DE SOUZA B-M., KONNO K., CÉSAR L-M., MALASPINA O. et PALMA M-S. (2004). Jelleines: a family of antimicrobial peptides from the Royal Jelly of honey bees (Apismellifera). Peptides.pp 919-928.

FORBES, B.A.,D.F.SAHM, ANDA.S. WEISSFELD.(2007). Bailey and Scott's diagnostic microbiology, 12th ed. Mosby Company, St. Louis, MO.

FREDERIC BONTE , ALEXIS DESMOULIERE.(2013) . Le miel : origine et composition . Pages 18-21.

FUJIWARA S. ET AL.(1990). A potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin, J Biol Chem.

GHARBI M. (2011). Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles - Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat en Médecine-pharmacie, Universite Claude-Bernard - Lyon I, pp. 221.

GHISALBERTI, E.L. (1979). Propolis: A Review. Bee World.pp 59-84.

GONNET. M, VACHE. G. (1985) . Le gout de miel. Ed. UNAF, Paris. 150p.

HEGAZI A, ABD EL HADY F, ABD ALLAH F(2000). Chemical composition and antimicrobial activity of European propolis. Z Naturforsch. pp55:70–75.

HEGAZI, A.G., FARGHAL, A.A., AND EL HADY, F.K.A. (2000). Antiviral activity and chemical composition of European and Egyptian propolis. In Congreso Internacional de Propóleos. Buenos Aires, Argentina, p.

HENRI CLÉMENT. (2009). L'abeille, sentinelle de l'environnement. Edition Alternatives, 33 Rue SAINT-ANDRÉ-DES-ARTS 75006 Paris.

JASTRZEBSKA-STOJKO Z., STOJKO R., RZEPECKA-STOJKO A., KABALA-DZIK A., STOJKO J. (2013). Biological activity of propolis honey balm in the treatement of experimentally-ovoked burn wounds, Moleculs .pp. 14397-14413.

KAJIWARA S., GANDHI H., USTUNOL Z.(2002). Effect of honey on the growth of and acid production by human intestinal Bifidobacterium spp.: an in vitro comparison with commercial oligosaccharides and inulin. Journal of Food Protection.*pp*214–218.

KHRIBCH .(2017). Activité antibactérienne de l'huile essentielle d'origan et du carvacrol sur des souches d'Escherichia coli d'origine aviaire .

KINGSLEY A.(2001). The use of honey in the treatment of infected wound. British J Nursing. pp13–S16.

KROL W, SCHELLER S, SHANI J, PIETSZ G, CZUBA Z.(1993). Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and antibiotics on the growth of Staphylococcus aureus. Arzneimittel-forsch. pp:607–609.

KUJUMGIEV, A., TSVETKOVA, I., SERKEDJIEVA, Y., BANKOVA, V., S., CHRITOV, R; POPOV, S.(1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. Journal of Ethnopharmacology .pp 235-240.

KWAKMAN P.H.S. , JONANNES P.C. VAN DEN AKKER. GÜÇLÜ 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 AntibioticResistant Bacteria In-vitro and Eradicates Skin Colonization. Clin Infect Dis, 46

LU J, TURNBULL L, BURKE CM, LIU M, CARTER DA, SCHLOTHAUER RC, ET AL.(2014). Manuka-type honeys can eradicate biofilms produced by Staphylococcus aureus strains with different biofilm-forming abilities. Peer.

LUSBY PE, COOMBES AL, WILKINSON JM.(2005). Bactericidal activity of different honeys against pathogenic bacteria. *Arch Med Res.pp*464–467.

MACFADDIN, J. F.(2000). Biochemical tests for identification of medical bacteria, 3rd ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia, PA.

MATEESCU C. (2016). Les produits de sécrétion et leurs rôles dans la colonie d'abeilles, [en ligne]. Adresse URL: https://www.researchgate.net/publication/237480596.

MELISSA,A.MUNDO,M. PADILLA-ZAKOUR,O.I. WOROBO,R.W. (2004). Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honey. International journal of food Microbial, vol. 97, n°1, p.1-8.

MERAH M., BENSACI BACHAGHA M., BOUDERHEM A. (2010). Étude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. Ann. Sci. Technol. pp 115-125.

MOLAN N, PIERRE C.(1992). monde des abeille .

MOLAN PC.(1992). The antibacterial nature of honey. The nature of the antibacterial activity. Bee World. pp5–28.

MOLAN PC.(1992). The antibacterial nature of honey. The nature of the antibacterial activity. *Bee World.* PP5–28.

MOLAN PC.(2001). Why honey is effective as a medecine, the scientific explanation of its effects. Bee World.pp22-40.

MOUHOUBI-TAFININE, Z., OUCHEMOUKH, S., AND TAMENDJARI, A. (2016). Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. Industrial Crops and Products 88, 85–90.

MULU A, TESSEMA B, DERBIE F.(2004). In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common human pathogens. Ethiop J Health Dev. pp107–112.

ORSOLIC, NADA.(2013). arh hig tokerskol.

OUCHEMOUKH, S., LOUAILECHE, H., AND SCHWEITZER, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. Food Control 18,52–58.

PEREZ, C. PAUL, M. BAZERQUE, P. (1990). «An Antibiotic assay by the agar well diffusion method». Acta. Bio. Med. pp 113-115.

PHILIPPE J. M.(1999). le guide de l'apiculteur, Troisième edition edisud.

R. KRELL.(1996). Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone.Chapitre 5.

RABIN N, ZHENG Y, OPOKU-TEMENG C, DU Y, BONSU E, SINTIM HO.(2015). Agents that inhibit bacterial biofilm formation. Future Med Chem; pp 647-71.

RANI, A., JAIN, S., DUREJA, P., KUMAR, R., AND KUMAR, A. (2009). Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of environmentally safe potent antimicrobial agents. World Appl Sci J 5, 59–63.

RAVAZZI G.(2007). Abeilles et apiculture, Edition de Vecchi S.A. pp.152-111.

SANTOS A, BASTOS M, UZEDA M, CARVALHO A, FARIAS L, MOREIRA S, BRAGA C.(2002). Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. J Ethnopharmacol pp80:1–7.

SAUVAGER F. (2012). Les produits de la ruche et la santé humaine. Conférence donnée à la salle Pétrarque de Montpellier.

SHAMALA T., SHRI JYOTHI Y., SAIBABA P.(2000). Stimulatory effect of honey on multiplication of lactic acid bacteria under in vitro and in vivo conditions. Letters in Applied Microbiology. pp453–455.

SHENOY, VISHNU PRASAD, BALLAL, MAMATHA, SHIVANANDA, P. G., ET AL.(2012). Honey as an antimicrobial agent against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected wounds. Journal of global infectious diseases, vol. 4, no 2, p. 102.

SHIGENORI KUMAZAWA.; JUN NAKAMURA.; MASAYOMURASE.; MARIKO MIYAGAWA.; MOKRYEONAHN ET SHUICHIFUKUMOTO.(2008). Plant origin of Okinawa propolis: honeybee behaviour observation and phytochemical analysis. Naturwissenschaften .pp781–786.

TAORMINA PJ, NIEMIRA BA, BEUCHAT LR.(2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int J Food Microbiol.* pp217.

TOSI, ENZO A.; CIAPPINI, MARIA C., CAZZOLLI, AMPELIO F., TAPIZ, LUIS M.(2006). Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentine). apiacta 41 .pp 110-120.

VIEL CLAUDE, DORE JEAN-CHRISTOPHE.(2003). Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche. In: Revue d'histoire de la pharmacie, 91e année, n°337. pp. 7-20.

VISAVADIA BG, HONEYSETT J, DANFORD MH.(2006). Manuka honey dressing: An effective treatment for chronic wound infections. *Br J Maxillofac Surg.* pp38–41.

WHEELIS, M. (2008). Principles of modern microbiology. Jones & Downloaded from www.asmscience.org by IP: 66.208.62.130 On: Wed.

ZUMLA A, LULAT A.(1989). Honey a remedy rediscovered. J R Soc Med. pp 384-5.

https://microbiologie-clinique.com/antibiogramme.html

Annexes

Annexe 1 : Matériels Et Produits Utilisées

Matériels :

Vortex /balance/bec benzène/agitateur/spectrophotomètre/centrifugateur/densitomètre /autoclave /étuve (37c°).

Produits :

Les milieux :MH (Muller Hinton) /GN(gélose nutritif)/BHIB (Brain Heart Infusion Broth) /TSB(Tryptic Soy Broth)/ bouillon nutritif .

Réactive de folin / bicarbonate de sodium/acide gallique /eau distillé /eau physiologique /huile d'émersion /éthanol/ violet cristal / antibiotique gentamicine

B		LES DISQUES																			
		L2	0P 5	C 30	Net 30	K 30	Tcc 75/10	RA 5	VA 30	Tob 10	TI 75	OX 1	HLG 120	PC 100	TE 30	PA 10	TEI 30	RP 15	AZm 15	LE 5	AT 30
Ecoli	Dia	1.5		2	1.5				1	2			2.8	1.5	1				1.3	2.5	
	S	√		√	√				√	√			√	√	√				√	√	
	R		×			×	×	×			×	×				×	×	×			×
Staph	Dia	2.2		2.3	2.6		1.5	2.8	1.6	2.5	2		3	1.9	0.6	1.1	1.8	2.8/3	2.7	3.2	
	S	√		√	√		√	√	√	√	√		√	√	√	√	√	√	√	√	
	R		×			×						×									×
Pseudo	Dia			0.8	2.5		1.5			2.7	1.8		3	2.7	0 .8				1.5	3.4	1.8
	S			√	√		√			√	√		√	√	√				√	√	√
	R	×	×			×		×	×			×				×	×	×			
Pro	Dia				2.3					2.2	0.7	1.7	2.6	1.1			2		1.2	0.9	3.5
	S				√					√	√	√	√	√			√		√	√	√
	R	×	×	×		×	×	×	×						×	×		×			
Citro	Dia			1.5	2.3		1.3			2.3	0.8		2.9	1.3	0.7				1.9	2.9	2.7
	S			√	√		√			√	√		√	√	√				√	√	√
	R	×	×			×		×	×			×				×	×	×			
Staph Epide	Dia	1.3		0.8	2.3	2.4		0.8	2	2.1	0.9		3.4	1.4	2		1.4	1.4	1.9	2.8	
	S	√		√	√	√		√	√	√	√		√	√	√		√	√	√	√	
	R		×				×					×				×					×
Thyphi Salmon	Dia	1.4		1.4	3	0.9	2.2		1.8	2.4	0.7		2.3	2	1		1.6	2.4	2.6	2.1	
	S	√		√	√	√	√		√	√	√		√	√	√		√	√	√	√	
	R		×					×				×				×					×
Strepto	Dia				1.3					2	0.8		2.7	1.5					1	2.5	2.2
	S				√					√	√		√	√					√	√	√
	R	×	×	×		×	×		×			×			×	×	×	×			
Condida	Dia	1.1		2	2.5	1.6		1	1.8	2.4			2.9	1.7	2.3		1.8	2.8	2.5	2.3	
	S	√		√	√	√		√	√	√			√	√	√		√	√	√	√	
	R		×				×				×	×				×					×
Entero	Dia			1			1.3			3	1.8		2.9	2					2.8	2.8	2.3
	S			√			√			√	√		√	√					√	√	√
	R	×	×			×		×	×			×			×	×	×	×			

Annexe 2 : tableau d'inhibition des antibiotiques vis-à-vis des souches bactériennes.

	Blanc	propolis	Miel 1	Miel 2	Miel 3
l'absorbance	0	3	0.589	0.260	0.706

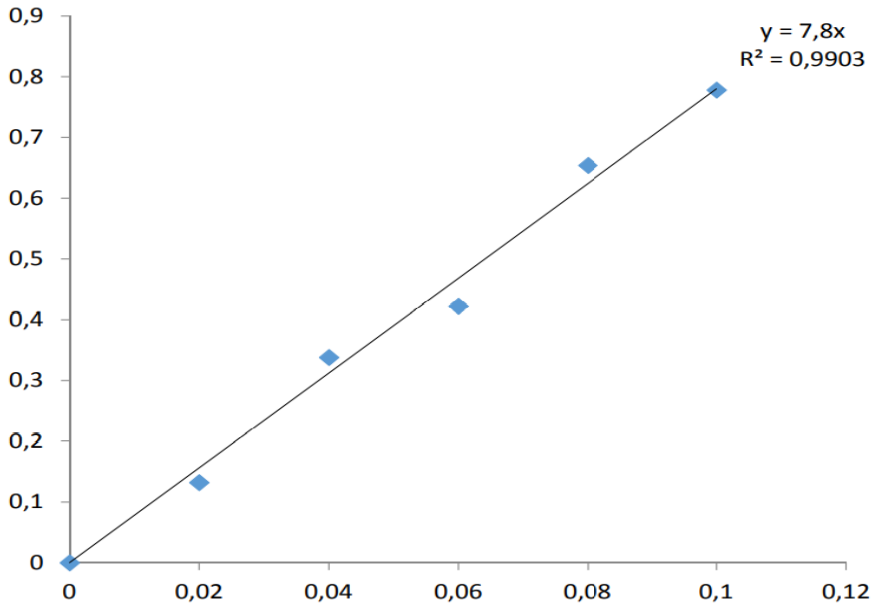
Annexe 3 :tableau des résultats de dosage des polyphénols totaux **.**

DOSE	T-	M	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	DOSE	T-	M	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Pro	+	-	+	+	+	+	Entero	+	+	+	+	+	++
Ecoli	++	-	++	+++	+++	+	Epider	+	-	+++	-	+	+++
Strep	+-	-	+	+	-	++	Citro	++	+	+	+	-	-
S.aureus	++	-	+	+++	+++	+++	Candid a	++	-	-	+++	+++	+++
Typhi	+	-	-	+++	++	+	pseudo	++	-	-	-	++	++

Annexe 4:tableau des résultats des CMI (miel de jujubier).

DOSE	T-	M	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	DOSE	T-	M	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
Pro	+	+	+	+	+	+	Entero	+	-	-	-	+	+
Ecoli	+	-	-	+	+	+	Epider	+	-	-	++	-	+
Strep	+	-	-	+	+	+	Citro	+	-	-	-	+	+
S.aureus	+	-	-	+	+	++	Candida	+	-	+	+	+	+
Typhi	+	-	+	+	+	+	pseudo	+	-	+	+	-	+

Annexe 5:tableau des résultats des CMI (la gelée royale).



Annexe 6 : Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux.