



République Algérienne Démocratique et Populaire  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la  
Recherche Scientifique



**Université Chadli Bendjedid El-Tarf**

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département d'Agronomie – Filière Sciences alimentaires

**Master en Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité**

**Thème**

**Contribution à l'étude de la qualité et le pouvoir  
antibactérien des miels purs récoltés au niveau de la  
commune de Séraïdi (wilaya d'Annaba)**

**Réalisé par :**

**Zaidi Khalid**

**Devant le jury**

Président	ALAYAT Amel	Maître de Conférences	Université d'El-Tarf
Encadreur	FEKNOUS Nesrine	Maître de Conférences	Université d'El-Tarf
Co-encadreur	BOUMENDJEL Mahieddine	Maître de Conférences	Université d'Annaba
Examineur	BENCHEIKH Amel	Maître assistante	Université d'El-Tarf
Invitée	METALLAOUI Nadia	Inspectrice Vet Principale	LVR El-Tarf

**Année universitaire 2019-2020**

## ***Remerciements***

Je remercie Dieu, le Tout Puissant, maître des cieux et de la Terre, qui m'a permis de mener à bien ce travail et qui m'a permis d'en arriver là.

Tout d'abord, je tiens surtout à adresser mes vifs remerciements à mon encadreur **Dr. Feknous Nesrine**, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid El-Tarf pour son encadrement et sa disponibilité durant l'élaboration de ce mémoire, pour ses conseils et son intérêt pendant ce projet de mémoire.

Je remercie également mon co-encadreur **Dr Boumendjel Mahieddine**, Maître de conférences à l'Université Badji Mokhtar-Annaba pour m'avoir aimablement fourni les échantillons de miel issus d'un apiculteur de Séraïdi (wilaya d'Annaba) audité dans le cadre du projet de recherche national « *Mises en valeur de produits locaux ou de terroir* » en collaboration avec le Ministère de l'Industrie et des Mines sous le décret exécutif n°13-109 du 17 mars 2013, mais aussi pour m'avoir aidé à poursuivre mes études à l'université d'El-Tarf.

J'exprime toute ma gratitude aux membres de jury : **Dr Alayat Amel**, Maître de conférences à l'Université Chadli Bendjedid El-Tarf, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant de présider le jury. **Dr. Bencheikh Amel**, Maître assistante à l'Université Chadli Bendjedid El-Tarf, pour l'honneur qu'elle nous fait en acceptant d'examiner et de juger ce modeste travail.

Mes vifs remerciements vont à **Mme Metallaoui Nadia** Inspectrice au laboratoire vétérinaire régional de Ben M'Hidi, qui m'a donné les moyens et l'assistance nécessaires à la réalisation de mon travail pratique. Qu'elle soit assurée de ma respectueuse considération.

C'est avec grand honneur et beaucoup de plaisir que je ponctue mon cursus universitaire de master 2 par ce travail auprès de votre honorable jury.

Je remercie vivement mes collègues de travail **Mme Belguendouz Nabila et Mr Tsaier Ali** qui m'ont facilité l'accès dans leurs services et tous ceux qui ont participé de près ou de loin pour réaliser ce travail.

Je tiens à adresser mes sincères remerciements et le grand respect à **Dr Benrachou Nora** pour ses judicieux conseils

Je tiens à témoigner ma gratitude et respect au chef de département **Dr Boulahbel Raouf**.

## *Dédicace*

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

*Je dédie cet humble et modeste travail avec grand amour, sincérité, et fierté :*

*A ceux qui m'ont encouragé pour continuer mon chemin universitaire et ceux à qui je dois tant*

*A mes parents, pour votre éducation et sacrifice sans limite, à mon défunt père qu'il soit fier de mon accomplissement à l'honorer, à ma mère LYLA pour son amour et son support continu d'aller à l'avant*

*A mes sœurs SABRINA et AMEL pour leur amour ; profonde reconnaissance pour tout ce que vous avez fait pour moi*

*A tous mes collègues de la promotion master 2 année 2019/2020*

*Mon hommage est destiné à tous mes enseignants et enseignantes du département d'agronomie et du master Sécurité Agroalimentaire et Assurance Qualité pour avoir fortement contribué à enrichir mes connaissances*

*A toute ma famille ZAIDI et BOUBIR et mes amis*

## Résumé

Le présent travail est une étude menée pour d'une part une recherche microbiologique et d'autre part une évaluation de l'effet antibactérien de quatre miels, à savoir deux d'origine locale et deux d'origine importée ; purs à 100% et dilués à 75%, 50% et 25% ; testés sur cinq souches bactériennes à caractère pathogène et à caractère de contamination d'environnement. Pour la recherche de germes selon leur degré de sensibilité aux antibiotiques, à savoir des souches très sensibles, moyennement sensibles et des souches résistantes. Notre travail est basé sur l'évaluation de l'activité antibactérienne par la technique de diffusion sur milieu gélosé. Cette technique de diffusion en gélose a montré que tous les miels ont inhibé la croissance des germes négatifs ayant un effet antibactérien remarquable notamment *Salmonella enteritidis* et *Escherichia coli*, Les diamètres d'inhibition sont de 25 à 29 mm et de 24 à 26 mm. Pour les germes Gram positif mis à part *Staphylococcus aureus* qui nous a donné de bons résultats de sensibilité en revanche *Bacillus cereus* et *Enterococcus faecalis* sont majoritairement résistants soit pour le miel local ou importé ce qui explique leurs isollements et identifications dans le volet analyse microbiologique avec une présence modeste des levures pour l'ensemble des échantillons. A travers nos résultats, il est à conclure qu'il est possible d'utiliser le miel comme des antibactériens naturels pour traiter les maladies provoquées par des germes pathogènes.

**Mots-clés** : miel, bactérie à Gram (+), bactérie à Gram (-), recherche microbiologique, activité antibactérienne, méthode de diffusion sur gélose.

## Abstract

The present work is a study carried out on the one hand microbiological research. And on the other hand an evaluation of the antibacterial effect of four honeys ; namely two of local origin, and two of imported origin, 100% pure, and diluted to 75%, 50% and 25%; tested on five bacterial strains of a pathogenic nature and an environmental contamination character. For the detection of germs according to their degree of sensitivity to antibiotics, namely very sensitive strains, moderately sensitive and resistant strains. Our work is based on the evaluation of the antibacterial activity by the technique of diffusion on agar medium. This agar diffusion technique showed that all the honeys inhibited the growth of negative germs having a remarkable antibacterial effect, in particular *Salmonella enteritidis* and *Escherichia coli*. The diameters of inhibition are 25 to 29 mm and 24 to 26 mm. For Gram-positive germs apart from *Staphylococcus aureus*, which gave us good sensitivity results, on the other hand *Bacillus cereus* and *Enterococcus faecalis* are mainly resistant either to local or imported honey, which explains their isolations and identifications in the microbiological analysis section with a modest presence of yeasts for all the samples. From our results, it is concluded that it is possible to use honey as natural antibacterial to treat diseases caused by pathogenic germs.

**Keywords:** Honey, Gram (+) bacteria, Gram (-) bacteria, microbiological research, antibacterial activity, agar diffusion method.

## ملخص

العمل الحالي عبارة عن دراسة أجريت من ناحية البحوث الميكروبيولوجية ومن ناحية أخرى تقييم التأثير المضاد للبكتيريا لأربعة عسل، وهما اثنان من أصل محلي واثنان من أصل مستورد؛ 100% نقي ومخفف إلى 75%، 50% و 25%؛ تم اختباره على خمس سلالات بكتيرية ذات طبيعة ممرضة وذات طابع تلوث بيئي. للكشف عن الجراثيم حسب درجة حساسيتها للمضادات الحيوية وهي السلالات الحساسة للغاية والسلالات المقاومة للحساسية المتوسطة. يعتمد عملنا على تقييم النشاط المضاد للبكتيريا من خلال تقنية الانتشار على وسط أجار. أظهرت تقنية نشر الأجار أن جميع أنواع العسل قد أعاققت نمو الجراثيم السلبية التي لها تأثير مضاد للجراثيم بشكل ملحوظ، وخاصة السالمونيلا المعوية والإشريكية القولونية، وأقطار التثبيط هي 25 إلى 29 مم و 24 إلى 26 مم. بالنسبة للجراثيم موجبة الجرام باستثناء المكورات العنقودية الذهبية التي أعطتنا نتائج حساسية جيدة، من ناحية أخرى، فإن بكتيريا سيربوس العصوية والمكورات المعوية البرازية مقاومة بشكل أساسي إما للعسل المحلي أو المستورد مما يفسر عزلها وتعريفاتها في قسم التحليل الميكروبيولوجي مع وجود متواضع من الخمائر لجميع العينات. من نتائجنا نستنتج أنه من الممكن استخدام العسل كمضاد طبيعي للبكتيريا لعلاج الأمراض التي تسببها الجراثيم المسببة للأمراض.

**الكلمات المفتاحية:** عسل، بكتيريا غرام (+)، بكتيريا غرام (-)، أبحاث ميكروبيولوجية، نشاط مضاد للجراثيم، طريقة انتشار أجار.

## Liste des figures

<i>Figure 1: Recueil de nectar par l'abeille sur les fleurs .....</i>	<i>7</i>
<i>Figure 2 : Les différentes plantes qui caractérisent la composition de miel.....</i>	<i>8</i>
<i>Figure 3: Origine de miel multi floraux .....</i>	<i>8</i>
<i>Figure 4: Récolte du miellat par les abeilles.....</i>	<i>9</i>
<i>Figure 5: Large variation de couleurs de miel.....</i>	<i>20</i>
<i>Figure 6: Vertus du miel.....</i>	<i>22</i>
<i>Figure 7: Effet cicatrisant du miel .....</i>	<i>23</i>
<i>Figure 8. Les échantillons de miels (miel : Zriba, Sidi Achour, Alshifa et San Francisco).....</i>	<i>31</i>
<i>Figure 9. Pesée et dilution des échantillons.....</i>	<i>32</i>
<i>Figure 10: Mode opératoire pour le dénombrement des levures et moisissures.....</i>	<i>33</i>
<i>Figure 11. Lecture des boites de Petri du dénombrement des levures et moisissures.....</i>	<i>34</i>
<i>Figure 12. Coloration de Gram de Staphylococcus aureus .....</i>	<i>36</i>

## Liste des tableaux

<i>Tableau 1: Vitamines dans le miel, en mg/100 g .....</i>	<i>12</i>
<i>Tableau 2: Sels minéraux et oligo-éléments dans le miel de différentes provinces.....</i>	<i>13</i>
<i>Tableau 3: Valeurs de pH et la teneur en acides libres de différentes sortes de miels.....</i>	<i>19</i>
<i>Tableau 4: Les différentes couleurs des miels en fonction de leur origine florale .....</i>	<i>20</i>
<i>Tableau 5: Les différentes sortes de miel .....</i>	<i>26</i>
<i>Tableau 6: Micro-organismes répertoriés dans le miel .....</i>	<i>28</i>

## Liste des abréviations

<b>°C</b>	Degré Celsius
<b>AMC</b>	Amoxicilline + acide cluvanique
<b>ATCC</b>	American Type Culture Collection
<b>A<sub>w</sub></b>	Activité de l'eau
<b>Ca</b>	Calcium
<b>CAZ</b>	Ceftazidime
<b>Cd</b>	Cadmium
<b>CE</b>	Comité Européenne
<b>CEF</b>	Cephalotine
<b>CHL</b>	Chloramphénicol
<b>Cm<sup>3</sup></b>	Centimètre cube
<b>CS</b>	Colistine
<b>Cu</b>	Cuivre
<b>CXN</b>	Cefalexine
<b>DO</b>	Densité Optique
<b>ENR</b>	Enrofloxacin
<b>ERY</b>	Érythromycine
<b>Fe</b>	Fer
<b>FOX</b>	Cefoxitine
<b>FTN</b>	Nitrofurantoïne
<b>g</b>	Gramme
<b>GMN</b>	Gentamicine
<b>h</b>	Habitant
<b>HMF</b>	Hydroxyméthylfurfural
<b>ISO</b>	International Standardisation of Organisation
<b>JO</b>	Journal Officiel
<b>K</b>	Potassium
<b>Kg</b>	Kilogramme
<b>L.V.R.T</b>	Laboratoire Vétérinaire Régional de Tarf
<b>meq</b>	Milliéquivalent
<b>mg</b>	Milligramme

<b>Mg</b>	Magnésium
<b>MH</b>	Mueller Hinton
<b>mS</b>	Millisiemens
<b>Na</b>	Sodium
<b>NAL</b>	Acide nalidixique
<b>NEO</b>	Néomycine
<b>OMS</b>	Organisation Mondiale de la Santé
<b>OX1</b>	Oxacilline
<b>P</b>	Pénicilline
<b>Pb</b>	Plomb
<b>pH</b>	Potentiel hydrogène
<b>Qx</b>	Quintaux
<b>SXT</b>	Trimethoprime + Sulfamethoxazole
<b>T°</b>	Température
<b>TET</b>	Tétracycline
<b>UE</b>	Union Européenne
<b>Zn</b>	Zinc

## Liste des annexes

<i>Annexe 1: Critères microbiologiques des denrées alimentaires du Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (JORADP).....</i>	<i>79</i>
<i>Annexe 2: Fiches de paillasse des quatre miels analysés.....</i>	<i>80</i>
<i>Annexe 3. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes choisies .....</i>	<i>82</i>
<i>Annexe 4. Résultat d'antibiogramme des souches bactériennes testées .....</i>	<i>83</i>
<i>Annexe 5. Tableaux des moyennes des tests des 04 miels .....</i>	<i>85</i>

# Tables des matières

RESUME .....	I
ABSTRACT .....	II
ملخص.....	III
LISTE DES FIGURES .....	IV
LISTE DES TABLEAUX .....	V
LISTE DES ABREVIATIONS .....	VI
LISTE DES ANNEXES.....	VIII
TABLES DES MATIERES .....	IX
INTRODUCTION .....	1
SYNTHESE BIBLIOGRAPHIQUE.....	3
CHAPITRE 1.....	4
1. CHAPITRE 1. GENERALITES SUR LE MIEL .....	5
1.1. DEFINITION.....	5
1.2. ORIGINE.....	5
1.3. COMPOSITION .....	5
1.4. LES CONTAMINANTS DU MIEL .....	6
1.4.1. Métaux lourds.....	6
1.4.2. Résidus de pesticides.....	6
1.5. LES DIFFERENTS TYPES DU MIEL .....	7
1.5.1. Miel de fleurs ou miel de nectar.....	7
a) Miels monofloraux .....	7
b) Miels multi floraux .....	8
1.5.2. Miel de miellat .....	9
1.6. COMPOSITION CHIMIQUE DU MIEL .....	10
1.6.1. Eau .....	10
1.6.2. Hydrates de carbone .....	10
1.6.3. Protéines et acides aminés .....	11
1.6.4. Enzymes.....	11
1.6.5. Acides organiques et autres matières organiques .....	12
1.6.6. Vitamines.....	12
1.6.7. Sels minéraux et oligo-éléments .....	12
1.6.8. Lipides .....	13
1.6.9. Substances aromatiques.....	13

1.6.10.	<i>Acides phénoliques et polyphénols</i> .....	14
1.7.	PRINCIPALES TRANSFORMATIONS PHYSIQUES ET CHIMIQUES DU MIEL .....	14
1.7.1.	<i>Cristallisation</i> .....	14
1.7.2.	<i>Température</i> .....	14
1.7.3.	<i>Teneur en eau</i> .....	14
1.7.4.	<i>Fermentation</i> .....	15
<b>CHAPITRE 2</b> .....		<b>16</b>
<b>PROPRIETES DES MIELS</b> .....		<b>16</b>
<b>2. CHAPITRE 2. PROPRIETES DES MIELS</b> .....		<b>17</b>
2.1.	PROPRIETES PHYSICO-CHIMIQUES .....	17
2.1.1.	<i>Viscosité</i> .....	17
2.1.2.	<i>Densité</i> .....	17
2.1.3.	<i>Activité de l'eau</i> .....	17
2.1.4.	<i>Conductivité électrique</i> .....	17
2.1.5.	<i>pH</i> .....	18
2.1.6.	<i>L'acidité</i> .....	18
2.1.7.	<i>5-hydroxy-2-méthylfurfural (HMF)</i> .....	19
2.2.	PROPRIETES ORGANOLEPTIQUES.....	19
2.2.1.	<i>Couleur</i> .....	19
2.2.2.	<i>Odeur</i> .....	20
2.2.3.	<i>Goûts</i> .....	21
2.3.	PROPRIETES ALIMENTAIRES ET DIETETIQUES.....	21
2.4.	PROPRIETES THERAPEUTIQUES .....	21
2.5.	PROPRIETES ANTI-DIARRHEIQUES.....	22
2.6.	PROPRIETES CICATRISANTES DES BLESSURES ET ANTI-INFLAMMATOIRE .....	22
2.7.	ACTION ANTIANEMIQUE .....	23
2.8.	ACTION APERITIVE ET DIGESTIVE .....	23
2.9.	PROPRIETES ANTITUSSIVES, EXPECTORANTES ET ADOUCISSANTES .....	23
2.10.	ACTION PREVENTIVE VIS A VIS DES CANCERS .....	23
2.11.	PROPRIETES ANTIOXYDANTES.....	24
2.12.	PROPRIETES ANTIMICROBIENNE DU MIEL .....	24
2.13.	PROPRIETES SPECIFIQUES A CHAQUE MIEL .....	25
2.14.	CONTRE-INDICATION DU MIEL.....	26
<b>3. LES MICROORGANISMES DANS LE MIEL</b> .....		<b>27</b>
3.1.	CONTAMINANTS ET COMPOSES TOXIQUES POTENTIELS DANS LE MIEL .....	27
<b>4. LES MIELS ALGERIENS</b> .....		<b>28</b>

4.1.	ESTIMATION DE LA CONSOMMATION DE MIEL PAR HABITANT ET PAR AN EN ALGERIE .....	29
4.2.	ASPECTS REGLEMENTAIRES VIS-A-VIS DU MIEL.....	29
<b>MATERIEL &amp; METHODES .....</b>		<b>30</b>
<b>5.</b>	<b>MATERIEL ET METHODES .....</b>	<b>31</b>
<b>6.</b>	<b>ANALYSE DE LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES MIELS.....</b>	<b>31</b>
6.1.	SITE D'ETUDE ET ECHANTILLONAGE .....	31
6.2.	TECHNIQUE DE L'ANALYSE.....	31
6.2.1.	<i>Préparation des échantillons</i> .....	32
6.2.1.1.	Mode opératoire.....	32
6.2.2.	<i>Préparation de la gamme des dilutions</i> .....	32
6.2.3.	<i>Dénombrement des levures et moisissures (JORA N°39, 02 Juillet 2017)</i> .....	33
6.2.3.1.	Mode opératoire .....	33
6.2.3.2.	Expression des résultats .....	33
6.2.4.	<i>Dénombrement des coliformes fécaux</i> .....	34
6.2.4.1.	Mode opératoire.....	34
6.2.4.1.1.	Ensemencement et incubation :.....	34
6.2.4.1.2.	Interprétation .....	35
6.2.4.2.	Expression des résultats .....	35
6.2.5.	<i>Dénombrement de Staphylococcus aureus</i> .....	35
6.2.5.1.	Mode opératoire.....	35
6.2.5.1.1.	Ensemencement et incubation.....	35
6.2.5.1.2.	Sélection des boites et Interprétation .....	35
6.2.5.2.	Confirmation .....	36
6.2.5.3.	Expression des résultats .....	37
6.2.6.	<i>Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies</i> ....	37
6.2.6.1.	Préparation du miel à analyser :.....	38
6.2.6.2.	Ensemencement :.....	38
6.2.6.3.	Lecture :.....	38
6.2.6.4.	Expression des résultats .....	38
6.2.7.	<i>Dénombrement de Bacillus cereus par comptage des colonies à 30°C</i> .....	39
6.2.7.1.	Mode opératoire.....	39
6.2.7.1.1.	Ensemencement et incubation.....	39
6.2.7.2.	Expression des résultats :.....	40
6.2.8.	<i>Recherche des Salmonelles</i> .....	40
6.2.8.1.	Mode opératoire.....	40
6.2.8.1.1.	Principe.....	40
6.2.8.1.2.	Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide.....	41
6.2.8.1.3.	Enrichissement en milieu sélectif .....	41
6.2.8.1.4.	Ensemencement et identification.....	41

5.3.8.2.	Confirmation et identification des bactéries : .....	41
5.3.8.2.1.	Coloration de Gram .....	41
a)	<i>Réalisation d'un Frottis</i> : .....	41
b)	<i>Technique de la Coloration</i> : .....	42
5.3.8.2.2.	Identification biochimique : .....	43
5.4.	ETUDE DE LA SENSIBILITE DES SOUCHES BACTERIENNES A TESTER AUX ANTIBIOTIQUES : .....	45
5.5.	ETUDE DU POUVOIR ANTIBACTERIEN DES MIELS .....	45
5.5.1.	<i>Préparation des dilutions des miels</i> .....	48
5.5.2.	<i>Méthode de diffusion en milieu gélosé</i> .....	48
5.5.2.1.	Préparation de l'inoculum .....	48
5.5.2.2.	Ensemencement.....	49
5.5.2.3.	Application des disques d'antibiotiques .....	50
5.5.2.4.	Incubation.....	50
<b>6.</b>	<b>RESULTATS ET DISCUSSION .....</b>	<b>53</b>
6.1.	RESULTATS .....	53
6.1.1.	<i>Résultat de l'analyse microbiologique des miels</i> .....	53
6.1.1.1.	Analyse bactériologique .....	53
6.1.1.1.1.	Ensemencement et identification.....	53
a.	Salmonella spp, Staphylococcus aureus et Escherichia coli.....	57
b.	Bacillus cereus :.....	57
6.1.2.	<i>Etude de la sensibilité aux antibiotiques</i> .....	58
6.1.3.	<i>Résultat de l'analyse de l'effet antibactérien des miels</i> :.....	59
6.1.3.1.	Le pouvoir antibactérien des miels : .....	61
a)	Miel de Zriba .....	62
b)	Miel Sidi Achour .....	62
c)	Miel Alshifa .....	63
d)	Miel San Francisco.....	64
6.2.	DISCUSSION : .....	65
6.2.1.	<i>Analyse des paramètres microbiologique des 4 miels</i> .....	65
6.2.2.	<i>Analyse de l'activité antibactérienne des 4 miels</i> .....	65
6.2.2.1.	Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de Salmonella Enteritidis :.....	65
6.2.2.2.	Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis Escherichia coli : .....	66
6.2.2.3.	Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de Staphylococcus aureus : .....	67
6.2.2.4.	Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis Enterococcus faecalis :.....	68
6.2.2.5.	Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de Bacillus cereus : .....	69
	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>71</b>
	<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>72</b>
	<b>ANNEXES.....</b>	<b>79</b>



## Introduction

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

Le saint Coran et le Hadith du prophète présentent le miel en tant que guérisseur des maladies ; dans le coran : « de leur ventre, sort une liqueur, aux couleurs variées, dans laquelle il y a une guérison pour les gens, il y a vraiment là une preuve pour les gens qui réfléchissent ». **Sourate El Nahl (verset 68-69)**, dans le Hadith le prophète (bénédiction et paix sur lui) a dit : « le miel est un remède pour chaque maladie, et le coran est un remède pour toutes les maladies d'esprit, c'est pourquoi je vous recommande les deux remèdes : le coran et le miel » (Rapporté par l'Imam Bukhari).

L'Algérie possède des ressources mellifères très étendues variées qui permettent d'avoir des différents miels. L'apiculture est dominante dans les régions suivantes : Littoral, montagne, hauts plateaux, maquis et forêts (**Oudjet, 2012**). La plupart des wilayas d'Algérie : Alger, Oran, Mostaganem, Chlef, Constantine, Annaba, Tizi ouzou, Tlemcen et Sétif ont des possibilités apicoles. Dans ces wilayas, les agrumes constituent l'élément principal de la flore mellifère cultivée. La production de miel est de l'ordre de 30.000 tonnes par an. Elle est inférieure aux besoins de la consommation locale (**Badren, 2016**).

Aussi, l'impact des maladies infectieuses ne cesse de croître dans le monde. Cela est dû généralement au phénomène de l'antibio-résistance. Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques des produits naturels. Le miel compte parmi ces produits les plus importants, en raison de ses propriétés inhibitrices et thérapeutiques de nombreuses études se sont intéressées aux propriétés thérapeutiques du miel (**Badawy, 2004 ; Baltrusaityte, 2007**).

Le miel est un produit naturel d'origine animale doté de propriétés thérapeutiques importantes. Le but de notre travail été d'étudier la qualité microbiologique et de tester le pouvoir antibactérien de quatre échantillons de miels, deux miels locaux, provenant de la commune de Séraïdi située au niveau de la wilaya d'Annaba récolté en été 2018 et 2 miels importés, disponible sur le marché algérien: le miel mille fleur San Francisco et le miel Al-Shiffa.

Trois parties seront développées :

- **La première partie** : est une étude bibliographique sur le miel et le monde microbien.
- **La deuxième partie** : traite le matériel d'étude et les méthodes suivies pour l'analyse physicochimique, chimique, et l'activité antibactérienne.
- **La dernière partie** : est consacrée pour les résultats obtenus et leur discussion.

# **Synthèse**

# **bibliographique**

# **Chapitre 1**

## **Généralités sur les**

### **miels**

## 1. Chapitre 1. Généralités sur le miel

### 1.1. Définition

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

### 1.2. Origine

La composition du miel est très complexe et ses principaux constituants chimiques sont proches de ceux du nectar et du miellat : l'eau, les glucides, les acides organiques (libres ou combinés sous formes de lactones), les protides et les matières minérales (**Bogdanov et al., 2004**).

Le miel provient des plantes, et plus précisément, de leur sève. Il est extrait de deux manières des vaisseaux qui le contiennent : par les nectaires 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

### 1.3. Composition

La composition du miel dépend de différents facteurs comme les espèces végétales butinées, la race des abeilles, l'état de la colonie, etc. La coloration du miel varie en fonction des espèces végétales visitées par les abeilles et peut aller du blanc au noir, en passant par toutes les tonalités de jaune et d'orangé. En moyenne, le miel contient, selon (**Michel Gonnet, 1985**).

- 17 % d'eau (limite légale de 21 %)
- 31 % de glucose
- 38 % de lévulose
- 7,5 % de maltose
- 1,5 % de saccharose (jusqu'à 10 % et même davantage dans le miel de lavande)
- Une dizaine d'autres sucres. (**Jean Prost, 2005**).

Conformément aux dispositions réglementaires du **Codex Alimentarius** ; le miel vendu en tant que tel ne doit pas contenir d'ingrédient alimentaire, y compris les additifs alimentaires, ou d'autre substance ne faisant pas partie du miel.

Le miel ne doit pas avoir de matière, de goût, d'arôme ou de contamination inacceptable provenant d'une matière étrangère et absorbée durant sa transformation et son entreposage.

Le miel ne doit pas avoir commencé à fermenter ou être effervescent. Le miel ne doit pas être chauffé ou transformé à un point tel que sa composition essentielle soit changée et/ou que sa qualité s'en trouve altérée.

Aucun traitement chimique ou biochimique ne doit être utilisé pour influencer la cristallisation du miel (**Codex Alimentarius, 2001**). La teneur en eau a été ramenée de 21% à 20% pour tous les miels sauf les miels de bruyère et les miels de trèfle. La teneur en eau des miels de trèfle a été ramenée de 23% à 21% (**Codex Alimentarius, 2001**).

## **1.4. Les contaminants du miel**

### **1.4.1. Métaux lourds**

Le miel doit être exempt de métaux lourds à des concentrations qui peuvent constituer un risque pour la santé humaine (**Codex Alimentarius CX/S 00/3, 1999**).

Le plomb (Pb) et le cadmium (Cd) sont considérés les principaux métaux lourds toxiques et les plus fréquemment étudiés, le Pb n'est pas transporté par les plantes. D'autre part, le Cd provenant de l'industrie métallurgique et des incinérateurs, est transporté du sol aux plantes et peut alors souiller le nectar et la miellée (**Devilleers et al., 2002**).

### **1.4.2. Résidus de pesticides**

Les produits visés par la présente Norme doivent être conformes aux limites maximales de résidus fixées pour le miel par la Commission du *Codex Alimentarius CX/S 00/3 (1999)*.

Les pesticides sont des substances permettant de lutter contre les ennemis des cultures. Ils regroupent les fongicides, herbicides, insecticides et bactéricides. Il en existe de très nombreux sur le marché actuellement. Les pesticides les plus fréquemment recherchés dans le miel sont les organochlorés, les organophosphorés et les carbamates (**Bogdanov, 2006**).

## 1.5. Les différents types du miel

Selon l'origine florale, il existe deux types de miel :

- Le miel de nectar
- Le miel de miellat.

### 1.5.1. Miel de fleurs ou miel de nectar

Il se distingue comme venant des nectaires des fleurs, ou des glandes des plantes qui sécrètent une substance appelée « nectar ». La grande majorité du miel que nous consommons est le miel de fleur (Altman, 2010). Le nectar recueilli par les abeilles sur les fleurs (Figure 1) est une solution aqueuse sucrée dont la composition est variée en fonction des plantes. Ce dernier contient une toute petite quantité de pollen que l'on retrouve dans le miel, le pollen se trouve dans les anthères de toutes les plantes où les abeilles butinent. Le miel « moderne » ne contient qu'une infime quantité de pollen. On peut identifier le pollen au moyen d'un microscope ; famille végétale, genre ou espèce d'origine (Mutsaers et al., 2005).



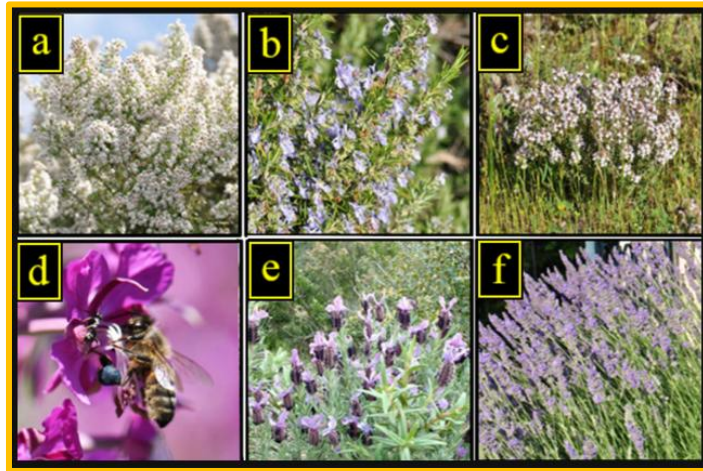
**Figure 1:** Recueil de nectar par l'abeille sur les fleurs

(<https://www.cnews.fr/animaux/2016-01-26/combien-dabeilles-faut-il-pour-produire-un-kilo-de-miel-721243>)

#### a) Miels monofloraux

Le miel réalisé à partir d'une seule espèce de fleur est un miel mono-floral (on dit encore uni-floral), dans cette catégorie, on trouve le miel de kapok, de banane ou de café, le miel d'acacia, d'oranger et de lavande (Altman, 2010). Ces miels maintiennent toujours les mêmes caractéristiques physicochimiques et organoleptiques (l'apparence, la couleur, le goût) et sont

bien appréciés pour le commerce. Il est possible de déterminer leur origine des fleurs (**Figure 2**) par la reconnaissance des grains de pollen dominants (**Altman, 2010**).

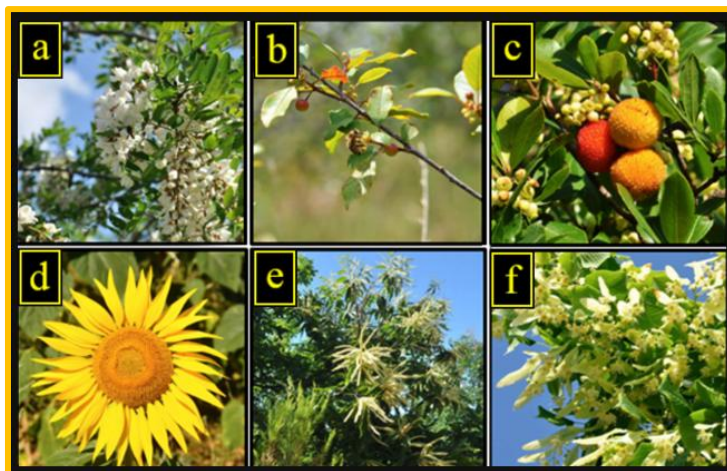


**Figure 2** : Les différentes plantes qui caractérisent la composition de miel  
**a** : La bruyère blanche, **b** : Le Romarin, **c** : La lavande maritime, **d** : Les fleurs de montagne,  
**e** : La lavande maritime, **f** : La lavande fine

(<https://www.miel-lerucherdelours.fr/fr/>)

### *b) Miels multi floraux*

Ils contiennent le pollen du nectar de plusieurs végétaux, ces miels dits « toutes fleurs ». Les propriétés de ces miels sont beaucoup plus variables, par rapport aux espèces d'abeille, la fleuraison (**Figure 3**) respective et les facteurs climatiques (**Altman, 2010**).



**Figure 3**: Origine de miel multi floraux  
**a** : L'acacia, **b** : La bourdaine, **c** : L'arbousier,  
**d** : Le tournesol, **e** : Le châtaignier, **f** : Le tilleul

(<https://www.miel-lerucherdelours.fr/fr/>)

### 1.5.2. Miel de miellat

Il s'agit d'un liquide épais et visqueux constitué par les excréments liquides des homoptères (psylles, cochenilles et surtout pucerons). Ces insectes piqueurs (**Figure 4**) perforent les tissus végétaux avec leurs pièces buccales pour prélever les éléments azotés de la sève, et rejettent par leurs anus, des gouttelettes sucrées et riches en acides aminés, le miellat. Le miel de miellat est sombre, moins humide que le miel du nectar (**Rossant, 2011**). La cristallisation rapide de ce miel qui est souvent trouble, aigrelet et que se conserve moins longtemps (**Mutsaers et al. 2005**).



**Figure 4:** Récolte du miellat par les abeilles

**a :** Puceron rejette du miellat à la surface de la plante (<https://moncoachjardin.com/les-astuces-naturelles-pour-lutter-contre-les-fourmis-et-pucerons-au-jardin/>,

**b :** Puceron perce les parois végétales et ingère la sève dont il se nourrit, **c :** Plusieurs bulles de miellat se collent au puceron

([http://img.over-blog-kiwi.com/0/74/81/51/20160127/ob\\_576831\\_1131.jpg](http://img.over-blog-kiwi.com/0/74/81/51/20160127/ob_576831_1131.jpg)) ,

**d :** Une abeille absorbe les miellats rejetés par les pucerons

([https://static.cnews.fr/sites/default/files/styles/image\\_640\\_360/public/abeille\\_miel.jpg?itok=8inNwaQ3](https://static.cnews.fr/sites/default/files/styles/image_640_360/public/abeille_miel.jpg?itok=8inNwaQ3))

## 1.6. Composition chimique du miel

Le miel est un mélange biochimique complexe. Sa composition varie selon l'origine des plantes butinées par les abeilles, et par le procédé de la fabrication dont cette dernière demande plusieurs étapes et chacune d'entre elles a une influence sur la composition chimique. Le miel contient approximativement 181 composés. C'est un produit liquide naturel, hautement sucré, avec d'autres composés en petites quantités tels que les acides organiques, les acides aminés, les protéines, les minéraux, les vitamines, les enzymes, les flavonoïdes les acides phénoliques, les pigments .Ainsi que des substances volatiles donnant au miel son arôme (**Nair, 2014**).

### 1.6.1. Eau

L'eau est le deuxième composant principal du miel (17,2 g /100). Elle dépend non seulement des facteurs environnementaux, tels que le temps et l'humidité à l'intérieur de la ruche, mais également des traitements appliqués pendant la collection et le stockage du nectar et du miel. C'est un paramètre de qualité important, car il prévoit la durée de vie du produit et la capacité du miel de rester stable et exempt de fermentation. La teneur en eau la plus élevée augmente la probabilité que le miel commencera la fermentation lors du stockage. Malgré tout, la mesure simple et rapide de la teneur en eau s'est avérée suffisante pour doser le risque de fermentation de miel (**Ronald, 2011**).

### 1.6.2. Hydrates de carbone

Les hydrates de carbone sont les constituants principaux du miel, ils correspondent à 95 -99 % de la matière sèche. En termes moyens, ils sont composés principalement de fructose (38,2g/100), le glucose (31,3g/100), et le sucrose (0,7 g/100), les autres hydrates de carbone en miel constituent environ 12% en masse (**Ronald, 2011**). Beaucoup moins important en poids sont les disaccharides. Ils incluent le sucrose, à environ 1% et le maltose et beaucoup d'autres (tel que le gentiobiose, l'isomaltulose, le kojibiose, le lactose, le maltulose, le melibiose, le nigerose, le trehalose et le turanose) à environ 7%. Certains autres monosaccharides (tels que l'arabinose, le galactose et le mannose), trisaccharides (y compris centose, dextrantriose, kestose, maltotriose, panose et theanderose), tetrasaccharides (tels que le stachyose, et encore de sucre plus complexe comprenant l'isomaltotetraose (**Stanway, 2013**).



2005). Les miels plus sombres contiennent des niveaux plus élevés d'enzymes. (Stanway, 2013).

### 1.6.5. Acides organiques et autres matières organiques

Les acides organiques représentent une faible proportion dans le miel et l'acidité de ce dernier est principalement due à des acides organiques dont la quantité est inférieure à 0,5%. L'acidité contribue à :

- La saveur de miel
- la stabilité contre les microorganismes
- l'amélioration des réactions chimiques
- les activités antibactériennes et anti-oxydantes et granulation (Boukraa, 2010).

### 1.6.6. Vitamines

Le miel contient une quantité infime de vitamines (Tableau 1), probablement issues des quelques grains de pollen qu'il renferme (Laudien, 2010). Quasiment pas de vitamines A et D liposolubles et des traces de vitamine C, provenant le plus souvent du nectar des menthes, mais il se retrouve des vitamines du groupe B, B1 (la thiamine), B2 (la riboflavine), B3 (acide nicotinique), pp, B5, B6, B9 (l'acide folique), de la pyridoxine, de l'acide pantothénique, de la biotine apportées par les grains de pollen (Blanc, 2010). Les vitamines du miel sont d'autant mieux conservées que le pH est faible (Rossant, 2011).

**Tableau 1:** Vitamines dans le miel, en mg/100 g

Vitamine	mg /100 g
Thiamine (B1)	0.00-0.01
Riboflavine (B2)	0.02-0,01
Pyridoxine (B6)	0.01-0.32
Niacine (B3)	0.10-0.20
Acide pantothénique (B5)	0.02-0.11
Acide ascorbique (vitamine C)	2.2-2.5
Phylloquinone (vitamine K)	env. 0.025

(Bogdanov ; Matzke, 2003)

### 1.6.7. Sels minéraux et oligo-éléments

Les matières minérales ou cendres ont une teneur inférieure à 1% (elle est en général de l'ordre de 0,1%). Les miels foncés en contiennent plus que les miels clairs et les miels de fleurs contiennent 0,1g à 0,35g de sels minéraux et d'oligo-éléments pour 100g de miel, tandis

que les miels de miellat contiennent jusqu'à 1g /100g de miel (**Bogdanov et al., 2004 ; Huchet et al., 1996**).

Selon **Bogdanov et al., (2004) tableau 2** ci-dessous, la substance minérale principale est le potassium, on retrouve également du calcium, de sodium, de magnésium, de cuivre, de chlore, de magnésium et une trentaine d'oligo-éléments.

**Tableau 2:** Sels minéraux et oligo-éléments dans le miel de différentes provinces

Minéral	mg/kg	Minéral	mg/kg
Potassium (K)	200-1500	Manganèse (Mn)	0.2-10
Calcium (Ca)	40-300	Cuivre	0,2 - 6,0
Sodium (Na)	16-170	Zinc (Zn)	0.5-20
Magnésium (Mg)	7-130	Chrome (Cr)	2.25-15.6
Fer (Fe)	0.3-40	Cobalt (Co)	0-0.04

(**Morse, Lisk, 1980**)

Les miels de fleurs contiennent 0,1 à 0,35 g de sels minéraux et d'oligo-éléments /100 g de miel, les miels de miellat quant à eux jusqu'à 1 g/100 g et plus. La substance minérale principale est le potassium (**Amri, 2006**). Les miels foncés contiennent généralement plus de minéraux que les miels clairs. Ces minéraux sont le K, Na, Ca, mg, Fe, Cu, Zn, phosphore... etc (**Pradip, 2005**).

### 1.6.8. Lipides

De très faible quantité de lipides ont été isolés à partir du miel, principalement l'acide palmitique et oléique et très peu d'acide laurique, myristoléique, stéarique et linoléique (**Nair, 2014**). Le miel est pauvre en lipides : ceux qu'on y trouve sont probablement des microparticules de cire qui échappent à la filtration (**Huchet et al., 1996**).

### 1.6.9. Substances aromatiques

Les substances aromatiques ne sont pas importantes quant à leur poids. On dénombre plus de cinquante substances aromatiques qui peuvent permettre l'identification de l'origine des miels, car elles proviennent presque exclusivement de la plante (**Huchet et al., 1996**). **Donadieu (1984)**, ajoute que ces substances donnent l'arôme et le goût spécifique d'un miel, mais qui ont par ailleurs des vertus thérapeutiques. Elles se conservent le mieux si le miel est stocké au froid dans des récipients fermés. Si l'on chauffe le miel, une part de ces substances est dégradée (**Amri, 2006**).

### 1.6.10. Acides phénoliques et polyphénols

Une trentaine de composés phénoliques ont été identifiés dans le miel (principalement dans la propolis), dont des acides phénols, des flavones, flavanols et flavanones, les substances phénoliques interviennent, plus ou moins directement, sur la couleur par l'intermédiaire des flavonoïdes susceptibles de contribuer à la coloration jaune et d'une manière générale par les Composés phénoliques impliqués dans les phénomènes de brunissements enzymatiques ou non. Les miels foncés contiennent une grande quantité des acides phénoliques, mais moins de flavonoïdes. Ils contiennent également des pigments comme les caroténoïdes (**Amiot et al., 1989 ; Bogdanov, 2011**).

## 1.7. Principales transformations physiques et chimiques du miel

### 1.7.1. Cristallisation

Selon **Huchet et al. (1996)** : la cristallisation des miels est un phénomène très important car c'est de lui que dépend en partie la qualité du miel. Il dépend des facteurs suivants :

#### **Teneur en sucres**

Plus la teneur en glucose est élevée, plus rapide sera la cristallisation du miel, les miels avec plus de 28% du glucose se cristallisent très rapidement, mais aussi, plus la concentration en fructose par rapport à celle du glucose (rapport fructose/glucose) est élevée, plus la cristallisation est lente. En principe, le miel reste liquide au-dessus d'un rapport fructose /glucose proche de 1,3 (**Bogdanov, 1999**).

### 1.7.2. Température

La température optimale pour la cristallisation du miel se situe entre 10 et 18 °C. Une température constante de 14 °C est idéale pour un miel à teneur en eau moyenne. Les basses températures retardent la croissance des cristaux. Les hautes températures entraînent la dissolution des cristaux qui disparaissent totalement à 78°C (**Huchet et al. 1996 ; Bogdanov, 1999**). La température idéale pour une bonne conservation du miel doit être comprise entre 12 et 16°C, elle est ralentie à plus basse comme à plus haute température. Mais dans ce dernier cas, la dégradation du miel se caractérise par un taux d'HMF croissant dans le temps (**Djerd, 2008**).

### 1.7.3. Teneur en eau

Les miels avec une teneur en eau de 15 à 18 % ont une bonne cristallisation. Ceux dont la teneur est inférieure ou supérieure se cristallisent plus lentement, ceux au contenu hydrique faible deviennent durs, alors que ceux avec plus de 18 % d'eau reste mous (**Bogdanov, 1999**).

#### **1.7.4. Fermentation**

Tous les miels naturels contiennent des levures, des champignons microscopiques responsables de fermentation alcooliques. Ces derniers proviennent du nectar, mais également de pollutions accidentelles dues aux abeilles ou intervenant après la récolte (**Louveaux, 1985**).

# **Chapitre 2**

## **Propriétés des miels**

## 2. Chapitre 2. Propriétés des miels

### 2.1. Propriétés physico-chimiques

#### 2.1.1. Viscosité

Le miel est un liquide visqueux. Sa viscosité dépend d'une grande variété de substances et par conséquent varie dans sa composition et particulièrement avec sa teneur en eau et la température. Elle est indispensable à son traitement et il y a un lien important vers ses applications technologiques, extraction, pompage, réglage, filtration, mixage et mise en bouteille. Le miel de haute qualité est habituellement épais et visqueux. Si la concentration de l'eau est augmentée, le miel devient moins visqueux. Les protéines et d'autres substances colloïdales augmentent la viscosité de miel, mais leur quantité en miel peut être insignifiante (**Boukraa, 2010**).

#### 2.1.2. Densité

La densité du miel est une mesure de la densité du miel par rapport à l'eau et dépend de la teneur en eau. La densité du miel est de 1,40 à 1,45 g/cm<sup>3</sup>, il est plus lourd que l'eau. Autres facteurs tels que la source florale affectent légèrement la densité du miel, les miels de différentes origines ou lots devraient être bien mélangés pour éviter la superposition (**Boukraa, 2010**).

#### 2.1.3. Activité de l'eau

L'activité de l'eau dans un produit est le rapport entre la pression de vapeur d'eau à la surface du produit et la pression de vapeur de l'eau pure (vapeur saturée) à la même température ( $T^\circ$ ) du produit (**Amrouche, 2010**). L'influence de la composition du miel sur la valeur de l'activité de l'eau ( $a_w$ ) a été étudiée dans les travaux de **Ruegg et al. (1981)**. Les valeurs  $a_w$  du miel varient entre 0,55 et 0,75. Les miels dont l' $a_w$  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**). Auparavant, la mesure de l'activité de l'eau était longue et frustrante. Les nouvelles technologies de mesure ont grandement amélioré la rapidité, la précision et la fiabilité des mesures (**Chouia, 2014**).

#### 2.1.4. Conductivité électrique

La conductivité électrique est la capacité d'un matériel à transporter la circulation d'un courant électrique. Dans le miel, la conductivité électrique dépend principalement de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel; plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante

est élevée (**Bogdanov, 2011**). Le miel de nectar, les mélanges de miel de nectar et de miel de miellat ont une conductivité inférieure à 0,8 mS/cm et que le miel de miellat et le miel de châtaignier, supérieure à 0,8 mS/cm (**Codex stan-12, 1981**).

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel (**Piazza et al., 1991**). Ce paramètre est très utilisé pour la classification des miels monofloraux (**Persano Oddo et al., 2004**). Les Directives européennes 2001/110/CE (**Conseil de l'Union européenne, 2001**) et 2014/63/UE (**Conseil de l'Union européenne et Parlement européen, 2014**) indiquent que la conductivité électrique présente des valeurs extrêmement variables suivant le type de miel. Elle est le paramètre de qualité principale pour le miel, qui est spécifié dans le *Codex Alimentarius*.

#### 2.1.5. pH

**Bogdanov et al. (1999)** ont signalé que les miels issus de nectar ont un pH compris entre 3,5 et 4,5, par contre ceux provenant des miellats sont compris entre 5 et 5,5. **Ibrahim et al. (2012)** indiquent que le miel est naturellement acide indépendamment de son origine géographique, qui peut être due à la présence d'acides organiques qui contribuent à sa saveur et sa stabilité contre la détérioration microbienne. Le pH des échantillons du miel est important au cours du processus d'extraction, car elle affecte la texture, la stabilité et la durée de vie. Le **pH** du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries (**Malika et al., 2005**).

#### 2.1.6. L'acidité

L'acidité est un critère de qualité important tous les miels ont une réaction acide. Elle peut varier de 10 à 60 meq, par exemple pour le miel de Colza elle est au moyenne, pour le miel de Sapin de 18,6 (**Chauvin, 1968**). Selon **Poutailler (1983)**, un miel de bonne qualité ne doit pas avoir une acidité libre supérieure à 4 meq pour 100g.

L'acidité naturelle du miel s'accroît avec le vieillissement du miel, lorsqu'il est extrait de rayons fortement propolisés et notamment lorsqu'il s'altère par fermentation (**Horn et Lullmann, 1992**).

Les valeurs de pH et la teneur en acide libre de différentes sortes du miel sont indiquées dans le **Tableau** ci-dessous.

**Tableau 3:** Valeurs de pH et la teneur en acides libres de différentes sortes de miels

Valeur pH	Valeur pH	Acide libre meq/kg
Acacia	3,5-4,3	6-11
Châtaignier	4,2-6,5	12-32
Bruyère	4,0-5,4	19-53
Lavande	3,2-3,9	22-42
Fleurs d'origine	3,5-4,2	9-32
Colza	3,7-4,3	5-26
Romarin	3,2-4,1	4-11
Foret	4,2-6,0	28

(Talpay, 1985).

### 2.1.7. 5-hydroxy-2-méthylfurfural (HMF)

L'HMF est un composé organique dérivé de la déshydratation du fructose. Ni les nectars ou miellats, ni les miels frais n'en contiennent. Cette molécule apparaît au cours du processus de vieillissement naturel du miel. Ce processus est accéléré si les miels sont chauffés ou s'ils sont très acides. L'analyse de la quantité d'HMF est donc une excellente méthode pour apprécier la qualité d'un miel : son vieillissement et son chauffage (Gonnet, 1963 ; Dustmann *et al.* 1985 ; Bogdanov *et al.* 1997 et Deschamps, 1998).

Du point de vue légal (Décret n°2003-587 du 30 juin 2003 la directive européenne n°2001/110/CE du Conseil du 20 décembre 2001), les teneurs limites en HMF sont les suivantes : En général et à l'exception du miel destiné à l'industrie, le seuil maximal est de 40 mg/kg, les miels et mélanges de miels provenant de régions ayant un climat tropical ne peuvent excéder 80 mg/kg. A une température de stockage de 4°C, en fonction de son acidité, un miel mettra 20 à 80 ans pour atteindre le seuil légal de 40mg/kg. A température ambiante de 20°C (température de stockage chez la plupart des consommateurs), cette durée sera de 2 à 4 ans. Si le miel est porté à température plus élevée, même pendant un court moment, la teneur en HMF augmentera plus vite.

## 2.2. Propriétés organoleptiques

### 2.2.1. Couleur

La couleur constitue un critère de classification notamment d'un point de vue commercial. Plus il est clair, moins il est riche en minéraux et inversement. La couleur du miel est un autre paramètre de qualité. Les miels sont divisés en sept catégories de couleurs, elle va du jaune (Tableau 4) très pâle (presque blanc) au brun très foncé (presque noir) en passant par toute la gamme des jaunes, oranges, marrons et même parfois des verts ; mais le plus souvent le miel

est blanc . Elle est due aux matières minérales qu'il contient. La teneur en cendres des miels est inférieure à 1%, la moyenne étant 0.1%, la variabilité est grande puisque les miels les plus pauvres en matières minérales contiennent 0.02% de cendres. Il s'agit des miels très clairs ; les plus foncés étant les plus minéralisés (**Chouia, 2014**).

**Tableau 4:** Les différentes couleurs des miels en fonction de leur origine florale

Origine florale	Couleur
Acacia	Incolore
Lavande, Tilleul	Ivoire
Tournesol, Pissenlit	Jaune
Châtaignier	Brun
Saule, Sapin	Très foncée avec des reflets verts

(Clement, 2003)



**Figure 5:** Large variation de couleurs de miel

<https://www.nutri-beaute-sante.com/img/cms/2013-10-coffret-decouverte-7-pots-de-miel-500g.jpg>

<https://www.nutri-beaute-sante.com/blog/miel-bio-vs-miel-conventionnel-n18>

### 2.2.2. Odeur

Dans les différents miels, les odeurs varient considérablement mais s'évaporent rapidement. Elles sont végétales, florales ou fruitées, puissantes ou non, fines, lourdes, vulgaires. Une odeur de fumée ou de fermentation est un défaut (**Guerzou et Nadji, 2009**).

### 2.2.3. Goûts

Il s'agit des arômes, de la saveur (acide, sucré salée, amère) et de la flaveur par voie rétro nasale. Ils sont végétaux, floraux, empyreumatiques, fins, puissants ou persistants exogènes. L'arrière-goût peut être amer ou acide et laisses-en fin de bouche de tanin, de rance, de fumée (**Guerzou et Nadji, 2009**). Donc l'arôme, le goût et la couleur du miel dépendent des plantes où les abeilles ont récolté le nectar. Les tournesols, par exemple, donne 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 (**Chouia, 2014**).

### 2.3. Propriétés alimentaires et diététiques

Le miel non contaminé est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories. Il contient des glucides, des protéines, des lipides, des enzymes et des vitamines. Une cuillère à soupe de miel fournit 60 calories et contient 11 g de glucides, 1 mg de calcium, 0.2 mg du fer, 0.1 mg de vitamine B et 1 mg de vitamine C. Il est largement disponible mais son potentiel médical est encore peu exploitable. Son mode d'action n'est pas encore complètement élucidé et ses propriétés curatives demandent plus d'évaluation et d'investissement. Aux propriétés bénéfiques du miel miraculeusement exprimées dans le Saint Coran et la Sunna il y a 14 siècles, s'oppose une réticence de la science moderne pour accepter et exploiter le "remède traditionnel" (**Lina et al., 2011**).

### 2.4. Propriétés thérapeutiques

On attribue au miel un très grand nombre de propriétés thérapeutiques (propriétés antiseptiques, antianémiques et antitussives par exemple) (**Guarch, 2008 et Chanaud, 2010**). D'après certaines études, un miel riche en fructose peut même être consommé par des personnes diabétiques (**Chauvin, 1968**). Le miel est doué d'un pouvoir bactériostatique important, de par sa haute teneur en sucres (plus de 95% de la matière sèche), sa faible teneur en eau libre (0,50 à 0,62%) et en humidité (14 à 20%), son acidité et la présence de substances à activité antibactérienne (peroxyde d'hydrogène libre et inhibine).

Il est régulièrement utilisé dans le traitement des plaies. Cependant, lors d'un chauffage prolongé, le miel perd ses propriétés (de moitié pour un chauffage à 80°C pendant 30 min, d'un quart pour un chauffage à 65°C pendant 5 minutes) (**Gonnet et Lavie, 1960**). Il est par conséquent préférable d'utiliser en thérapeutique un miel qui n'a pas été chauffé à plus de 40°C.

## 2.5. Propriétés anti-diarrhéiques

A une concentration de 40%, le miel a un effet bactéricide sur différentes bactéries de l'intestin souvent associées à la diarrhée et la dysenterie comme *Salmonella*, *Shigella*, *E. coli* entéropathogènes et *Vibrio cholera*. Une étude a montré que le miel donné avec un liquide de réhydratation aux enfants réduit la durée de la diarrhée bactérienne (Lina et al., 2011).



**Figure 6:** Vertus du miel

<http://arasasal.ir/index/blogview/id/37/>

## 2.6. Propriétés cicatrisantes des blessures et anti-inflammatoire

Grâce à sa capacité à absorber l'humidité de l'air, le miel facilite la guérison et la cicatrisation des blessures (Figure7). À l'origine de ce phénomène est la capacité du miel à stimuler le développement des cellules épithéliales formant la nouvelle peau sur une blessure en cours de cicatrisation. De cette manière, et ce même en cas de blessures étendues, le miel permet d'éviter le recours à une transplantation (Harun, 2003). Le miel à un effet anti-inflammatoire, ce qui réduit la tuméfaction d'une blessure. Ceci améliore la circulation et ainsi active le processus de cicatrisation. Il réduit aussi la douleur. Il ne colle pas aux tissus sous-jacents à la blessure, donc le tissu nouvellement formé n'est pas rattaché, et aucune douleur n'est ressentie lorsque les pansements sont chargés (Harun, 2003).



**Figure 7:** Effet cicatrisant du miel

**a et b :** Traitement d'une plaie avec le miel après une opération chirurgicale, **c :** Plaie d'une pathologie thyroïdienne traitée par le miel, **d :** Plaie d'une pathologie thyroïdienne non traitée par le miel (**Service de chirurgie générale -B-, CHU Tlemcen**).

### **2.7. Action antianémique**

Cette action serait en relation avec la présence de fer et de cobalt dans le miel. Le cobalt est un composant normal de la vitamine B12 qui intervient dans l'organisme lors de la biosynthèse de nombreuses substances et dans différents mécanismes, notamment comme activateur de l'hématopoïèse (**Maameri, 2014**).

### **2.8. Action apéritive et digestive**

Les acides présents dans le miel influencent favorablement l'appétit et la digestion (**Maameri, 2014**).

### **2.9. Propriétés antitussives, expectorantes et adoucissantes**

En effet, le miel calme la toux, facilite l'expectoration, et soulage les maux de gorge (**Maameri, 2014**).

### **2.10. Action préventive vis à vis des cancers**

Le risque de cancers est accru dans une population qui présente un déficit en vitamines, en oligo-éléments et en certains nutriments indispensables au métabolisme cellulaire et à la

production d'enzymes et d'hormones. Ces nutriments qui ont une action inhibitrice sur le processus cancérigène se trouvent pour la plupart dans le miel. On peut notamment citer les flavonoïdes, qui ont la capacité de ralentir le processus d'évolution des tumeurs (**Maameri, 2014**).

### **2.11. Propriétés antioxydantes**

Processus d'oxydation et ses conséquences. Les sources d'antioxydants sont nombreuses et variées : extrait d'herbe, de miel, de fruits, de légumes, de thé. En règle générale, les miels foncés et les miels ayant une forte teneur en eau ont une capacité anti-oxydante plus grande que celle des autres miels. De plus, l'activité anti-oxydante des miels est très variable d'un miel à un autre, et elle dépend essentiellement de son origine botanique (**Maameri, 2014**).

### **2.12. Propriétés antimicrobienne du miel**

Les propriétés antibactériennes du miel proviennent principalement des « inhibines », dont le peroxyde d'hydrogène produit par la glucose oxydase est la plus connue. Les inhibines dites « non peroxydes » telles que certains facteurs phytochimiques (flavonoïdes, lysozymes, dérivés phénoliques) inhibent également la reproduction des bactéries. La défensine-1, qui joue plutôt un rôle dans le système immunitaire, et le méthylglyoxal (MGO) à dose élevée de 29 certains miels sont par ailleurs d'autres facteurs antibiotiques importants (**Kwakman et Zaat, 2012**).

Depuis **Van Ketel** qui pour la première fois en 1892 avait fait état de l'activité antibactérienne du miel ; les différents aspects des propriétés antibactériennes du miel ont été abondamment étudiés. Mais les raisons de l'activité antibactérienne du miel sont controversées.

**Allen** a montré qu'il existe différents types de miels avec ou sans activité antibactérienne, et a émis l'hypothèse que l'activité antibactérienne du miel dépend du type de fleur, source de nectar. Ainsi donc les fleurs à partir desquelles les abeilles butinent le nectar contribuent à la différence de l'activité antibactérienne des miels (**Bogdanov, 1984**). Cependant selon **Badawy et al., (2004)**, Il est évident que l'activité antibactérienne du miel décroît avec le temps et que, les différentes espèces de bactéries diffèrent dans leur sensibilité au miel. On ne connaît pas encore tous les composants antibactériens du miel et ses vertus curatives continuent de constituer une énigme pour les chercheurs (**Bogdanov et Blumer, 2001**).

Selon **Bogdanov (1997)** il existe deux sortes d'agents antibactériens appelés « inhibines ». À noter que le concept « inhibines » a été introduit pour la première fois en 1937 par **Dodd** et ses collaborateurs pour qualifier les agents antimicrobiens. L'une d'elles est sensible à la lumière et à la chaleur, et trouve son origine dans le peroxyde d'hydrogène, produit par le

glucose oxydase du miel. L'activité antibactérienne non peroxyde est insensible à la lumière et à la chaleur et reste intacte après stockage du miel pour de longues périodes.

### **2.13. Propriétés spécifiques à chaque miel**

Il existe des miels spécifiques préconisés dans certaines pathologies, que chaque miel associé des vertus médicinales de la fleur dominante dont il provient (**Tableau 6**).

**Tableau 5:** Les différentes sortes de miel

<b>Origine floral</b>	<b>Description</b>	<b>Action</b>
<b>Acacia</b>	Liquide et doux de couleur ambrée, jaune or et blanc	Bon édulcorant. Stimule la digestion
<b>Aubépine</b>	Crémeux	Antispasmodique. Stimule la digestion, cardiopathie. Crampe, crispations (des paupières par Example), contractures. Insomnies
<b>Sarrasin</b>	Foncé et corsé	Stimule la digestion
<b>Châtaignier</b>	Foncé et corsé	Stimule la circulation du sang
<b>Trèfle</b>	Claire et doux	Calmant et relaxant
<b>Lavande</b>	Claire et aromatique	Calmant. Antiseptique respiratoire
<b>Tilleul</b>	Corsé et aromatique	Calmant. Favorise le sommeil
<b>Pissenlit</b>	Jaune doré	Nettoie le sang
<b>Sapin</b>	Foncé et corsé	Anti-anémique.diurétique. antiseptique respiratoire
<b>Thym</b>	Foncé et corsé	Stimule la digestion
<b>Miel de Romarin</b>	Claire, toujours très pâle, presque	Stimulant hépatique, insuffisances digestives
<b>Miel d'Oranger</b>	Liquide, dorée et translucide blanche	Sédatif, antispasmodique
<b>Miel de montagne</b>	Foncé, presque noir, Crémeux	Troubles hépatiques, anémie
<b>Miel de chêne</b>	brun foncé, quasiment noir Texture : liquide, crémeuse	anémie, fatigue, chez les sportifs, les personnes âgées

(Aboussedik, 2008; Bazoche, 2011)

#### **2.14. Contre-indication du miel**

Le miel est l'un des suppléments nutritionnels bien connu et qui est également utilisé pour le traitement de certains problèmes de santé ainsi pour la préparation de médicaments naturels. Mais dans certains cas, la consommation excessive de miel peut donner lieu à des effets secondaires différents :

- Crampes d'estomac et de la constipation
- Augmentation du niveau de sucre dans le sang
- Eviter chez les enfants de moins de 12 mois
- Dysfonctionnement du tractus gastro-intestinal
- Allergie et gain de poids
- L'augmentation de risque de saignement : quand on souffre d'une hémorragie interne ou externe, il convient d'éviter la consommation de miel (**Colongeon-Boukobza, 2014 ; Luca, 2016**).

### 3. Les microorganismes dans le miel

On trouve dans le miel beaucoup moins de bactéries que dans d'autres produits crus de provenance animale (**Tysset et al., 1981**). On note dans quelques publications la présence de *Clostridium botulinum* dans le miel (**Amon et al., 1979**).

Les études menées en Europe ne confirment pas ces résultats (**Hartgen, 1980**) cité par (**Bogdanov, 1995**), à l'exception d'un miel italien (**Criseo et al., 1993**) cité par le même auteur. Certes, les toxines ne peuvent pas se former, étant donné que la forte activité de l'eau empêche la germination et la croissance ; les spores par contre peuvent survivre (**Welford et al., 1978**). Le miel contient différentes levures osmotolérantes, responsables de la fermentation (**Tysset et al., 1981**).

#### 3.1. Contaminants et composés toxiques potentiels dans le miel

Plus étonnant, un certain nombre de microorganismes ont été répartis dans le miel. Cette présence due à une contamination via les pollens, l'air, les fleurs, le contenu digestif des abeilles, la poussière... on va donc trouver dans les ruches, sur les abeilles adultes, des bactéries et des levures qui se trouvent ensuite dans le miel comme le montre **le tableau 6** suivant. En effet, les intestins des abeilles contiennent 1% de levures, 27% de bactéries Gram+ et 70% de bactéries diverses dont les Gram négative. L'autre source de contamination du miel est constituée par l'homme, les équipements, les récipients, l'atmosphère lors de la récolte et du conditionnement (**Delphine, 2010**). Par ailleurs, il est possible de retrouver des résidus d'antibiotiques utilisés dans le traitement curatif ou préventif des colonies d'abeilles (**Koehler, 2015**).

**Tableau 6:** Micro-organismes répertoriés dans le miel

<b>Bactéries</b>	<b>Levures</b>	<b>Champignons</b>
<i>Alcaligenes</i>	<i>Ascophaera</i>	<i>Aspergillus</i>
<i>Achromobacter</i>	<i>Debaromyces</i>	<i>Alihia</i>
<i>Bacillus</i>	<i>Hansenula</i>	<i>Bettsia</i>
<i>Bacteridium</i>	<i>Lipomyces</i>	<i>alvei</i>
<i>Brevibacterium</i>	<i>Nematospora</i>	<i>Cephalosporium</i>
<i>Citrobacter</i>	<i>Oosporidium</i>	<i>Chaetomium</i>
<i>Clostridium</i>	<i>Pichia</i>	<i>Coniothecium</i>
<i>Enterobacter</i>	<i>Saccharomyces</i>	<i>Hormiscium</i>
<i>Escherichia coli</i>	<i>Scizosaccharomyces</i>	<i>Peronsporaceae</i>
<i>Erwinia</i>	<i>Trichosporium</i>	<i>Peyronelia</i>
<i>Flavobacterium</i>	<i>Torula</i>	<i>Tripoosporium</i>
<i>Klebsiella</i>	<i>Torulopsis</i>	<i>Uredianceae</i>
<i>Micrococcus</i>	<i>Zygasaccharomyces</i>	<i>Ustilaginaceae</i>
<i>Neisseria</i>		
<i>Pseudomonas</i>		

(Olaitan et al., 2007; Sib, 2007)

#### 4. Les miels Algériens

L'activité apicole est intimement dépendante des ressources mellifères dont dispose le pays et qui sont très riches et variées. L'apiculture est prédominante dans les régions suivantes :

- **Zone de littoral** : miel d'agrumes et Eucalyptus
- **Zone de montagne** : Kabylie : miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et Bruyère ; Hauts plateaux : miel de sainfoin, romarin et jujubier
- **Maquis et forêts** : miel toutes fleurs et miellat

La production nationale en miel est estimée en moyenne à 33 000 qx pour l'année 2011 avec un rendement de 4 à 8 Kg/ruche, ce qui est très faible par rapport aux potentialités mellifères qu'offre notre pays. En 2011 l'Algérie a introduit plus de 150.000 T de miel de Chine, d'Inde et d'Arabie Saoudite (**Oudjet, 2012**).

#### **4.1. Estimation de la consommation de miel par habitant et par an en Algérie**

Si on fait une estimation de la quantité de miel consommée en Algérie par individu et par an, en se basant sur les chiffres de production nationale de miel, des quantités de miels importés et de la démographie, on passe de 0,060 kg/an/h en 1998 à 0,133 kg/an/h en 2010 (**Ministère de l'agriculture et du développement rural, 2012**).

#### **4.2. Aspects réglementaires vis-à-vis du miel**

En Algérie aucune législation n'existe concernant les miels cultivés par les apiculteurs. Les miels se vendent dans des bouteilles en verres sans aucun étiquetage et le consommateur achète le miel par tradition en tenant compte essentiellement de l'origine géographique. Ces miels ne sont pas donc soumis à une analyse de qualité physico-chimique ou son origine botanique. En Europe les critères de qualité du miel figurent dans une directive européenne et dans les normes du *Codex Alimentarius* (**Bogdanov, 1999**), de nouveaux critères de qualité tels que la teneur en sucres spécifiques et la conductivité électrique sont pris en considération. Les tâches futures de la commission internationale du miel consisteront à rassembler et à harmoniser les méthodes et les critères pour la caractérisation des miels mono floraux.

# **Matériel & méthodes**

## 5. Matériel et Méthodes

### 6. Analyse de la qualité microbologique des miels

#### 6.1. Site d'étude et échantillonnage

Notre travail a porté sur l'étude de la qualité microbologique ainsi que le pouvoir antibactérien des quatre (04) échantillons de miels, deux (02) miels locaux (**miel Zriba et miel de sidi Achour**), ces derniers proviennent de la commune de Séraïdi située au niveau de la wilaya d'Annaba, l'un à été prélevé à haute altitude (**miel de Zriba**), récolté en automne 2018, l'autre en basse altitude (**miel de Sidi Achour**) récolté en été 2018 et deux miels importés, disponible sur le marché : le miel mille fleur San Francisco ainsi que le miel Alshifa (**Figure 8**).



**Figure 8.** Les échantillons de miels (miel : Zriba, Sidi Achour, Alshifa et San Francisco)

#### 6.2. Technique de l'analyse

Les analyses microbiologiques répondent aux normes réglementaires suivantes :

-JO N 70 du 07/11/2004 relatif à la norme ISO 6887-1 microbiologie de la chaîne alimentaire ; préparation des échantillons dans la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.

Partie 1 : Règles générales pour la préparation de la suspension mère et des dilutions décimales

## 6.2.1. Préparation des échantillons

### 6.2.1.1. Mode opératoire

- Peser 10,0 g de miel dans un flacon stérile (préalablement chauffée au bain marie 30°C pour son homogénéisation avec le diluant).
- Ajouter 90 ml de diluant tryptone-sel
- Agiter vigoureusement l'échantillon afin d'assurer une répartition aussi uniforme que possible des microorganismes en inversant rapidement 25 fois le récipient contenant l'échantillon. Il faut éviter la formation de mousse ou bien la laisser se disperser.



Figure 9. Pesée et dilution des échantillons

### 6.2.2. Préparation de la gamme des dilutions

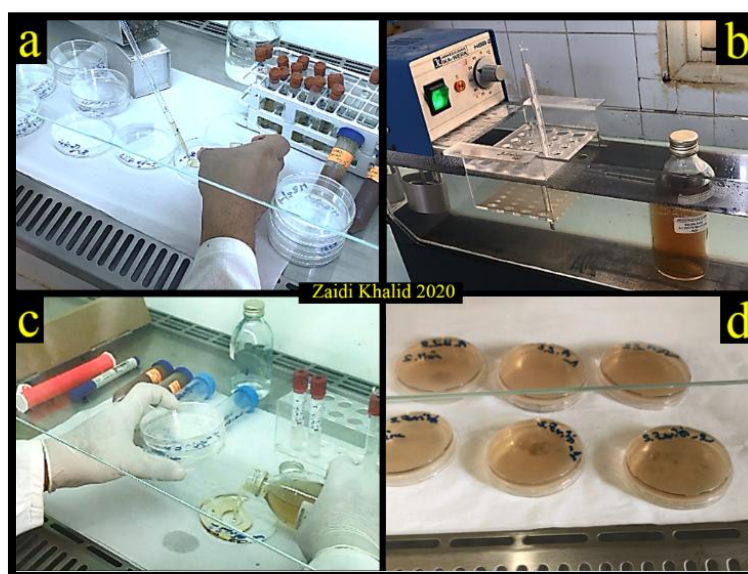
- Prélever 1ml de l'échantillon pour essai à l'aide d'une pipette stérile et rajouter 9 ml de diluant tryptone-sel
- Agiter cette dilution primaire. On obtient alors la dilution  $10^{-1}$
- Introduire avec une nouvelle pipette 1 ml de la dilution primaire dans un nouveau tube de 9 ml de diluant (peptone-sel) en évitant le contact de la pipette avec le diluant. Utiliser une nouvelle pipette pour chaque dilution
- Si nécessaire répéter ces opérations avec le diluant stérile en utilisant les dilutions  $10^{-2}$  et les suivantes pour obtenir les dilutions  $10^{-3}, 10^{-4}, \dots$ etc.

## 6.2.3. Dénombrement des levures et moisissures (JORA N°39, 02 Juillet 2017)

### 6.2.3.1. Mode opératoire

#### 6.2.3.1.1. Ensemencement et incubation :

- Déposer à l'aide d'une pipette graduée stérile 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  dans une boîte de Petri vide stérile (Si nécessaire, recommencer cette opération avec les autres dilutions décimales) (**Figure 10a**)
- Couler dans chaque boîte de Petri 12 à 15 ml du milieu Sabouraud préalablement fondu au bain-marie réglé à  $45^{\circ}\text{C}$  (**Figure 10 b et c**)
- Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale ;
- Préparer un nombre suffisant de boîtes témoins pour vérifier la stérilité du milieu de culture ;
- Retourner les boîtes ainsi préparées et les placer à l'étuve réglée à  $25^{\circ}\text{C}$  pendant 72h (**Figure 10d**).



**Figure 10:** Mode opératoire pour le dénombrement des levures et moisissures

#### 6.2.3.2. Expression des résultats

- Compter les colonies de moisissures et levures
- Multiplier cette valeur par l'inverse du volume de l'inoculum ensuite par l'inverse du taux de dilution de l'échantillon pour l'essai afin d'obtenir le nombre de moisissures et celui des levures par gramme.

Calculer le nombre de microorganismes par millilitre de miel à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Nombre / ml} = \frac{\sum c}{(n1+0.1 n2+0,01 n3).d}$$

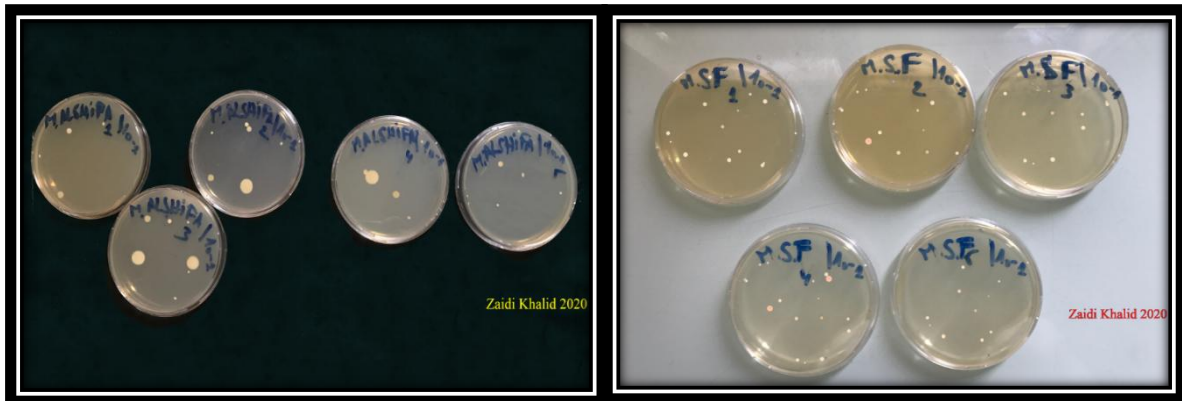
$\sum c$  : Somme totale des colonies comptées

**n1** : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution

**n2** : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution

**n3** : Nombre de boîtes comptées dans la troisième dilution

**d** : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage ont été obtenus



**Figure 11.** Lecture des boîtes de Petri du dénombrement des levures et moisissures

#### 6.2.4. Dénombrement des coliformes fécaux (NF V 08-060)

##### 6.2.4.1. Mode opératoire

##### 6.2.4.1.1. Ensemencement et incubation :

- Prendre 2 boîtes de Petri stériles et à l'aide d'une pipette, transférer dans chacune des boîtes 1ml de la suspension mère.
- Prendre deux autres boîtes de Petri stériles, transférer dans chacune 1 ml de la dilution  $10^{-1}$ .
- Si nécessaire, recommencer cette opération avec les autres dilutions décimales.
- Couler dans chaque boîte de Petri 12 à 15 ml du milieu Gélose **Violet rouge bile lactose** préalablement fondu et un bain-marie réglé à 45°C.
- Mélanger soigneusement l'inoculum au milieu de culture et laisser se solidifier en posant les boîtes sur une surface fraîche et horizontale.
- Préparer un nombre suffisant de boîtes témoins pour vérifier la stérilité du milieu de culture.
- Retourner les boîtes ainsi préparées et les placer à l'étuve réglée à 44°C pendant 24h.

#### 6.2.4.1.2. Interprétation

- Compter les colonies rouge foncé ayant un diamètre d'au moins 0.5mm caractéristiques des coliformes.
- Compter les colonies dans chaque boîte à l'aide de l'appareil compteur de colonies.

#### 6.2.4.2. Expression des résultats

Calculer le nombre de microorganismes par millilitre de miel à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1 n2).d}$$

**N** : Nombre de germe / ml

$\sum c$  : Somme totale des colonies comptées

**n1** : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution

**n2** : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution

**d** : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage ont été obtenus

#### 6.2.5. Dénombrement de *Staphylococcus aureus* (ISO 6888-1:1999/Amd 1:2003)

##### 6.2.5.1. Mode opératoire

##### 6.2.5.1.1. Ensemencement et incubation

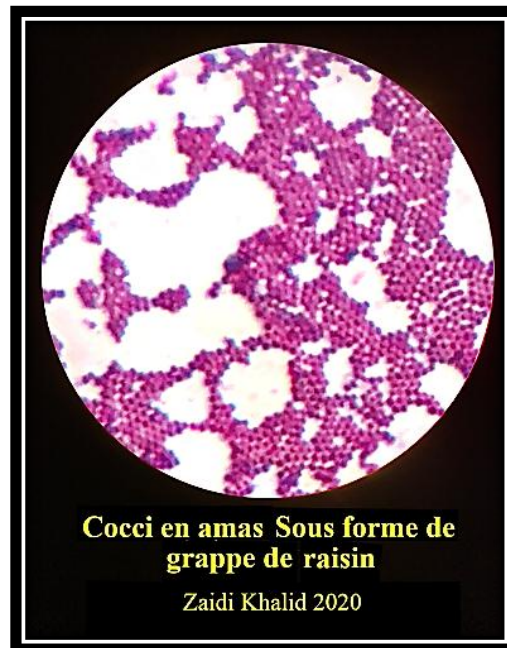
- Transférer avec une pipette stérile, 0.1ml de la suspension mère (dilution  $10^{-1}$ ) à la surface de 2 boîtes de milieu gélosé **Baird-Parker**. Répéter l'opération avec la dilution  $10^{-2}$  et les dilutions suivantes si nécessaire.
- Étaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu gélosé en essayant de ne pas toucher les bords de la boîte avec l'étaleur en verre. Utiliser un étaleur en verre pour chaque boîte.
- Laisser sécher les boîtes avec leur couvercle durant environ 15 min à la température ambiante.
- Incuber les boîtes durant 24 à 48 h dans l'étuve réglée à  $35 \pm 1^\circ\text{C}$  ou à  $37 \pm 1^\circ\text{C}$

##### 5.3.5.1.2. Sélection des boîtes et Interprétation

- Choisir en vue de la confirmation 5 colonies caractéristiques et /ou 5 colonies non caractéristiques
- Les colonies caractéristiques sont noires, brillantes et convexes (1 à 1.5 mm de diamètre après 24 h d'incubation et 1.5 à 2.5 mm de diamètre après 48 h d'incubation)

et entourées d'une zone transparente avec un anneau opalescent claire qui peut être partiellement opaque

**NB :** En cas présence de colonies on passe à la confirmation de *Staphylococcus aureus* par la recherche de l'enzyme coagulase par rapport aux autres souches de Staphylocoque à coagulase négative



**Figure 12.** Coloration de Gram de *Staphylococcus aureus*

#### **5.3.5.2. Confirmation (recherche de la coagulase)**

- Prélever chaque colonie sélectionnée et l'ensemencer dans un tube de bouillon cerveau-cœur. Faire incuber à 35°C ou 37°C durant 20 à 24 heures
- Ajouter stérilement 0.1 ml de chaque culture à 0.3 ml de plasma de lapin et incuber à 35°C ou 37°C.
- Examiner la coagulation du plasma après 4 à 6 heures
- Considérer que la réaction à la coagulase est positive quand le coagulum occupe plus de trois-quarts du volume initialement occupé par le liquide.
- A titre de contrôle, ajouter 0.1 ml de bouillon cerveau cœur stérile à la quantité recommandé de plasma de lapin et faire incuber sans ensemencement. Pour que la réaction soit valable, le plasma de lapin du tube témoin ne devra pas montrer de signes de coagulation.



**Figure 13:** lecture de l'enzyme coagulase

### 5.3.5.3. Expression des résultats

- Si au moins 80% des colonies examinées sont coagulase-positives, considérer que la totalité des colonies dénombrées correspondent à *Staphylococcus aureus*
- Dans tous les autres cas, calculer le nombre à partir du pourcentage de *Staphylococcus aureus* présumés qui sont coagulase-positives.
- Calculer le nombre moyen de *Staphylococcus aureus* avec les résultats obtenus sur les deux séries de boîtes ou avec deux dilutions consécutives.
- Multiplier cette valeur par l'inverse du volume de l'inoculum ensuite par l'inverse du taux de dilution de l'échantillon pour essai afin d'obtenir le nombre de *Staphylococcus aureus* par ml.

Calculer le nombre de microorganismes par millilitre à l'aide de la formule suivante :

$$N = \frac{\sum c}{(n1 + 0.1 n2).d}$$

**N** : Nombre de germe / ml

$\sum c$  : Somme totale des colonies comptées

**n1** : Nombre de boîtes comptées dans la première dilution

**n2** : Nombre de boîtes comptées dans la seconde dilution

**d** : Facteur de dilution à partir duquel les premiers comptage ont été obtenus

### 5.3.6. Dénombrement en anaérobiose des bactéries sulfite-réductrices par comptage des colonies (NF T 90-415 1985 Spores)

#### 5.3.6.1. Préparation du miel à analyser :

- Afin de détruire les formes végétatives des bactéries et conserver seulement les spores thermo résistantes, placer 10 ml du miel à analyser dans un gros tube à essai pyrex et chauffer au bain marie à 80°C durant 10 mn, refroidir rapidement sous courant d'eau.

#### 5.3.6.2. Ensemencement :

- Faire fondre au bain marie bouillant le flacon de 250 ml de gélose VF jusqu'à liquéfaction complète ; refroidir ensuite jusqu'à 55°C et ajouter une ampoule d'alun de fer et une ampoule de sulfite de sodium. Remettre au bain marie réglé à 55°C afin d'éviter la solidification de milieu
- Mélanger doucement pour éviter toute introduction d'air. Refroidir immédiatement sous courant d'eau.
- Incuber 18 à 24 heures à 37°C.

#### 5.3.6.3. Lecture :

Les *clostridii* sulfite-réducteurs (total des bactéries sporogones réductrices) donnent après 18 à 24 h des colonies par réduction du sulfite et production de sulfure de fer.

(Si l'on recherche spécialement *Clostridium perfringens* on cultive à 44 °C de façon à rendre le milieu plus sélectif)

#### 5.3.6.4. Expression des résultats

Calculer le nombre de microorganismes par millilitre de miel de 03 dilutions à l'aide de la formule suivante :

$$\text{Nombre / ml} = \frac{\Sigma c}{(n1+0.1 n2).d}$$

C : Somme totale des colonies comptées

n1 : Nombre de boites comptées dans la première dilution

n2 : Nombre de boites comptées dans la seconde dilution

d : facteur de dilution à partir duquel les premiers comptages ont été obtenus



**Figure 14:** Les spores des clostridii sulfito-réducteurs isolées dans le miel Alshifa

### 5.3.7. Dénombrement de *Bacillus cereus* par comptage des colonies à 30°C

(NF XP V 08-058) Novembre 1995

#### 5.3.7.1. Mode opératoire

##### 5.3.7.1.1. Ensemencement et incubation

- Couler dans chaque boîte de Petri 12 à 15 ml du milieu Gélose **Mossel milieu complet** préalablement fondu et un bain-marie réglé à 45°C.
- Laisser solidifier la gélose à température de la salle
- Transférer dans chaque boîte de Petri 1 ml de la dilution  $10^{-1}$  de l'échantillon
- Etaler soigneusement l'inoculum le plus rapidement possible à la surface du milieu en évitant de toucher les bords de la boîte avec l'étaleur. Laisser les boîtes couvercle fermé pendant environ 15 min à la température ambiante pour permettre à l'inoculum d'être absorbé dans la gélose.
- Recommencer ces opérations avec les dilutions suivantes, à l'aide d'une nouvelle pipette stérile, pour chaque dilution décimale
- Retourner les boîtes préparées et les faire incuber pendant 18h à 24h à l'étuve réglée à 30°C. Si les colonies ne sont pas bien visibles, incuber de nouveau les boîtes pendant 18h à 24h avant de procéder au comptage.
- Après la période d'incubation, retenir les boîtes contenant les colonies présumées de *Bacillus cereus*. Les colonies présumées de *Bacillus cereus* sont : grande, rose (ne fermentant pas le mannitol) et presque toujours entourées d'une zone de précipité (indiquant une production de lécithinase).

### 5.3.7.2. Expression des résultats :

Calculer le nombre N de microorganismes par millilitre ou par gramme de produit, à l'aide de l'équation suivante :

$$N = \frac{\sum a}{V \times 1,1 d}$$

Où :

$\sum a$  : est la somme des colonies de *Bacillus cereus* comptées après identification sur les deux boîtes retenues

$d$  : est le taux de dilution correspondant à la première dilution retenue ;

$V$  : est le volume étalé sur chaque boîte.

- Arrondir les résultats calculés à deux chiffres significatifs (voir ISO 7218).

Noter comme résultat le nombre par millilitre ou par gramme de produit, exprimé par un nombre compris entre 1,0 et 9,9 multiplié par  $10^x$  où  $x$  est la puissance appropriée de 10.

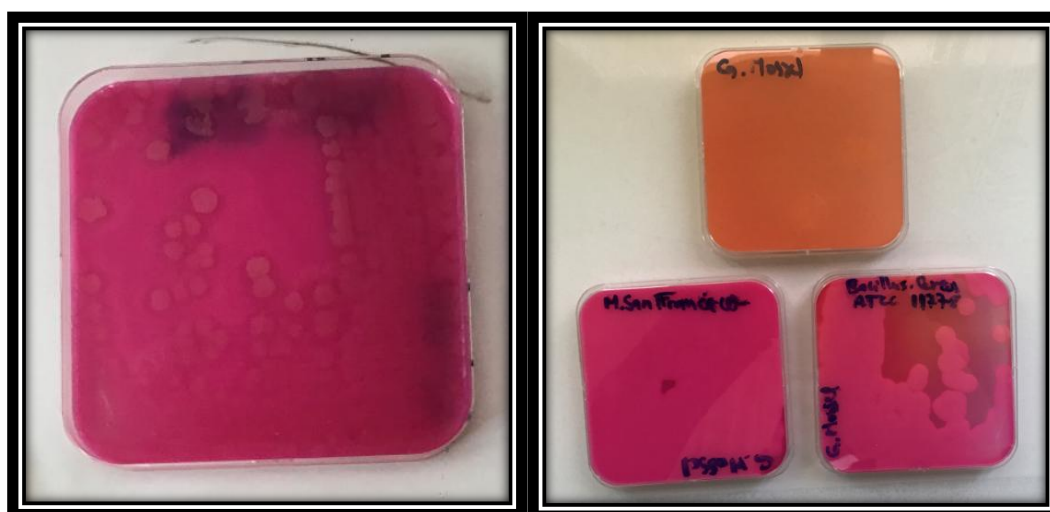


Figure 15: Colonies de *Bacillus cereus* sur la gélose Mossel

## 5.3.8. Recherche des Salmonelles Norme ISO 6579

### 5.3.8.1. Mode opératoire

#### 5.3.8.1.1. Principe

La recherche des Salmonella dans les échantillons des différentes denrées alimentaires nécessite quatre phases analytiques.

#### 5.3.8.1.2. Pré-enrichissement en milieu non sélectif liquide

Faire une prise d'essai 25g de l'échantillon à analyser dans 225 ml de l'eau peptonée tamponnée (EPT) à température ambiante avec, puis incubé à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  pendant  $18\text{h} \pm 2\text{h}$ .

#### 5.3.8.1.3. Enrichissement en milieu sélectif

- Ajouter 0.1 ml du milieu de pré-enrichissement incubé dans un tube contenant 10 ml du milieu d'enrichissement Rappaport–Vassiliadis et 0.1 ml dans un autre dans un tube contenant 10 ml bouillon Muller –Kauffmann
- Incuber le bouillon Muller–Kauffmann à  $37\text{°C}$  pendant 18 à 24 h.
- Incuber le bouillon Rappaport-Vassiliadis à  $44\text{ °C}$  pendant 18 à 24 h.

#### 5.3.8.1.4. Ensemencement et identification

- Ensemencer avec une anse, à partir de chacun des milieux d'enrichissement, la surface d'une boîte de gélose XLD et une boîte de gélose Hektoen façon à permettre le développement de colonies bien isolées.
- Remettre le milieu d'enrichissement en incubation.
- Incuber les boîtes (retournées) à  $37 \pm 1\text{°C}$  durant 20 h. à 24 heures.
- Examiner les boîtes après incubation afin de rechercher la présence de colonies typiques de *Salmonella*.

**Note :** Sur XLD, Les colonies typiques de *Salmonella* peuvent être caractérisées comme suit :

- Les colonies sont à centre noires et entourées d'un halo clair rouge légèrement transparent.
- Sur gélose Hektoen, les colonies typiques de *Salmonella* sont vertes ou vertes à centre noir.

#### 5.3.8.2. Confirmation et identification des bactéries :

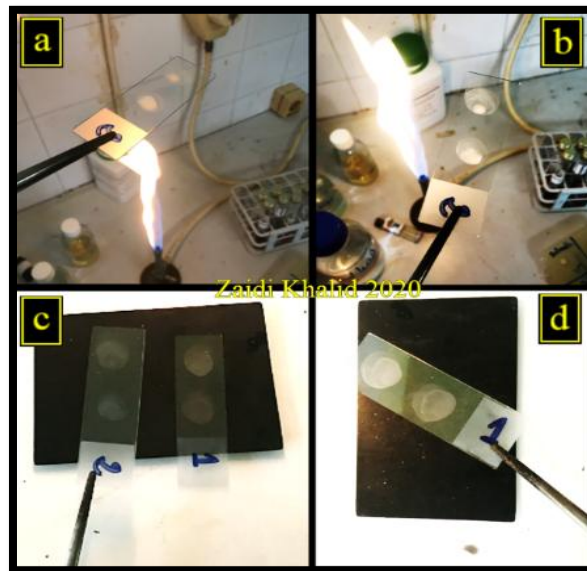
L'identification bactérienne est réalisée par les méthodes conventionnelles de microbiologie. L'examen microscopique par coloration différentielle de Gram, cette technique permet de colorer les bactéries et de donner une information rapide afin de les distinguer à l'examen direct par leur aptitude à fixer le violet de gentiane (Gram +) ou la fuchsine (Gram-) (Figure19).

##### 5.3.8.2.1. Coloration de Gram (Hans Christian Gram, 1884)

###### a) Réalisation d'un Frottis :

- Prendre une lame et la nettoyer avec de l'alcool

- Déposer une goutte d'eau distillée stérile sur la lame
- Prendre une colonie de bactérie isolée à l'aide d'une anse stérile
- Frotter l'anse contenant la charge bactérienne dans la goutte d'eau sur la lame
- Faire passer la lame en dessus de la flamme du bec benzène à l'aide d'une pince avec un mouvement de va et vient (**Figure 16 a et b**)
- Laisser refroidir la lame à l'air libre (**Figure 16c et d**)



**Figure 16:** Réalisation de frottis sur lame

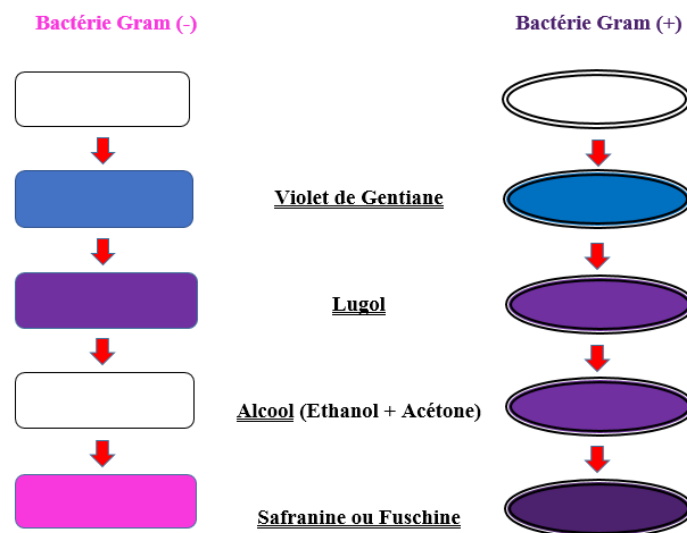
### **b) Technique de la Coloration :**

- Verser quelques gouttes de violet de gentiane jusqu'à couvrir tout le frottis et laisser agir pendant 1min pour la coloration du cytoplasme de la bactérie (**Figure 17a**)
- Incliner la lame et rincer avec de l'eau courante et laisser égoutter la lame (**Figure 17b**)
- Verser sur le frottis quelques gouttes de Lugol jusqu'à l'envahissement et laisser agir pendant 1min, le temps de la fixation du violet de gentiane.
- Répéter l'opération en inclinant la lame et rincer avec de l'eau courante et laisser égoutter la lame.
- Incliner la lame et rincer avec l'alcool (éthanol + acétone).
- Rincer avec de l'eau courante et laisser égoutter la lame.
- Déposer quelques gouttes de la Safranine ou de la Fuchsine sur tout le frottis (**Figure 17c**)
- Rincer avec de l'eau courante et laisser égoutter la lame.

- Faire sécher le frottis à l'aide d'un papier absorbant sans abimer le frottis. (**Figure 17d**)



**Figure 17:** Différentes étapes de la coloration de Gram



[Zaidi Khalid 2020](#)

**Figure 18:** Principe de la coloration de Gram

### 5.3.8.2.2. Identification biochimique :

L'identification biochimique est basée sur la recherche de plusieurs métabolismes (fermentatif, glucidique, protéique, organique et enzymatique). Les galeries sont inoculées avec une suspension bactérienne qui est réalisé par le prélèvement d'une seule colonie bien isolée sur une culture de 18 à 24 h. Les réactions produites après 24h d'incubation à 37°C se traduisent par des virages colorés et qui sont révélés par l'addition de réactifs.



Figure 19: Identification biochimique des 04 miels

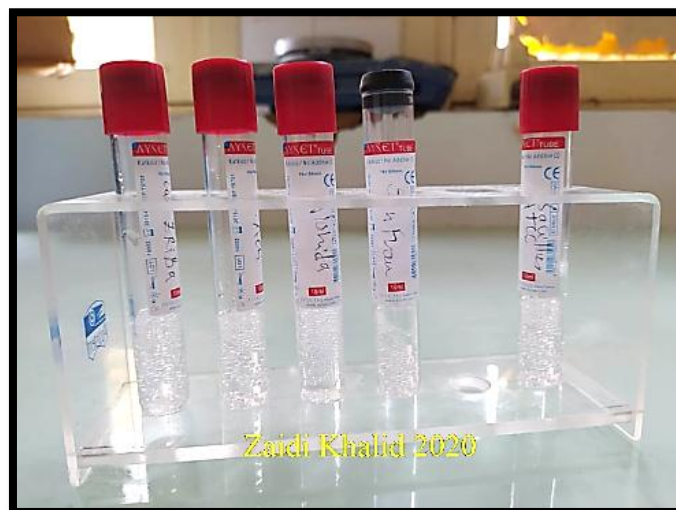


Figure 20: Test catalase de *Bacillus cereus* des 4 miels et la souche de référence

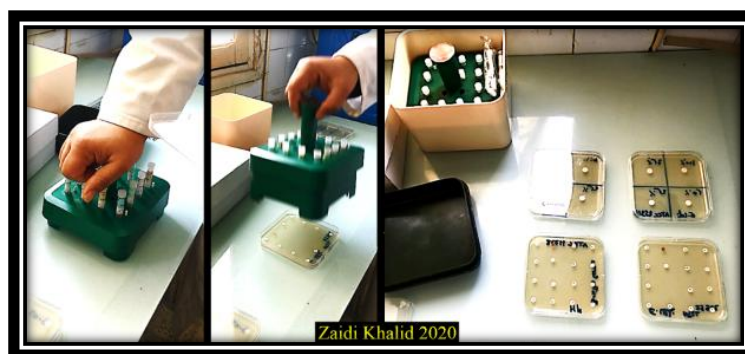
- Les réactions produites après 24h d'incubation à 37°C se traduisent par des virages colorés et qui sont révélés par l'addition de réactifs. Après une incubation de 24h à 37°C, la lecture des résultats est faite à l'aide du tableau de lecture et l'identification est obtenue à l'aide d'un logiciel Excel (Figure21).

API 20E+ (version 4.1)												Proba	typicité	Incompa	Test sur proba	Test sur typicité	BUG : pb											
résultats																												
1	Salmonella choleraesuis ssp choleraesuis											0.530	-1.43	3	TB Id													
2	Salmonella typhi											0.423	-1.51	4	Bonne Id		mauvaise typicité											
3	Citrobacter freundii											0.026	-1.57	3	mauvaise indentif		mauvaise typicité											
4	Salmonella spp											0.017	-1.58	2	mauvaise indentif		mauvaise typicité											
5	Escherichia coli 1											0.002	-1.75	2	mauvaise indentif		mauvaise typicité											
API 20 E 4.1 02/2006		OMPH	ADH	LDC	ODC	OT	HS	URE	TDA	IND	VP	GEL	GUP	ILM	IND	SOR	RHA	BAC	HEL	AMP	ARA	OX	NO2	NR	NOB	MLC	OFD	OFB
profil		-	-	+	-	+	-	-	-	-	-	+	+	-	+	+	+	+	+	-	-	?	+	+	+	-	?	?

**Figure 21:** Logiciel d'identification biochimique bactérienne

#### 5.4. Etude de la sensibilité des souches bactériennes à tester aux antibiotiques :

L'antibiogramme permet de mesurer la capacité d'un antibiotique (ATB) à inhiber la croissance bactérienne et de catégoriser une souche bactérienne en classes semi quantitatives (sensible, intermédiaire, ou résistante). La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller Hinton.



**Figure 22:** Application des disques d'antibiotiques

L'interprétation des résultats (**Annexe 3**) est effectuée selon les normes et les recommandations de l'OMS (fascicule de la standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale en médecine vétérinaire 6<sup>ème</sup> édition 2011).

#### 5.5. Etude du pouvoir antibactérien des miels

La propriété antibactérienne de nos miels a été étudiée par la méthode de diffusion en milieu gélosé, en utilisant des bactéries pathogènes Gram + et Gram-, 2 bactéries isolées à partir des denrées alimentaires fournies par le laboratoire Régional Vétérinaire de la wilaya d'El-Tarf, et 3 souches de références fournies par l'institut Pasteur d'Alger.

Les bactéries sont les suivantes :

- *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (**Figure 23a**)

- *Bacillus cereus* ATCC 11778 (Figure 24b)
- *Escherichia coli* ATCC 25922 (Figure 25c)
- *Salmonella enteritidis* (Figure 26d)
- *Enterococcus faecalis* (Figure 27e)

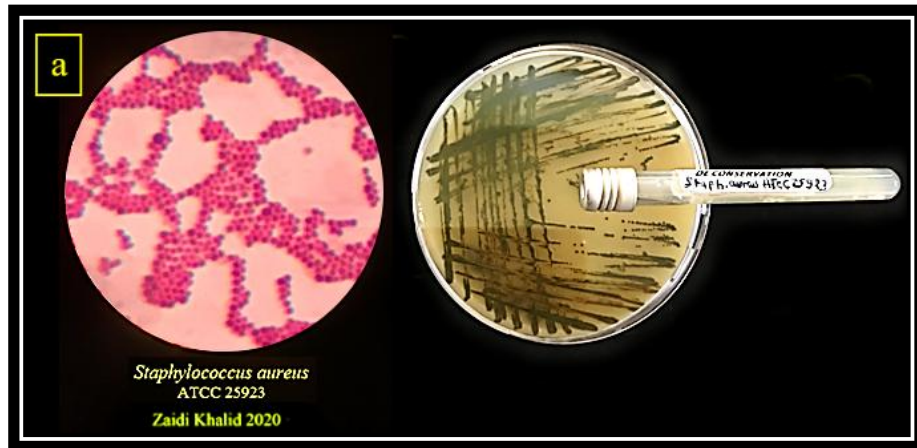


Figure 23: Souche de référence (a) : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

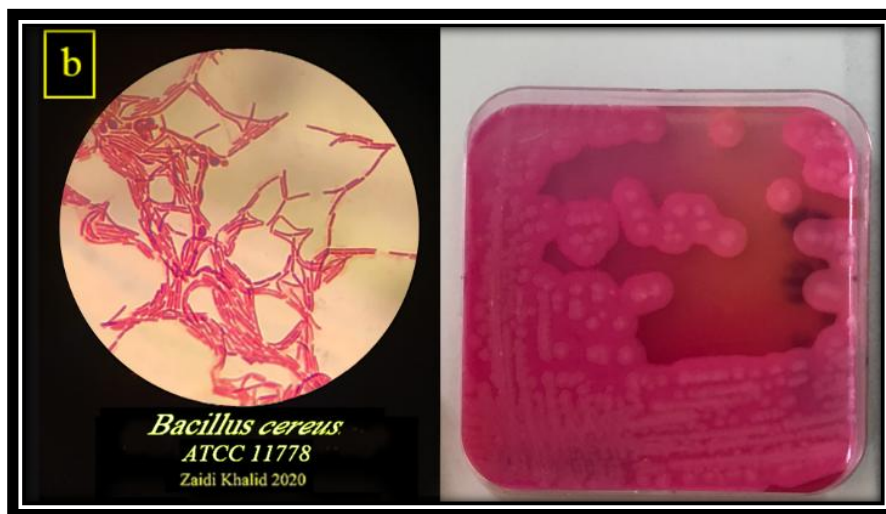
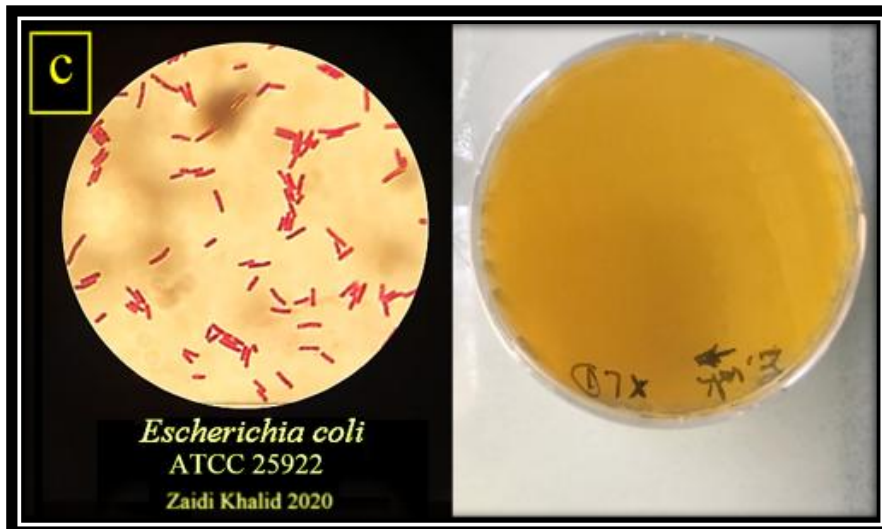
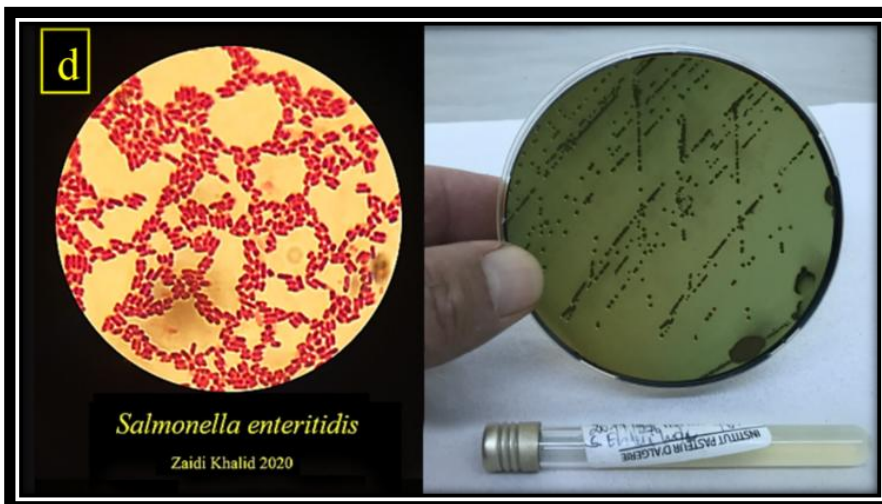


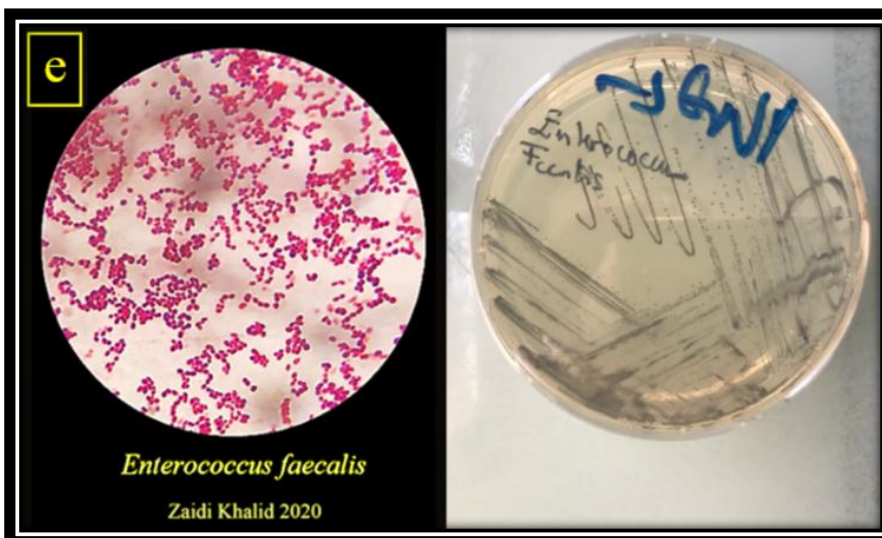
Figure 24: Souche de référence (b) : *Bacillus cereus* ATCC 11778



**Figure 25:** Souche de référence (c) : *Escherichia coli* ATCC 25922



**Figure 26:** Souche de laboratoire (d) : *Salmonella enteritidis*



**Figure 27:** Souche de laboratoire (e) : *Enterococcus faecalis*

### 5.5.1. Préparation des dilutions des miels

Pour chaque type de miel quatre (04) dilutions ont été préparées avec de l'eau distillée stérile afin d'obtenir les concentrations suivantes :

- ❖ miel à 25%,
- ❖ miel à 50%,
- ❖ miel à 75%
- ❖ et miel à 100% (**Figure 28**)



**Figure 28:** Les dilutions d'un type de miel Zriba

### 5.5.2. Méthode de diffusion en milieu gélosé

#### 5.5.2.1. Préparation de l'inoculum

- A partir d'une culture pure de 18h à 24 h, prélever avec une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9 %
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland ou à une DO de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm (**Figure 29**)



**Figure 29:** Lecture la DO de l'inoculum à l'aide d'un densitomètre

- L'inoculum peut être ajusté en ajoutant, soit de la culture s'il est trop faible ou bien de l'eau physiologique stérile s'il est trop fort.
- L'ensemencement doit se faire dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

#### **5.5.2.2. Ensemencement**

- Tremper un écouvillon stérile dans la suspension bactérienne (**Figure 30b**).
- L'essorer en le pressant fermement sur la paroi interne du tube afin de le décharger au maximum
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (**Figure 30c**).
- Répéter l'opération deux fois, en tournant la boîte de 60°C à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même.
- Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de Petri (**Figure 30d**), il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



**Figure 30:** Application de l'inoculum sur gélose MH pour l'antibiogramme

### 5.5.2.3. Application des disques d'antibiotiques

- Appliquer quatre (4) disques stériles sur la gélose ensemencée
- Ajouter 25  $\mu$ l de chaque dilution de miel à chaque disque (**Figure 31 c et d**).



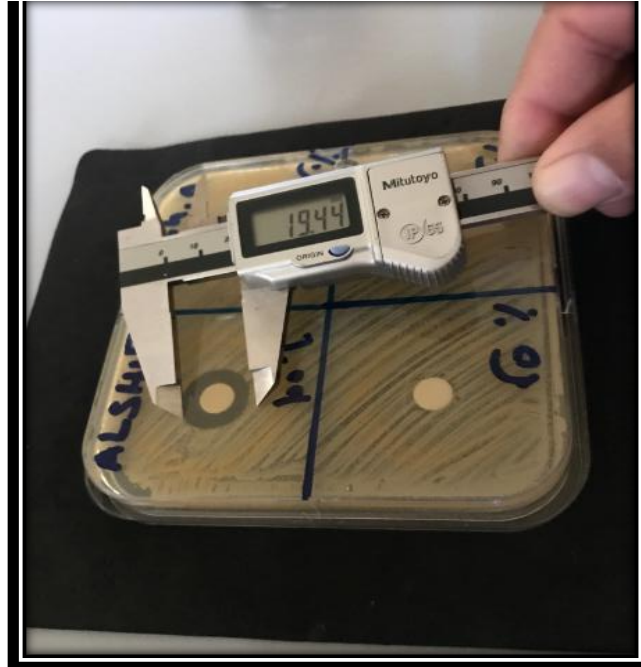
**Figure 31:** Technique du test de l'effet antibactérien du miel

### 5.5.2.4. Incubation

Incuber les boîtes à 37°C pendant 24h à l'étuve bactériologique

**Lecture et interprétation**

On a considéré qu'une souche bactérienne est sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 10 mm, Intermédiaire si le diamètre égal à 10 et résistant si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 10 mm (Merah et al., 2010). Les diamètres des zones d'inhibitions sont mesurés avec un pied à coulisse (Figure 32).



**Figure 32:** Mode de lecture de la zone d'inhibition à l'aide d'un pied à coulisse

# **Résultats & Discussion**

## 6. Résultats et discussion

Nous présentons ci -dessous l'ensemble des résultats obtenus de notre étude expérimentale. Les résultats concernent l'étude des paramètres microbiologiques recherchés des miels ainsi qu'une partie portant sur l'activité antibactérienne de ces derniers vis-à-vis des souches bactériennes Gram négatifs et Gram positifs testées.

### 6.1. Résultats

#### 6.1.1. Résultat de l'analyse microbiologique des miels

##### 6.1.1.1. Analyse bactériologique

###### 6.1.1.1.1. Ensemencement et identification

Au cours de ce travail nous avons procédé à une confirmation de l'identification des souches obtenues sur les différents miels



**Figure 33:** Analyses bactériologiques

Quant à l'identification par la galerie biochimique classique, celle-ci nous a permis de mettre en évidence les caractères biochimiques, correspondants à l'espèce.



**Figure 34:** Lecture et identification biochimique des bactéries  
La recherche bactériologique des 4 miels est reportée dans les tableaux suivants :

**Tableau 7:** Résultats de l'analyse bactériologique des 4 miels (UFC/g)

<b>Germes/Echantillons</b>	<b>Salmonelle</b>	<b><i>Bacillus cereus</i></b>	<b>Anaérobies sulfito-réducteurs</b>	<b><i>Staph. aureus</i></b>	<b>Coliformes fécaux</b>
M1 (miel zriba)	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence
M2 (miel sidi achour)	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence
M3 (miel Alshifa)	Absence	Présence	Présence	Absence	Absence
M4 (miel San Fransisco)	Absence	Présence	Absence	Absence	Absence

**Tableau 8:** Résultats du dénombrement des levures et moisissures selon JO N° 39 (UFC/ml)

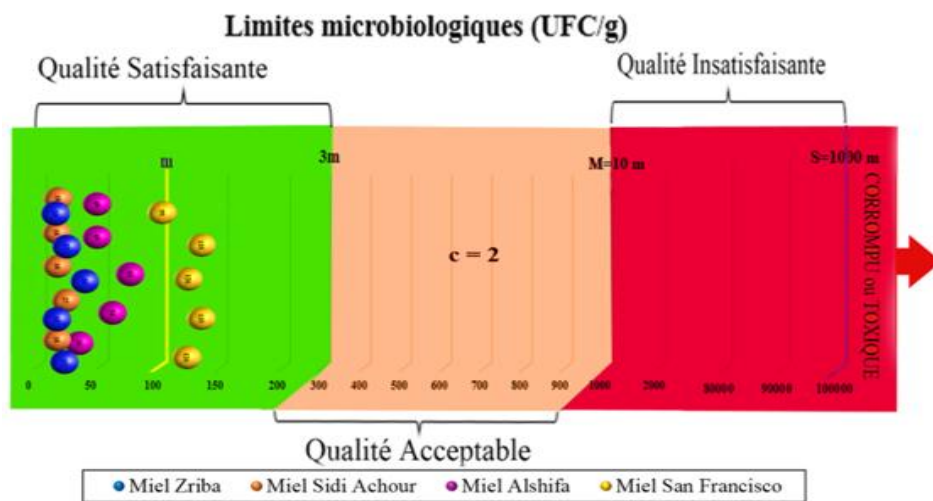
Identification	Résultats										Norme (UFC/g)	
	Echant 1		Echant 2		Echant 3		Echant 4		Echant 5		m	M
	Lv	Ms	Lv	Ms	Lv	Ms	Lv	Ms	Lv	Ms		
Miel Zriba	27	0	18	0	36	0	27	0	18	0	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>
Miel Sidi Achour	18	0	27	0	18	0	18	0	18	0		
Miel ALSHIFA	36	0	54	0	62	0	45	0	45	0		
Miel San Francisco	126	0	135	0	126	0	135	0	99	0		

\*Lv : Levures, Ms : Moisissures, Echant : Echantillon

**Tableau 9:** Tableau du plan d'interprétation à 3 classes

<b>PLAN D'INTERPRETATION A TROIS CLASSES</b>			
$m$	$3m$	$10m=M$	$1000m=S$
5 échantillons	1 ou 2 échantillons	1 ou 2 ou 3 ou 4 ou 5 Echantillons	
<b>SATISFAISSANT</b>	<b>ACCEPTABLE</b>	<b>NON-SATISFAISANT</b>	
	3 ou 4 ou 5 échantillons	<b>CORROMPU Ou TOXIQUE</b>	

**Dénombrement sur milieu solide**



**Figure 35:** Plan à 3 classes de l'interprétation des résultats des levures et moisissures

D'après la figure, on observe que l'ensemble des résultats sont satisfaisants dans l'intervalle de la valeur  $m$  et  $3m$  sachant que  $m$  représente la concentration des germes/ml qui est égal à  $10^2$  conformément au JORA N°39 ; ce qui confère que tous les miels sont de qualité satisfaisante bien que le miel de San Francisco a donné un résultat dépassant le seuil de la valeur  $m$  cependant ce dernier se trouve toujours dans la zone de la qualité satisfaisante.

#### **a. *Salmonella spp, Staphylococcus aureus et Escherichia coli***

Pour les germes d'une part de la flore des pathogènes, notamment *Salmonella* et *Staphylococcus aureus* ; d'autre part de la flore d'altération représenté par coliformes fécaux (*Escherichia coli*) ; tous les miels ont enregistré une absence vis-à-vis de ses germes. Ce qui est normal du fait que leur inexistence ne signifie pas que ces miels ne les contiennent pas, aussi, il se pourrait que ces miels ont été inhibés vis-à-vis de ces germes compte tenu de l'âge de ses miels qui ne persistent pas au-delà d'un mois selon les études menées par l'Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES 2012).

- ✓ Compte tenu de la durée, longue, entre la production et la consommation du produit, ses caractéristiques physico-chimiques ( $A_w$  et pH bas, présence de peroxyde d'hydrogène, présence de composés à effet antibactérien) en font un milieu peu favorable à la survie des micro-organismes pathogènes sous forme végétative.
- ✓ Des essais de laboratoire (challenge-test) ont montré des durées de survie inférieures à un mois pour *Salmonella* et *Staphylococcus aureus* notamment.

Ce qui confirme notre présente étude de l'activité antibactérienne vis-à-vis de ces germes (*Salmonella*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*) qui ont donné un large spectre d'inhibition.

#### **b. *Bacillus cereus* :**

Les résultats obtenus vis-à-vis ce germe, ont concerné tous les miels qui a suscité notre intérêt présence de spore par coloration de gram ce dernier a été confirmé par une souche de référence ATCC 11778 *Bacillus cereus* dont les principaux caractères de l'identification biochimique sont essentiellement la présence de l'enzyme lécithinase et l'absence de la fermentation du mannitol

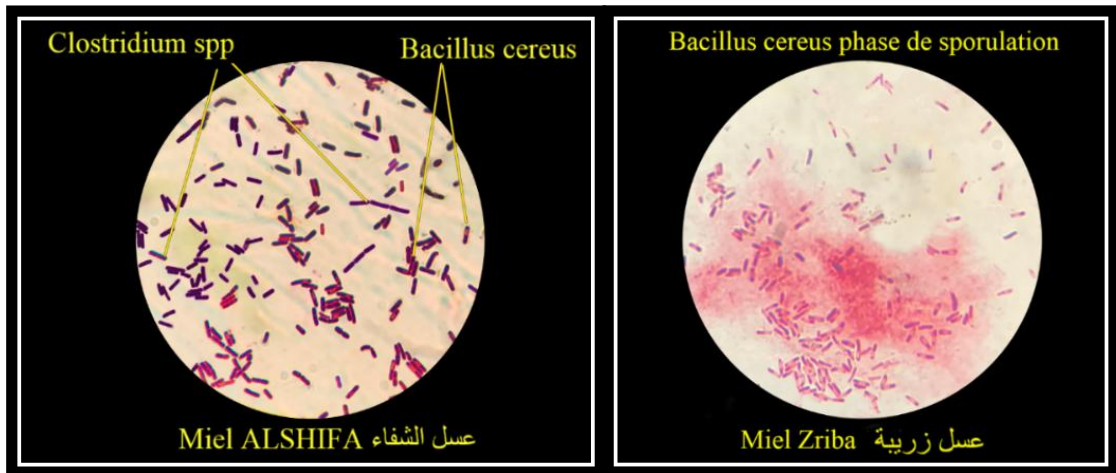


Figure 36: Coloration de Gram des miels Alshifa et Zriba

### 6.1.2. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques de *Salmonella enteritidis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Enterococcus faecalis* sa a été réalisée vis-à-vis de plusieurs familles antibiotiques

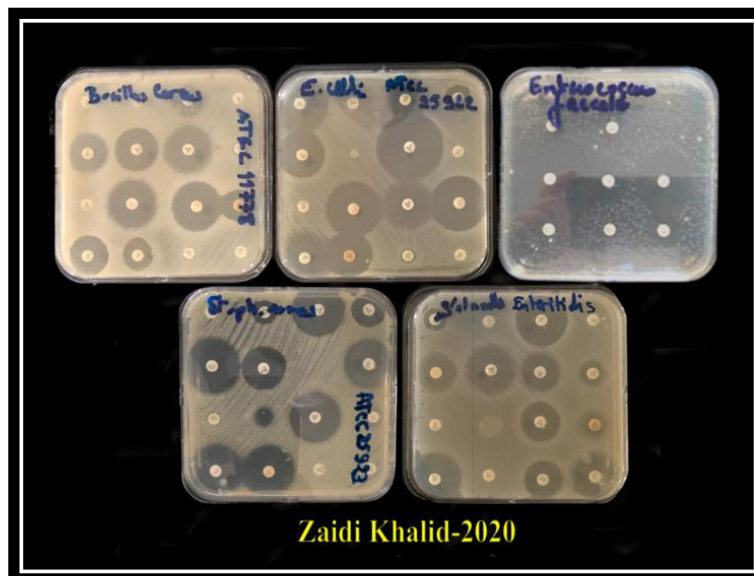


Figure 37: Résultats de l'antibiogramme des souches bactériennes testées

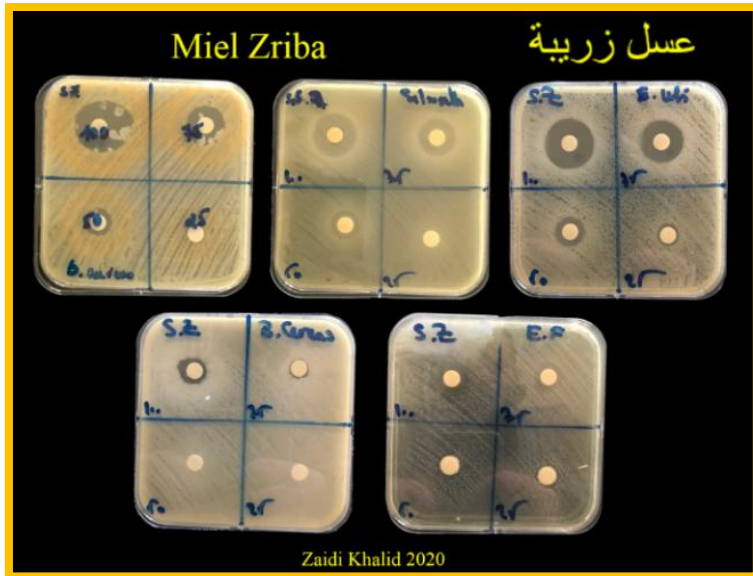
Selon le tableau en annexe, *Escherichia coli* montre une sensibilité vis-à-vis de 9 familles d'antibiotiques Glycopeptides, polypeptides, sulfamides, quinolones, aminoglycosides, nitrofuranes, tétracyclines, phénicolés et une résistance vis-à-vis de la famille des Béta-lactamines. la souche *Bacillus cereus* a montré une résistance active vis-à-vis des béta lactamines, polypeptides et sulfamides avec cependant une sensibilité à l'encontre de 7 familles d'antibiotiques à savoir aminosides, macrolides, quinolones, tétracyclines,

nitrofuranes, aminoglycosides et phénicolés ; Concernant *Staphylococcus aureus*, il a montré une résistance active pour tous les antibiotiques de la famille bêta-lactamine mise à part la cefalexine qui a donné une sensibilité, aussi une sensibilité des 07 familles d'antibiotiques glycopeptides, aminosides, macrolides, sulfamides, tétracyclines, aminoglycosides et quinolones ce dernier l'une de ces molécules d'antibiotiques a révélé une résistance il s'agit de l'acide nalidixique. La *Salmonella enteritidis* a donné une sensibilité active pour 8 familles d'antibiotiques : glycopeptides, polypeptides, sulfamides, quinolones, aminoglycosides, nitrofuranes, tétracyclines, phénicolés ; hormis une résistance et une sensibilité équivalentes constatée pour la famille des bêta lactamines (3 molécules résistantes, 03 molécules sensibles). Quant à la souche *Enterococcus faecalis*, cette dernière a donné une sensibilité et résistance équitable à savoir pour 3 familles d'antibiotiques chacune notamment les bêta-lactamine, quinolones et macrolides. Cette étude a été menée afin de connaître le spectre d'activité des familles d'antibiotiques testé vis-à-vis de ces germes afin de corréler l'activité antibactérienne des miels par rapport aux mêmes souches.

### **6.1.3. Résultat de l'analyse de l'effet antibactérien des miels :**

Pour une bonne évaluation de cette étude expérimentale, le choix des espèces bactériennes a été porté sur des espèces référenciées, à Gram négatif : *Escherichia coli* ATCC 25922, *Bacillus cereus* ATCC 11778, une autre à Gram positif : *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, ainsi que sur des souches internes de laboratoire : *Salmonella enteritidis* et *Enterococcus faecalis*. Les zones d'inhibition ont été mesurées par diffusion des disques aux différentes concentrations. Les zones d'inhibition obtenues sont :

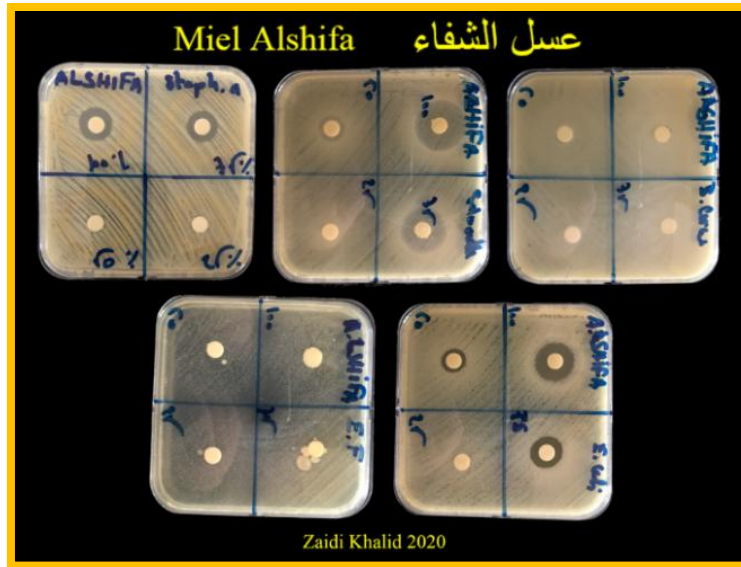
- Soit une zone translucide transparente avec absence totale de croissance
- Soit une zone où il ya une décroissance par rapport au tapis bactérien



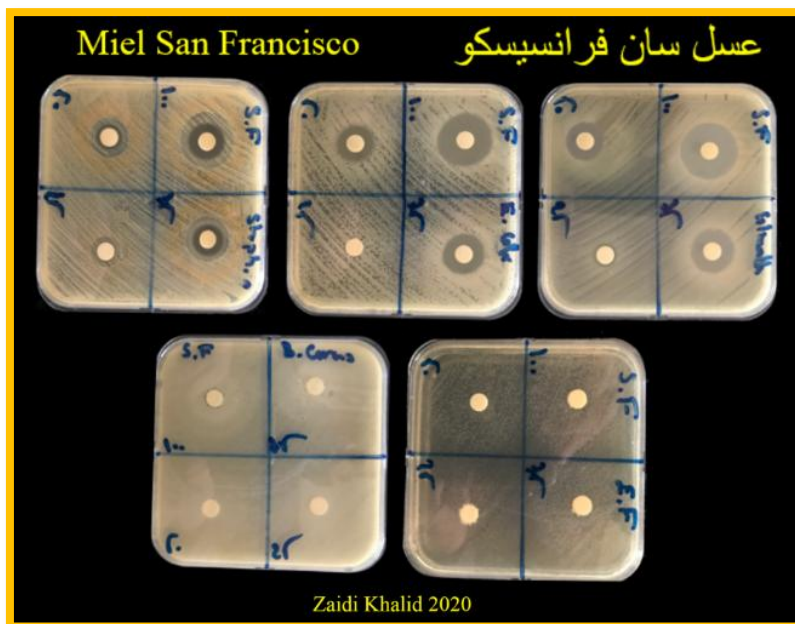
**Figure 38:** Résultats de l'activité antimicrobienne du miel Zriba



**Figure 39:** Résultats de l'activité antimicrobienne du miel Sidi Achour



**Figure 40:** Résultat de l'activité antimicrobienne du miel Alshifa

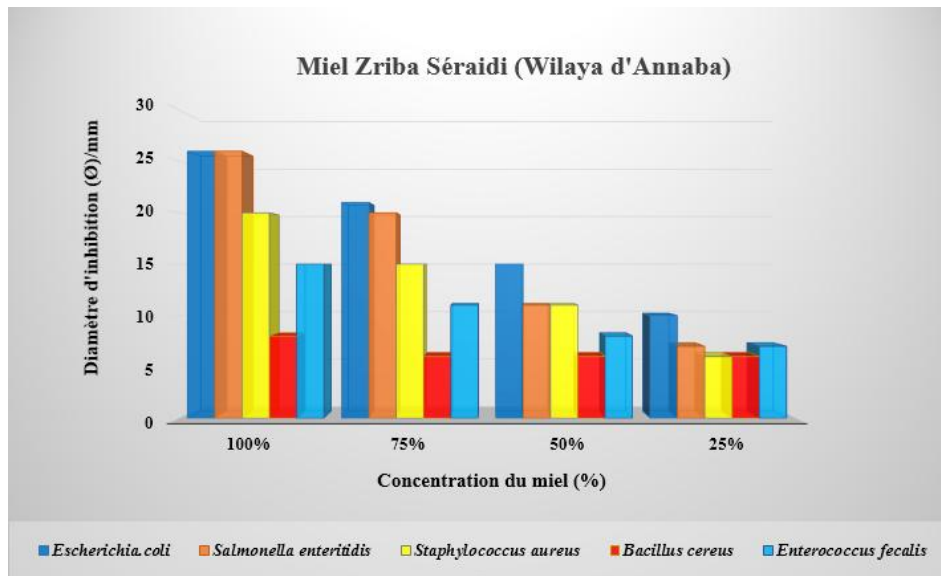


**Figure 41:** Résultat de l'activité antimicrobienne du San Francisco

#### 6.1.3.1. Le pouvoir antibactérien des miels :

Les résultats de zones d'inhibitions produites par les quatre échantillons du miel sont illustrés dans les histogrammes suivants par germe et par miel en établissant la moyenne des 3 tests effectués pour l'étude du pouvoir antibactérien.

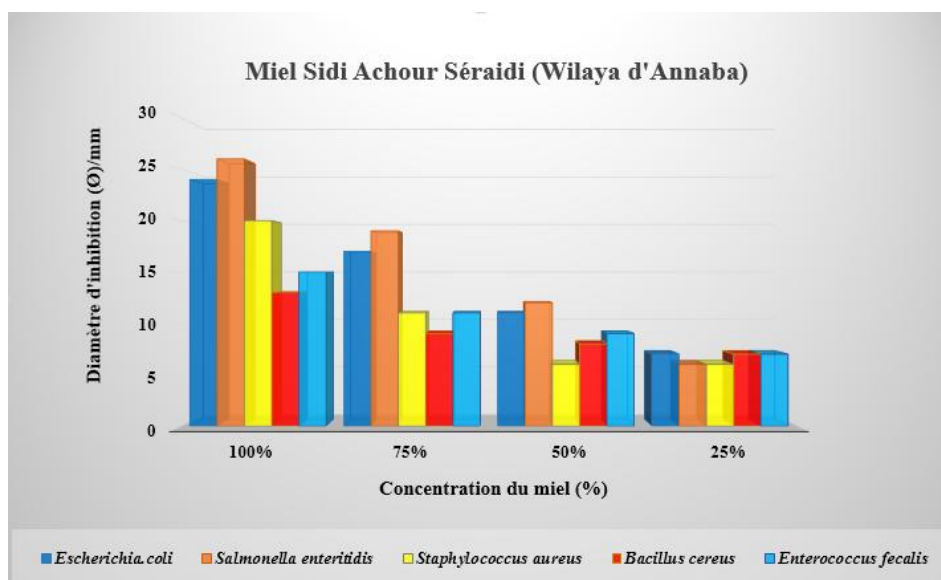
### a) Miel de Zriba



**Figure 42:** Mesure de l'activité antibactérienne du miel Zriba Séraïdi vis-à-vis des 5 souches bactériennes testées

D'après les résultats obtenus et illustrés sur l'histogramme (**figure 42**). Le miel Zriba s'est montré très actif vis-à-vis des diverses Entérobactéries, Gram négatifs ; les diamètres d'inhibition engendrés sont compris entre 7 mm (valeur minimale) et 26 mm (valeur maximale) pour les germes *Escherichia coli* et *Salmonella enteritidis*. Modérément pour le germe *Staphylococcus aureus* compris entre 6 mm à 20 mm suivi du germe *Enterococcus faecalis* dont les diamètres d'inhibition oscillent de 7 mm (valeur minimale) à 15 mm (valeur maximale) et une inactivité pour *Bacillus cereus*.de 6 mm à 8 mm seulement.

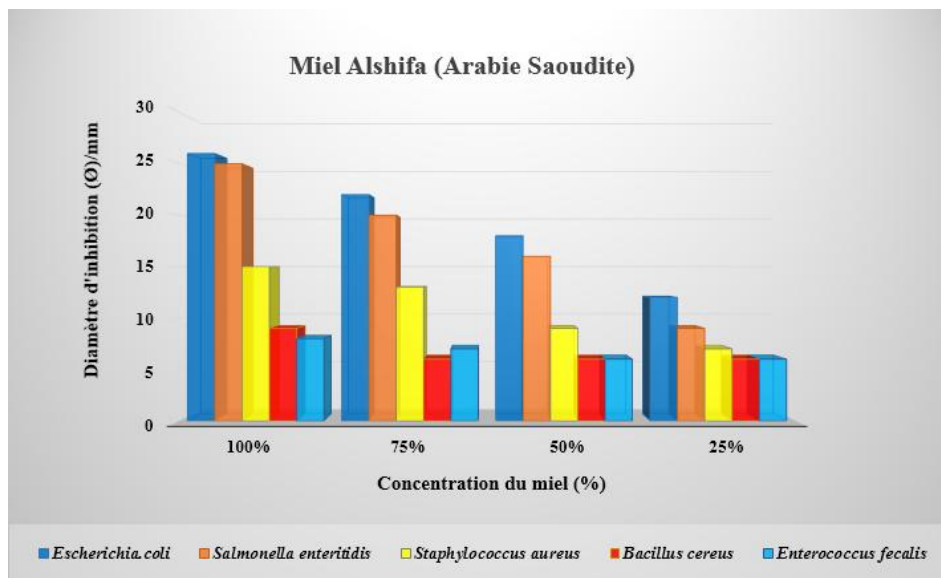
### b) Miel Sidi Achour



**Figure 43:** Mesure de l'activité antibactérienne du miel Sidi Achour vis-à-vis des 5 souches bactériennes testées

Pour le miel Sidi Achour, la figure montre que les germes testés ; notamment *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* ont donné des diamètres qui varient de 6 à 7 mm pour la plus faible concentration (25%) et 26 mm pour la plus élevée (concentration 100%). Modérément se rapprochant vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* dont diamètre et de 6 mm pour les deux concentrations 50 % et 25 % à 20 mm (concentration 100%) ; sensiblement faible et avoisinant pour *Enterococcus faecalis* et *Bacillus cereus* dont les concentrations de 25 % enregistrent 7 mm et de 13mm à 15 mm pour les concentrations de 100%. Appétit

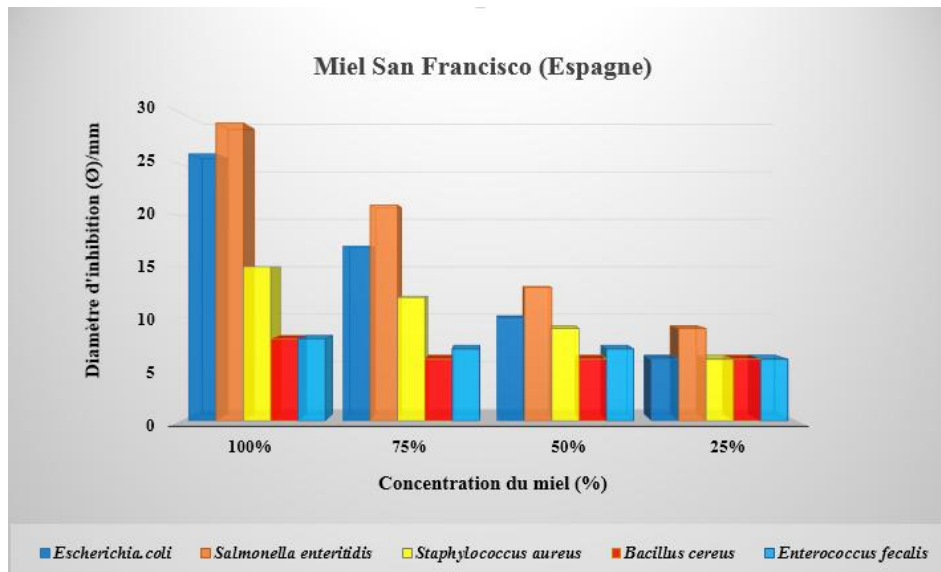
### c) Miel Alshifa



**Figure 44:** Mesure de l'activité antibactérienne du miel Alshifa vis-à-vis des 5 souches bactériennes testées

Selon la figure 44, on remarque pour le miel Alshifa que les souches *Escherichia coli* et *Salmonella enteritidis* ont montré une grande sensibilité aux concentrations 100 % et 75 % avec de grands diamètres d'inhibition, modérément sensible à l'égard de *Staphylococcus aureus* par contre les autres germes testés *Enterococcus faecalis* et *Bacillus cereus* ont démontré une résistance dans toutes les concentrations même purs à 100 %.

#### d) Miel San Francisco



**Figure 45:** Mesure de l'activité antibactérienne du miel San Francisco vis-à-vis des 5 souches bactériennes testées

Les résultats de **la figure 45** montre que le miel San Francisco a une sensibilité marquée et importante vis-à-vis des germes *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis* à la dilution notamment 100 % et 75 % cependant en baisse pour les concentrations 50 % et 25 % et une activité modérée pour le germe *Staphylococcus aureus* et une résistance à l'égard des germes *Enterococcus faecalis* et *Bacillus cereus* pour toutes les concentrations.

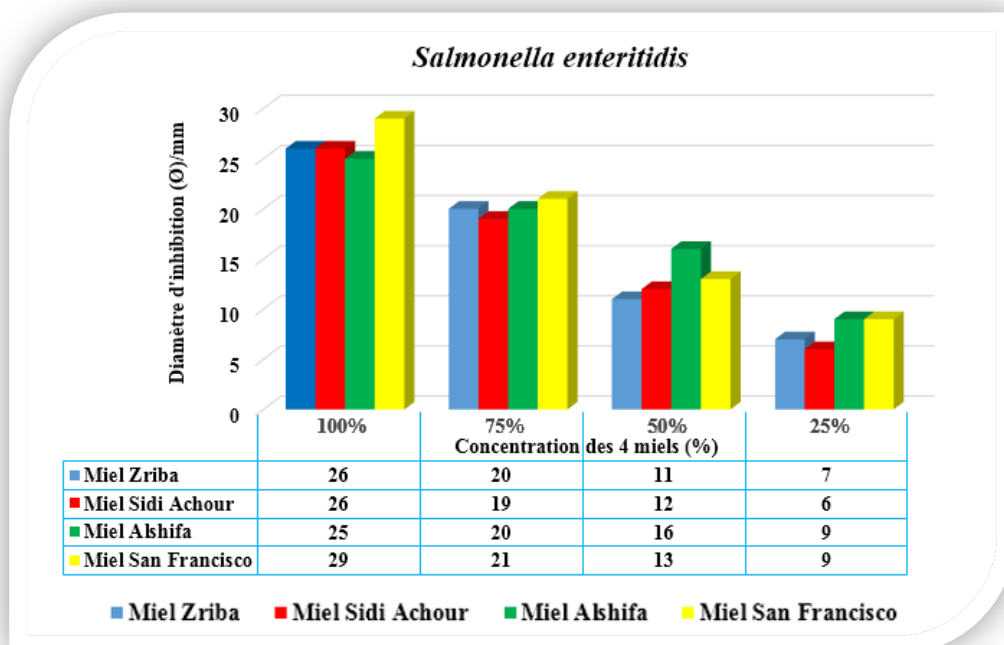
## 6.2. Discussion :

### 6.2.1. Analyse des paramètres microbiologique des 4 miels

Les résultats obtenus vis-à-vis de la recherche microbiologique des 4 miels a permis d'apprécier l'isolement d'un panel de germes notamment d'altération à savoir des levures et des germes pathogènes à savoir l'identification de la présence de *Bacillus cereus* et de spores sulfito-réductrices.

### 6.2.2. Analyse de l'activité antibactérienne des 4 miels

#### 6.2.2.1. Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de *Salmonella Enteritidis* :

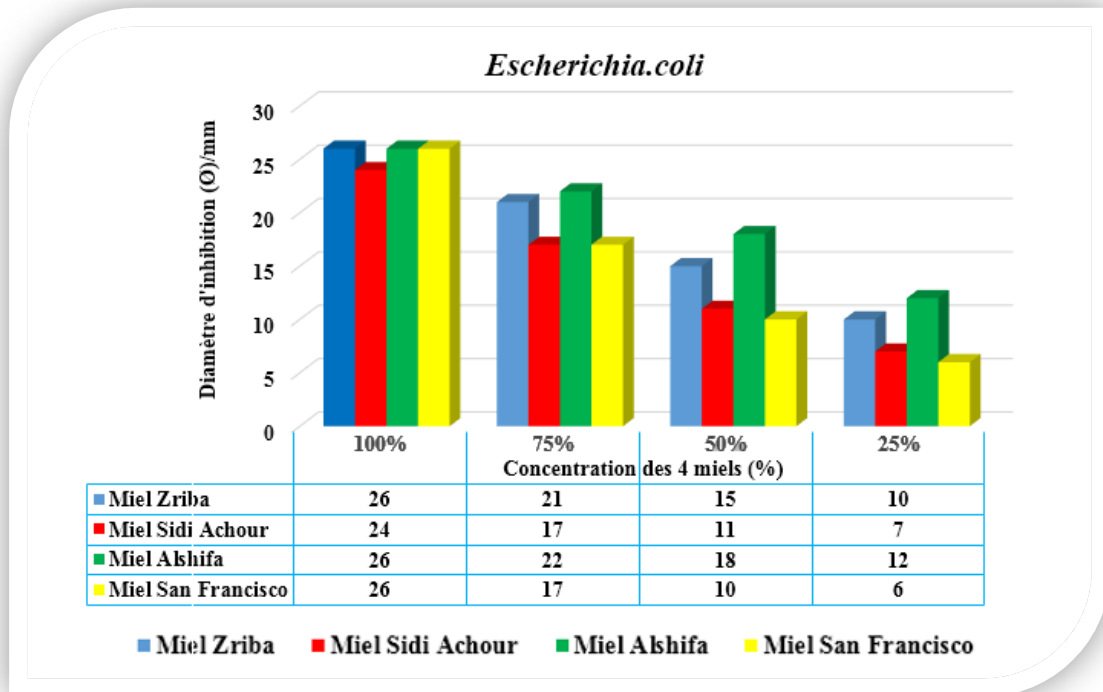


**Figure 46:** Mesure de la sensibilité de *Salmonella enteritidis* vis-à-vis des 4 miels

Les 4 miels purs (dilution 100%) ont donné une activité élevée pour le germe *Salmonella enteritidis*, avec des diamètres des zones d'inhibition allant de 25 mm comme valeur minimale, à 29 mm comme valeur maximale pour les miels importés et 26 mm pour les miels locaux. Pour la concentration de 75 % les diamètres sont approximativement rapprochés aussi bien pour les miels locaux qu'importés soit 19 mm (valeur minimale) à 21 mm (valeur maximale) et une activité modérée pour les concentrations de 50 % allant de 11 mm à 16 mm pour l'ensemble des miels, cependant, une activité basse voire négligeable pour la dilution 25 % pour tous les miels.

D'après les résultats obtenus on constate que la souche *Salmonella Enteritidis* est fortement sensible à l'action des 4 miels pour les concentrations 100 % et 75 %.

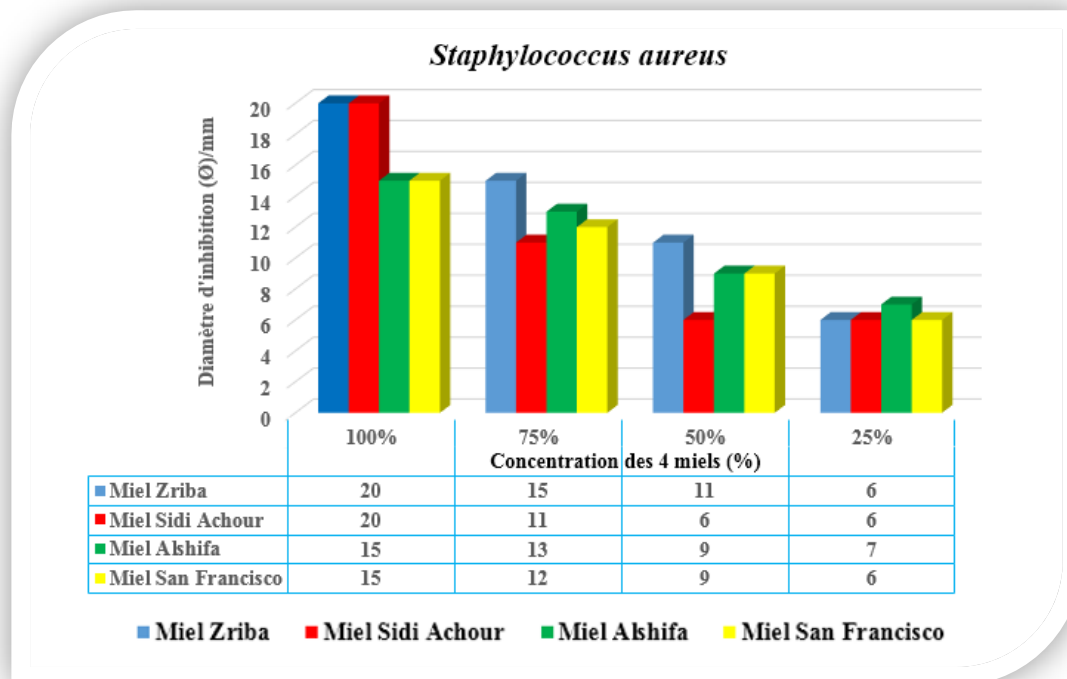
### 6.2.2.2. *Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis Escherichia coli :*



**Figure 47:** Mesure de la sensibilité d'*Escherichia coli* vis-à-vis des 4 miels

Les résultats des 4 miels montrent une activité appréciable et élevée vis-à-vis du germe *Escherichia coli* à la dilution 100 % et 75 % dont les diamètres des zones d'inhibition sont de 26 mm 21 mm pour le miel Zriba qui tend à donner des diamètres en baisse pour les concentrations 50 % et 25 % , de même un effet antibactérien remarquable a été démontré pour les miels importés San Francisco et Alshifa dont les diamètres d'inhibition sont avoisinants allant de 17mm , 22 mm et 26 mm , par ailleurs, en baisse pour les concentrations 50 % et 25 % dont les diamètres sont de 6 mm, 10 mm , 12 et 18 mm.

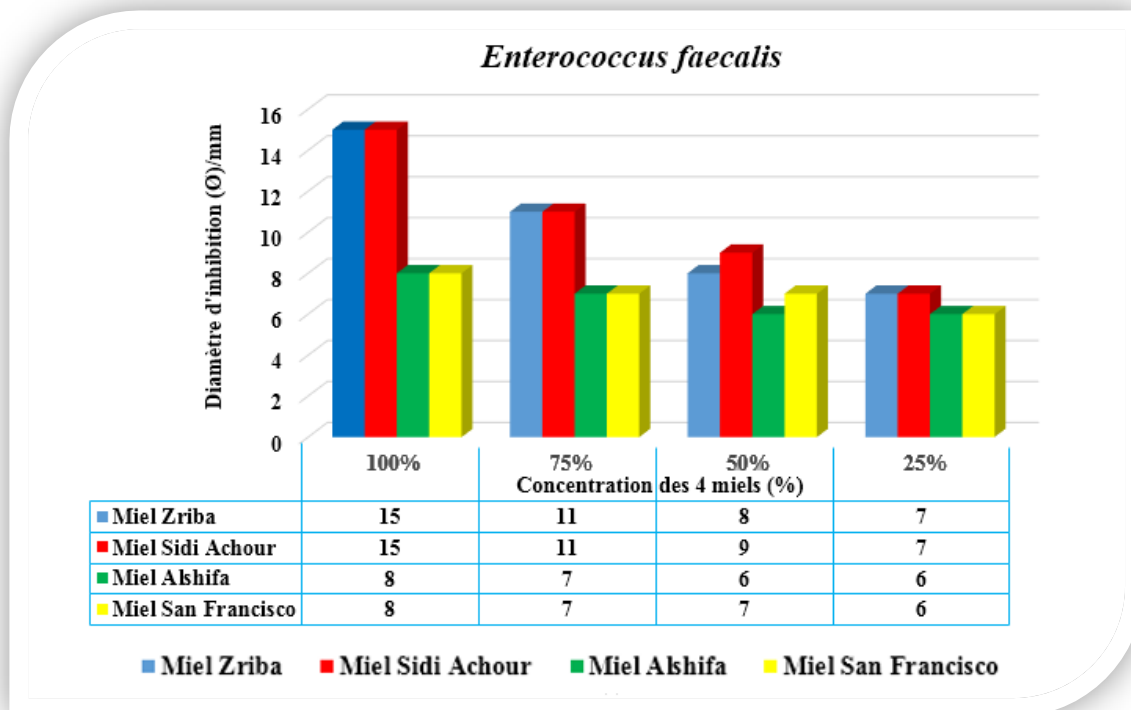
**6.2.2.3. Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de *Staphylococcus aureus* :**



**Figure 48:** Mesure de la sensibilité de *Staphylococcus aureus* de vis-à-vis des 4 miels

La souche de référence *Staphylococcus aureus* s'est montré largement sensible pour les 2 miels locaux à la concentration 100% dont les diamètres des zones d'inhibition sont de 20mm ; hormis les miels importés Alshifa et San Francisco qui ont donné un diamètre égal soit 15 mm. Il à indiquer que pour la concentration 75%, les seuils d'inhibition sont en baisse pour tous les miels testés aussi, la concentration 50% et 25% ont donné des variations de résistance proche pour tous les miels.

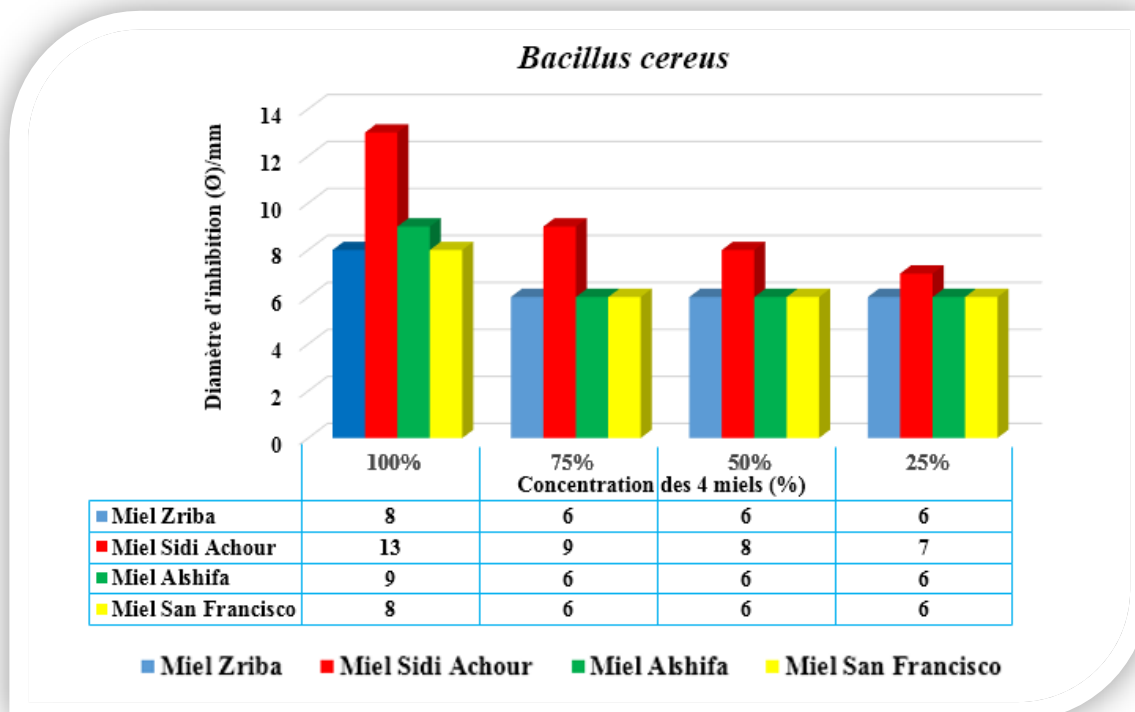
6.2.2.4. *Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis Enterococcus faecalis :*



**Figure 49:** Mesure de la sensibilité de *Enterococcus faecalis* vis-à-vis des 4 miels

Les résultats démontrent que la souche *Enterococcus faecalis* s'est révélée modérément sensible à l'égard des miels Zriba et Sidi Achour pour les concentrations 100 % et 75 % dont les zones et diamètres sont sensiblement identiques, une légère activité bactérienne a été notée pour les dilutions 50 % et 25 %; cependant, on enregistre une activité faible voire une résistance pour les miels importés Alshifa et San Francisco pour toutes les concentrations

6.2.2.5. *Mesure de l'activité antibactérienne des 4 miels vis-à-vis de Bacillus cereus :*



**Figure 50:** Mesure de la sensibilité de *Bacillus cereus* de vis-à-vis des 4 miels

*Bacillus cereus* a montré des diamètres faibles pour les 4 miels allant de 6 mm comme valeur minimale à 13 mm ; valeur maximale et ce pour toutes les dilutions de concentrations comparativement aux autres souches bactériennes testées ; ce dernier a donné un effet bactérien nettement inférieur.

# Conclusion

## Conclusion

L'effet inhibiteur du miel a été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre, ou l'activité inhibitrice est plus importante avec les échantillons de miel purs non dilués, elle diminue successivement pour les concentrations 75%, 50%, 25% et d'une souche bactérienne à une autre.

Ces résultats montrent clairement que les miels d'origine locale Zriba et Sidi Achour et les miels d'origine importée Alshifa et San Francisco sont dotés d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches bactériennes à Gram positif et à Gram négatif ou ils présentent un fort pouvoir sur *Salmonella enteritidis*, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* et moyennement sur *Bacillus cereus* et un pouvoir faible sur *Enterococcus faecalis*.

Aussi, en menant cette étude, nous avons apporté une contribution à la connaissance de l'effet bactérien des différents miels à l'égard de différentes souches notamment Gram négatifs appartenant à la famille des Entérobactéries et Gram positifs.

Nous pouvons affirmer que les résultats auxquels nous avons abouti sont très concluants et encourageants, ceci a permis de constater l'activité antibactérienne inhibitrice des différents miels objet de notre étude. Cette activité inhibitrice s'est révélée très marquée pour les miels d'origine locale et peu élevée chez les miels d'origine importée.

Donc, on peut déduire que ces miels sont de bonne qualité thérapeutique et à travers nos résultats, il est possible d'utiliser le miel comme des antibactériens naturels pour traiter les maladies provoquées par des germes pathogènes.

Ce modeste travail n'est qu'une ébauche, il mérite d'être élargi et d'approfondir l'étude de l'activité antibactérienne sur d'autres espèces pathogènes sur une large gamme d'échantillons de miels de notre région selon l'origine florale du miel pourquoi pas faire des tests de l'activité antibactérienne sur la propolis

## Références bibliographiques

- [01]. **Abousseddik, B. (2008)**. «Les miracles du miel. Merveilles Coraniques». Texte parus dans El Moudjahid.
- [02]. **Altman, N. (2010)**. The honey prescription: the amazing power of honey as medicine. Healing Arts Press: division of Inner traditions international. Vermont. P25. ISBN: 978-1-59477-346-4.
- [03]. **Amiot, M.J., Aubert, S., Gonnet, M. and Tacchini, M. (1989)**. Les composés phénoliques : étude préliminaire sur l'identification et la quantification par famille apidologie, 20 (2) : 115-125
- [04]. **Amri, A. (2006)**. Évaluation physico-chimique et détermination de l'origine botanique de quelques variétés de miel produites à l'Est d'Algérie. Mémoire de magistère : biochimie .Université Badji Mokhtar-Annaba.
- [05]. **Amrouche, L. and Kessi, L. (2003)**. Etude de la qualité physico-chimique de quelques miels. Mémoire Ingénieur. U.S.T.H.B. ALGER. p.49.
- [06]. **Arnon, S.; Midura, T.; Damus, K.; Thompson, B.; Wood, R. and Chin, J. (1979)**. Honey and other enviromental risk factors for infant botulinism, J. of Pediatrics 94, 331-336.
- [07]. **Badawy, O.; Shasii, S.; Tharwat, E. and Kamal, M.(2004)**. Antibacterial activity of bee honey and its therapeutic usefulness against Escherichia coli o157:H7 and Salmonella typhimurium infection. Rev.sci.tech.off.int.epiz; 23 (3), 1011-1022 p1018.
- [08]. **Bazoche, M.(2011)**. «Les produits de la ruches». Edition GFA. Paris, 159 p.
- [09]. **Blanc, M. (2010)**. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. pp ; 8/140.
- [10]. **Bogdanov, S.; Bieri, K.; Figar, M.; Iff, D.; Kanzig, A.; Figueredo, V.; Stokli, H. and Zucher, K. (1995)**. Miel definition et directives pour l'analyse et l'appréciation centre Suisse de recherches apicoles Station fédérale de recherche laitières, liebefeld, CH3003 Berne, édition : MSDA.PP : 1-37.
- [11]. **Bogdanov et al., (1997)**. Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie, Extra issue, 1-59
- [12]. **Bogdanov, S.; Baumann, S.E. (1997)**. Harmonised methods of the European honey commission. Determination of sugars by HPLC. Apidologie (extra Issue ), 42-44.
- [13]. **Bogdanov, S.; Martin, P.; Lullmann, C. (1997)**. Harmonised methods of the European Honey Commission. Apidologie (extra issue): 1-59

- [14]. **Bogdanov, S. (1984).** « Characterisation of antibacterial substances in honey». *Lebensam.-Wiss.U.Technol*, vol.17, p. 74-76.
- [15]. **Bogdanov.(1999).** Stockage, cristallisation, et liquéfaction du miel .Centre suisse de recherche apicoles . P.05.
- [16]. **Bogdanov, S. and Blumer, P. (2001).** Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Revue suisse d'Apiculture*, 98(3), 107-114p.
- [17]. **Bogdanov, S. ; Bieri, K. ; Gremaud, G. ; Iff, D. ; Kanzig, A. ; Seiler, K. ; Stockli, H. and Zurcher, K.(2003).** Produits Apicoles. 23 A Miel, 1-37.
- [18]. **Bogdanov, V S. ; Matzke, A. (2003).** La propolis – un antibiotique naturel. Edition VDB 6235 Winikon ; 72 pp.
- [19]. **Bogdanov, S. (2006).** Contaminants of bee products. *Apidologie*, Springer Verlag, 37 (1), p.1-18.
- [20]. **Bogdanov, S. (2011).** Functional and biological properties of the bee products: a review, bee product science.
- [21]. **Boukraâ L.(2010).** Honey in Traditional and Modern Medicine .CRC Press.P26 - 32. ISBN : 978-1-4398-4016-0
- [22]. **Chauvin, R. (1968).** Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In : *Traité de biologie de l'abeille*. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 116-154.
- [23]. **Chouia, A. (2014).** Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout.Th.Université Mohamed Khider.Biskra.
- [24]. **Clement, H. (2003).** les cahier de l'élevage. Créé son rucher. Ed RUSTICA .paris. 111p.
- [25]. **Codex Alimentarius. CODEX NORME POUR LE MIEL CODEX STAN 12-1981 Norme adoptée en 1981.** Révisions en 1987 et 2001.
- [26]. **Codex Alimentarius. (1999).** CX/S 00/3 Novembre 1999
- [27]. **Colongeon-Boukobza, D. (2014).** «Existe-t-il des contre-indications à l'utilisation du miel». Hippocratus. En ligne < [www.hippocratus.com](http://www.hippocratus.com)>.
- [28]. **Criseo, G. et al. (1993).** Isolation of C. botulisme typ B from Sicilian honey samples. *Riv. sci alim.* 22 (2), 175-181
- [29]. **Décret n°2003-587 du 30 juin 2003** la directive européenne n°2001/110/CE du Conseil du 20 décembre 2001.
- [30]. **Delphine, I. (2010).** « Le miel et ses propriétés thérapeutiques». Thèse du doctorat.
- [31]. Deschamps, V.C. (1998). Production et commercialisation du miel. Thèse de doctorat vétérinaire, Université Paul Sabatier, Toulouse, 118 p.

- [32]. **Devillers ,J. ; Ben Ghouma-Tomasella, N. ; Doré, J C. (2002).** Cesium-134 and Cesium-137 in French honeys collected after the Chernobyl accident, in: Devillers J., Pham-Delègue M.H. (Eds.), Honey bees: Estimating the environmental impact of chemicals, Taylor & Francis, London and New York, pp: 151–159.
- [33]. **Djerd, A. (2008).** Contrôle de qualité des miels de la région de Djelfa, comparaison avec des miels nationaux et des miels importés. Th.d'Ingéniorat :biologie.Université. Djelfa.
- [34]. **Donadieu, Y.(1984).**Le miel : thérapeutique naturelle. 1984. Paris: Maloine S.A.
- [35]. **Dustmann, J.H.; Van praagh, J.P.; Bote, K. (1985).** Zur bestimmung von diastase invertase und H.M.F. in honig. *Apidologie*, 16, (1), 19-30.
- [36]. **Gonnet, M. ; Lavie, P. (1960).** «Influence du chauffage sur le facteur antibiotique du miel». Annale de l'abeille, Paris, vol. 3, p. 349-364.
- [37]. **Gonnet, M. (1963).** L'hydroxyméthylfurfural dans les miels. Mise au point d'une méthode de dosage. *Ann. Abeille*, 6, (1), 53-67.
- [38]. **Gonnet, M.;Vache, G. (1985).** « Le goût du miel, UNAF, Paris, 146 p.
- [39]. **Guarch, C. 2008 et Chanaud, P. 2010 :** Le miel. Cuisine, santé et beauté. Editions Cabédita, Yens sur Morges, 72 p. Action physiologique et thérapeutique des produits de la ruche. In : Traité de biologie de l'abeille. Editions Masson et Cie, Paris, Tome 3, 116-154
- [40]. **Guerzou, M. N. and Nadji, N.(2009).** Etude comparative entre les miels locaux et les miels importés. Mémoire en vue d'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agropastoralisme. Université Zyan Achour.Djelfa.P25-26.
- [41]. **Hartgen, H. (1980).** Untersuchungen von Honigproben auf Botulinustoxin, Arch. Lebensm. Hyg. 31, 177-178.
- [42]. **Harun, Y.; Adnan, O. (2003).** Les miracles du coran.SANA.Paris.p208.
- [43]. **Horn, H, and Lüllmann, (1992).** Das grosse Honigbuch. Verlag Ehrenwirth. München.
- [44]. **Hoyet, C. (2005).** Le Miel : de la source à la thérapeutique. 85, pp : 106.
- [45]. **Huchet, E. ; Coustel, J. ; Guinot, L.(1996).** Les constituants chimiques du miel : Méthode d'analyse chimique. Ecole Nationale supérieure des Industries agricoles et alimentaire.France. p16.
- [46]. **Huchet, E. ; Julie, C. ; Laurent, G. (1996).** Les constituants chimiques du miel, Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires
- [47]. **Ibrahim khalil, MD.; Moniruzzaman, M.; Boukraa, I.; Benhanifia, M.; Asiful, IMD.; Nazmul, IMD. ; Sulaiman, S.A. and Huagan S.(2012).**Physicochemical and antioxidant properties of algerian honey. Journal molecules;(17),11199-11215.

- [48]. **ISO 6887-1** : Microbiologie de la chaîne alimentaire, préparation des échantillons dans la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.
- [49]. **ISO 6579 -1** : Microbiologie de la chaîne alimentaire –méthode horizontale pour la recherche, le dénombrement et le sérotypage des salmonella –Partie 1 : Recherche des salmonella spp – 1<sup>ère</sup> édition 02/2017, 60 pages.
- [50]. **Jean-prost, P. ; Medori, P. Le conte, Y. (2005).** Apiculture : Connaître l'abeille - Conduire le rucher. 7<sup>e</sup> édition revue et complétée, Paris : éd. Tec & Doc, p.382
- [51]. **JO N 70 du 07/11/2004 relatif à la norme ISO 6887-1** : Microbiologie de la chaîne alimentaire, préparation des échantillons dans la suspension mère et des dilutions décimales en vue de l'examen microbiologique.
- [52]. **JORA N° 39** Méthode horizontale-Dénombrement des levures et des moisissures par comptage des colonies obtenues à 30°C, 02 Juillet 2017
- [53]. **Koehler, S. (2015).** « Le miel dans la cicatrisation des plaies : un nouveau médicament ? ». Thèse d'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Lorraine.
- [54]. **Kwakman, P. H. S.; Zaat, S. A. J. (2012).** Antibacterial components of honey. IUBMB life, 1 (64), 48-55p.
- [55]. **Laudine, L. (2010).** Du nectar a un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur. Ecole Nationale Vétérinaire De Lyon. N° 085, pp : 195.
- [56]. **Les Directives européennes 2001/110/CE** (Conseil de l'Union européenne, 2001) et 2014/63/UE (Conseil de l'Union européenne et Parlement européen, 2014)
- [57]. **Lina, S.M.; Molan, P.C and Curson, R.T.(2011).** The controlled in vitro susceptibility of gastrointestinal pathogens to the antibacterial effect of Manuka honey. Eur J Clin Microbiol infect dis (2011) 30 : 569-574.
- [58]. **Louveaux, J. (1985).** Apiculture Les abeilles et leur élevage .OPIDA.
- [59]. **Luca, T. (2016).** «Les contre -indications, allergies et intolérances au miel». Miellerie de chanteclair. En ligne < geleeroyale.biz/contre-indications-du-miel>.
- [60]. **Maameri, Z.(2014).** Pistacia lentiscus L . Evaluation pharmaco toxicologique.Thè.doc en Sciences. Constantine.
- [61]. **Malika, N.; Faid, M. and EL Adlouni, C. (2005).** Microbiological and PhysicoChemical Properties of Moroccan Honey. International Journal Of Agriculture & Biology; 5(7):773–776.
- [62]. **Marchenay, P. and Berard, L. (2007).** *L'homme, l'abeille et le miel*. Paris, De Borée, 223 p.

- [63]. **Morse, R.; Lisk, DJ.(1980).**Elemental analysis of honeys from several nations. Am Bee.J.522- 523.
- [64]. **Merah M., Bensaci Bachagha M. et Boudershem A.(2010).**Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltes du territoire algérien. Annales des Sciences et Technologie : 2(2), Décembre.Ouargla.
- [65]. **Mutsaers, M.; Henk, V. B. ; Leen, V.L.(2005).** Produits de l'apiculture : propriétés ,transformation et commercialisation .Fondation Agromisa et CTA.Wageningen.P22.
- [66]. **Nair, S. (2014).** Identification des plantes mellifères et analyse physicochimiques des miels algériens .Thèse de doctorat. Université d'Oran.
- [67]. **NA ISO 6888-1, NA 15164 :** Microbiologie des aliments –méthode horizontale pour le dénombrement des staphylocoques à coagulase-positives (*Staphylococcus aureus* et autres espèces)-partie 1 : technique utilisant le milieu de Baird Parker -2<sup>ème</sup> édition, 15pages.
- [68]. **NF T90-415** Recherche et dénombrement des spores de bactéries anaérobies sulfite-réductrices et de clostridium sulfite-réducteurs - Méthode générale par incorporation en gélose en tubes profonds AFNOR, Octobre 1985.
- [69]. **NF V 08-060 :** Microbiologie des aliments : Dénombrement des coliformes thermo tolérants par comptage de colonies obtenues à 44 °C –avril 2009, 11 pages pour toutes les denrées alimentaires.
- [70]. **NF XP V 08-058** Microbiologie des aliments- Dénombrement de *Bacillus cereus* par comptage des colonies à 30°C Novembre 1995, 13 pages.
- [71]. **Olaitan, P.B.; Adeleke, O.E.; Ola, IO. (2007).** «Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes». African Health Sciences, vol. 7, n°3, p. 159-65.
- [72]. **Oudjet, K. (2012).** «Le miel une denrée à promouvoir».Infos-CACQE ,p.1-3.
- [73]. **Persano Oddo, L. and Piero, R. (2004).** Main European unifloral honeys: descriptive sheets. *Apidologie*, 35(Suppl.1), 38-81.
- [74]. **Piazza,M-G.;Accorrti, M. and Persano oddo, L. (1991) :**électrical conductivity, colour and specific rotatory power in iltalian unifloral honeys. *Apicultura* 7,51.63.
- [75]. **Pourtallier, J.and talercio,Y. (1983).** Les caractéristiques physico-chimiques des miels en fonction de leur origine florale.
- [76]. **Pradip,V. and Jabde. (2005).** Text book of applied zoologie, vermiculture, apiculture, sericulture, lac-culture, agricultural pests and their controls. Discovery publishing house. daryaGanj ;New Delhi. P: 04,105 .ISBN: 81-7141-970-4

- [77]. **Ronald, S. J. (2011)**. Advanced in food nutrition research, volume 63: speciality wines. Academic press. P: 104 – 105. ISBN : 978 – 0-12-384927-4. ISSN : 1043- 4526
- [78]. **Rossant, A. (2011)**. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. PP : 132.
- [79]. **Rossant, A. (2011)**. Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes .Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie
- [80]. **Ruegg, M. and Blanc, B. (1981)**.The water activity of honey and related solutions, Lebensmitt. Wiss. Technol. 14, 1-6
- [81]. **Sib, A. (2007)**. «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importée». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
- [82]. **Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle Nationale** (Médecine humaine et vétérinaire) document édité avec la collaboration de l'OMS 6<sup>ième</sup> édition 2011
- [83]. **Stanway, P. (2013)**.The Miracle of Honey Practical Tips for Health, Home & Beauty. Watkins publishing.UK and USA.ISBN: 978- 1- 78028-500-9.
- [84]. **Talpay, B. (1985)**. Spezifikationen für Trachtenhonige. Deutsch. Lebensm.-Rundsch. 81,148-151 p
- [85]. **Tysset, C. and Rousseau, M. (1981)**. Le probleme du microbisme et de l'hygiene des miels du commerce, Rev. Med. vet.132, 591-600.
- [86]. **Wellford, T.; Eadie, T. and Liewellyn, G (1978)**...: Evaluation the Inhibitory action of Honey on Fungal Growth, Sporulation and Aflatoxin Production; Z. Lebensm. Unters. Forsch.166, 280-283.
- [87]. **Zürchev K (2004)** Swiss food manual pollen Bienenprodukte ,Ba G (Swiss Federal Office for Public Health) Berne.

## Webographie

<https://www.miel-lerucherdelours.fr/fr/>

<https://moncoachjardin.com/les-astuces-naturelles-pour-lutter-contre-les-fourmis-et-pucerons-au-jardin/>

[http://img.over-blog-kiwi.com/0/74/81/51/20160127/ob\\_576831\\_1131.jpg](http://img.over-blog-kiwi.com/0/74/81/51/20160127/ob_576831_1131.jpg)

[https://static.cnews.fr/sites/default/files/styles/image\\_640\\_360/public/abeille\\_miel.jpg?itok=8inNwaQ3](https://static.cnews.fr/sites/default/files/styles/image_640_360/public/abeille_miel.jpg?itok=8inNwaQ3)

<https://www.nutri-beaute-sante.com/img/cms/2013-10-coffret-decouverte-7-pots-de-miel-500g.jpg>

<https://www.nutri-beaute-sante.com/blog/miel-bio-vs-miel-conventionnel-n18>

<https://www.nutri-beaute-sante.com/img/cms/2013-10-coffret-decouverte-7-pots-de-miel-500g.jpg>


<https://www.nutri-beaute-sante.com/blog/miel-bio-vs-miel-conventionnel-n18>

## Annexes


### Annexe 1: Critères microbiologiques des denrées alimentaires du Journal Officiel de la République Algérienne Démocratique et Populaire (JORADP)

8 Chaoual 1438 2 juillet 2017		JOURNAL OFFICIEL DE LA REPUBLIQUE ALGERIENNE N° 39				31
15- Autres denrées alimentaires (suite)						
Catégories des denrées alimentaires	Micro-organismes/ métabolites	Plan d'échantillonnage		Limites microbiologiques (ufc/g)		
		n	c	m	M	
Mayonnaise non stabilisée	Germes aérobies à 30 °C	5	2	10 <sup>4</sup>	10 <sup>5</sup>	
	Levures et moisissures	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Mayonnaise stabilisée et autres sauces condimentaires	Levures et moisissures	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	<i>Escherichia coli</i>	5	2	4	40	
	Staphylocoques à coagulase +	5	2	10	10 <sup>2</sup>	
	<i>Salmonella</i>	5	0	Absence dans 25 g		
Miel	Levures et moisissures	5	1	10 <sup>2</sup>	10 <sup>3</sup>	
Vinaigre	Germes aérobies à 30 °C	5	1	30	10 <sup>2</sup>	

**Annexe 2: Fiches de paillasse des quatre miels analysés.**


		<b>FICHE DE PAILLASSE</b>					N°=. <u>01</u>					
SERVICE D'HYGIENE ALIMENTAIRE												
Miel <u>Zriba</u>												
Dossier N°: <u>01</u>												
Etat d'arrivé au service : <input checked="" type="checkbox"/> Température ambiante <input type="checkbox"/> Réfrigère												
Date de réception : _____ Date de Début d'analyse : <u>13.11.2019</u> Date de fin d'analyse : <u>17.11.2019</u> Pesée : _____												
Germes recherchés	Dilution	Nombre ufc/g ou ml					Milieu	Date D'Incubation	Visa	Date de Lecture	Visa	Obs
		1	2	3	4	5						
Levures	<u>10<sup>-2</sup></u>	<u>27</u>	<u>15</u>	<u>36</u>	<u>27</u>	<u>18</u>	<u>OGA</u>	<u>13.11.2019</u>	<u>Z.Kh</u>	<u>17.11.2019</u>	<u>Z.Kh</u>	<u>PAS</u>
Moissures		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>						

**Figure 1 : Fiche de paillasse N°1 miel Zriba**


		<b>FICHE DE PAILLASSE</b>					N°=. <u>02</u>					
SERVICE D'HYGIENE ALIMENTAIRE												
Miel <u>Sidi Achour</u>												
Dossier N°: <u>02</u>												
Etat d'arrivé au service : <input checked="" type="checkbox"/> Température ambiante <input type="checkbox"/> Réfrigère												
Date de réception : _____ Date de Début d'analyse : <u>13.11.2019</u> Date de fin d'analyse : <u>17.11.2019</u> Pesée : _____												
Germes recherchés	Dilution	Nombre ufc/g ou ml					Milieu	Date D'Incubation	Visa	Date de Lecture	Visa	Obs
		1	2	3	4	5						
Levures	<u>10<sup>-1</sup></u>	<u>18</u>	<u>27</u>	<u>18</u>	<u>18</u>	<u>18</u>	<u>OGA</u>	<u>13.11.2019</u>	<u>Z.Kh</u>	<u>17.11.2019</u>	<u>Z.Kh</u>	<u>PAS</u>
Moissures		<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>	<u>0</u>						

Validé par : Dr Belguenoug N. le: 17.11.2019

**Figure 2 : Fiche de paillasse N°2 miel Sidi Achour**

		<b>FICHE DE PAILLASSE</b>					<b>N°= 03</b>					
<b>SERVICE D'HYGIENE ALIMENTAIRE</b>												
<b>Miel Alshifa</b>												
<b>Dossier N°: 03</b>												
Etat d'arrivé au service : <input checked="" type="checkbox"/> Température ambiante <input type="checkbox"/> Réfrigère Date de réception : 14.12.2019    Date de Début d'analyse : 14.12.2019    Date de fin d'analyse : 17.12.2019    Pesée :												
Germes recherchés	Dilution	Nombre ufc/g ou ml					Milieu	Date D'Incubation	Visa	Date de Lecture	Visa	Obs
		1	2	3	4	5						
Levures	10 <sup>-1</sup>	36	19	62	45	45	OGA	14.12.2019	Z.Kh	17.12.2019	Z.Kh	PAS
Moisissures		0	0	0	0	0						
Validé par : Dr. Belguedoug N. le : 17.12.2019												

**Figure 3 : Fiche de paillasse N°3 miel Alshifa**

		<b>FICHE DE PAILLASSE</b>					<b>N°= 04</b>					
<b>SERVICE D'HYGIENE ALIMENTAIRE</b>												
<b>Miel San Francisco</b>												
<b>Dossier N°: 04</b>												
Etat d'arrivé au service : <input checked="" type="checkbox"/> Température ambiante <input type="checkbox"/> Réfrigère Date de réception : 22.12.2019    Date de Début d'analyse : 22.12.2019    Date de fin d'analyse : 25.12.2019    Pesée :												
Germes recherchés	Dilution	Nombre ufc/g ou ml					Milieu	Date D'Incubation	Visa	Date de Lecture	Visa	Obs
		1	2	3	4	5						
Levures	10 <sup>-1</sup>	125	135	126	135	59	OGA	22.12.2019	Z.Kh	25.12.2019	Z.Kh	PAS
Moisissures		0	0	0	0	0						
Validé par : Dr. Belguedoug N. le : 25.12.2019												

**Figure 4 : Fiche de paillasse N°4 miel San Francisco**

**Annexe 3. Valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition des souches bactériennes choisies**

Familles des Antibiotiques	Antibiotiques	<i>Escherichia coli</i> ATCC 25922	<i>Bacillus cereus</i> ATCC 11778	<i>Staph. aureus</i> ATCC 25922	<i>Salmonella entéritidis</i>	Enterococcus faecalis
		Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
<b>Beta lactamines</b>	Amoxicilline+acide clavulanique (AMC)	19-25		28-36	19-25	
	Ampicilline	<b>16-22</b>	R	-	<b>16-22</b>	15-21
	Pénicilline (P)	-	R	26-37	-	
	Cefalexine (CXN)	15-21		29-37	15-21	
	Cephalotine (CEF)	15-21		29-37	15-21	
	Cefoxitine (FOX)	-		23-29	-	
	Ceftazidime (CAZ)	23-29	R	-	23-29	
	Oxacilline (OXA)	-		18-24	-	
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine	-		17-21	-	<b>10-16</b>
<b>Aminosides</b>	Néomycine (NEO)	17-25		19-26	17-25	
<b>Macrolides</b>	Erythromycine (ERY)	-		22-30	-	
<b>Polypeptides</b>	Colistine (CS)	11-12	R	-	11-12	
<b>Sulfamides</b>	Triméthoprim+Sulfaméthoxazole (SXT)	23-29		24-32	23-29	26-34
<b>Quinolones</b>	Acide nalidixique (NAL)	22-28	R	-	22-28	16-22
	Enrofloxacin (ENR)	32-40		27-31	32-40	
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline (TET)	18-25		24-30	18-25	
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoïne (FTN)	20-25		-	20-25	18-24
<b>Amino-glycosides</b>	Gentamicine (GMN)	19-26		19-27	19-26	12-18
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol (CHL)	21-27		-	21-27	

Ø : diamètre

**Annexe 4. Résultat d'antibiogramme des souches bactériennes testées**

<b>Tableau : Résultats d'Antibiogramme des différentes Souches</b>												
Familles des Antibiotiques	Antibiotiques	<i>Escherichiacoli</i> ATCC 25922		<i>Bacilluscereus</i> ATCC 11778		<i>Staphy. aureus</i> ATCC 25922		<i>Salmonella</i> Entéritidis		<i>Enterococcus</i> <i>faecalis</i>		
		Ø	L	Ø	L	Ø	L	Ø	L	Ø	L	
		<b>Beta lactamines</b>	Amoxicilline+acide clavulanique (AMC)	08	R	06	R	17	(I)	13	R	-
Ampicilline( AMP)	-		-	-	-	-	-	-	-	06	R	
Pénicilline (P)	-		-	06	R	06	R	-	-	06	R	
Cefalexine (CXN)	06		R	06	R	35	S	20	S	-	-	
Cephalotine (CEF)	06		R	06	R	06	R	06	R	-	-	
Cefoxitine (FOX)	06		R	06	R	06	R	06	R	-	-	
Ceftazidime (CAZ)	27		S	06	R	-	-	23	S	-	-	
Oxacilline (OXA)	27		S	06	R	06	R	23	S	-	-	
<b>Glycopeptides</b>	Vancomycine (VAN)	-	-	-	-	24	S	-	-	26	S	
<b>Aminosides</b>	Néomycine (NEO)	23	S	24	S	30	S	19	S	-	-	
<b>Macrolides</b>	Erythromycine (ERY)	-	-	29	S	38	S	-	-	19	(I)	
<b>Polypeptides</b>	Colistine (CS)	15	S	06	R	-	-	12	S	-	-	
<b>Sulfamides</b>	Triméthopriime+Sulfaméthoxazole	31	S	06	R	40	S	28	S	40	S	

	(SXT)										
<b>Quinolones</b>	Acide nalidixique (NAL)	27	<b>S</b>	18	<b>(I)</b>	06	<b>R</b>	06	<b>R</b>	-	-
	Enrofloxacin (ENR)	38	<b>S</b>	26	<b>S</b>	38	<b>S</b>	21	<b>S</b>	-	-
<b>Tétracyclines</b>	Tétracycline (TET)	30	<b>S</b>	28	<b>S</b>	37	<b>S</b>	20	<b>S</b>	10	<b>R</b>
<b>Nitrofuranes</b>	Nitrofurantoin (FTN)	27	<b>S</b>	18	<b>S</b>	-	-	11	<b>R</b>	-	-
<b>Amino-glycosides</b>	Gentamicine (GMN)	24	<b>S</b>	28	<b>S</b>	36	<b>S</b>	25	<b>S</b>	-	-
<b>Phénicolés</b>	Chloramphénicol (CHL)	31	<b>S</b>	23	<b>S</b>	-	-	26	<b>S</b>	35	<b>S</b>

## Annexe 5. Tableaux des moyennes des tests des 04 miels

**Tableau 1 :** La moyenne de résultat d'inhibition des 5 souches testées sur le miel de Zriba

Miel Zriba	100%	75%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i>	26	21	15	10
<i>Salmonella enteritidis</i>	26	20	11	7
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	15	11	6
<i>Bacillus cereus</i>	8	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	15	11	8	7

**Tableau 2 :** La moyenne de résultat d'inhibition des 5 souches testées sur le miel de S.Achour

Miel Sidi Achour	100%	75%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i>	24	17	11	7
<i>Salmonella enteritidis</i>	26	19	12	6
<i>Staphylococcus aureus</i>	20	11	6	6
<i>Bacillus cereus</i>	13	9	8	7
<i>Enterococcus faecalis</i>	15	11	9	7

**Tableau 3 :** La moyenne de résultat d'inhibition des 5 souches testées sur le miel d'Alshifa

Miel Alshifa	100%	75%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i>	26	22	18	12
<i>Salmonella enteritidis</i>	25	20	16	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	13	9	7
<i>Bacillus cereus</i>	9	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	7	6	6

**Tableau 4 :** La moyenne de résultat d'inhibition des 5 souches testées sur le miel de San Francisco

Miel San Francisco	100%	75%	50%	25%
<i>Escherichia coli</i>	26	17	10	6
<i>Salmonella enteritidis</i>	29	21	13	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	15	12	9	6
<i>Bacillus cereus</i>	8	6	6	6
<i>Enterococcus faecalis</i>	8	7	7	6