

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

UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCCEN  
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie et Sciences de la Terre et de  
l'Univers

**Département de biologie**

Laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à  
l'environnement  
« LAMAABE »

***MEMOIRE DE MASTER***

Présenté par :

**Abid Malika**

En vue de l'obtention du diplôme de Master en Biologie  
**Biologie Moléculaire et Cellulaire**  
Option : **MICROBIOLOGIE**

**Intitulé du thème :**

**Évaluation de l'activité antifongique des miels  
Algériens vis-à-vis deux souches de *Candida albicans***

**Soutenu le 22/06/2017**

**Devant le jury composé de :**

Présidente	Hassaine Hafida	Professeur	Université de Tlemcen
Encadreur	Sib Asmae	Maitre Assistant	Université de Tlemcen
Examinatrice	Boublenza Lamia	Maitre de conférences	Université de Tlemcen

**Année Universitaire : 2016-2017**

## *Dédicaces*



*A mon très cher papa,  
Qui reste toujours mon premier maître, je t'aime très fort...*

*A la plus belle perle du monde... ma tendre mère,  
En témoignage de votre affection, votre sacrifices et votre précieux conseils qui mon  
conduit à la réussite dans tous ce que je fais, je t'aime maman...*

*A mon cher frère SidAhmed,  
Qui n'a cessé d'être pour moi l'exemple de persévérance, de courage et de générosité.*

*A mes aimables sœurs Nabila et Fatima,  
Que dieu tout puissant, vous donne santé et bonheur. je t'aime très fort...*

*A mes très chères et merveilleuse amies  
Que je l'aime profondément, ABIA, DALIEL, IKRAM, MERJEM, SAMIA,  
Sarah, Ibrahim, qui n'ont cessé d'être pour moi des exemples de persévérance, de  
courage et de générosité, je vous souhaite une vie pleine de bonheur, de prospérité et  
beaucoup de succès.*

*A tous mes proches  
A tous ceux qui mon aidé afin de réaliser ce travail, et à tous ceux que j'aime et qui  
m'aiment.*

## Remerciement

*Je remercie tout d'abord, ALLAH, le tout puissant de m'avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de la science et de la connaissance. Et de m'avoir donné la force dans les moments difficiles d'éditer ce mémoire.*

*Ce travail a été effectué au laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire, au biomédical et à l'environnement (LAMAB) et au laboratoire de Biologie moléculaire de l'université Abou Bakr Belkaid de Tlemcen.*

*J'exprime d'abord mes profonds remerciements et ma vive connaissance à **Mm Sib. A, maitre de conférence à l'université Abou Beker Belkaid** pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique, sa disponibilité, ses conseil et la confiance qu'il m'accordé m'ont permet de réaliser ce travail*

*J'adresse mes sincères remerciements à **Mm Hassaine. H, professeur à l'université Abou Beker Belkaid**, pour l'honneur que vous m'aver fait en acceptant de présider mon jury. Je vous remercie pour votre qualité d'enseignement ainsi que pour vos qualités humaines. Votre compétence et votre culture scientifique n'ont cessé de susciter ma grande admiration durant mon passage dans votre service. Veuillez trouvez ici, professeur, l'expression de mes sincères remerciements.*

*Je tiens également mes vifs remerciements à **Mm BELLIFA SAMIA, Docteur à l'université Abou-Beker Belkaid** pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'examiner ce mémoire.*

*J'exprime mes vifs remerciements aux personnels du laboratoire de microbiologie appliquée a l'agroalimentaire au biomédicale et a l'environnement pour leur aide, en particulier **MM GAWAR SARAH** pour leur aide.*

*A toute personne qui de près ou de loin a contribué à la réalisation de ce travail*

## Table de matière

<b>Introduction.....</b>	<b>02</b>
<b>I. Généralités sur le miel.....</b>	<b>05</b>
1. Historique.....	05
2. Définition.....	06
3. Origine et formation.....	06
3.1. Le nectar.....	06
3.2. Le miellat.....	06
3.3. Formation de miel.....	07
4. La composition chimique.....	08
5. Les contaminants et composés toxiques potentiels.....	10
6. Les types des miels.....	10
6.1. Miel varie selon l'origine floral.....	10
6.2 Miel varie selon l'origine géographique.....	11
6.2.1. Miel monofloral.....	11
6.2.1. Miel polyfloral.....	11
7. Les miels Algérien.....	11
<b>II. Les caractéristiques du miel.....</b>	<b>12</b>
1. Les caractéristiques organoleptiques.....	12
1.1. La couleur.....	12
1.2. L'odeur.....	12
1.3. La texture.....	12
1.4. La cristallisation.....	12
1.5. Le gout.....	13
1.6. Les arômes.....	13
2. Les caractéristiques physicochimiques.....	13
2.1. Le poids spécifique.....	13
2.2. La viscosité.....	13
2.3. La solubilité.....	13
2.4. L'hygroscopicité du miel.....	14
2.5. L'humidité.....	14
2.6. L'indice de réfraction.....	14
2.7. La conductivité électrique.....	14
2.8. La conductibilité thermique.....	14
2.9. La chaleur spécifique.....	15
2.10. Le pH.....	15
2.11. L'abaissement du point de congélation.....	15
2.12. La fluorescence.....	15
3. Les caractéristiques nutritionnelles.....	15
<b>III. Les propriétés thérapeutiques du miel.....</b>	<b>17</b>
1. Propriétés bienfaisantes générale.....	17
2. Propriétés spécifiques à chaque miel.....	17
3. Mécanisme d'action contre l'infection.....	19
4. Contre indication du miel.....	19
<b>IV. Activités antimicrobiennes et mécanismes.....</b>	<b>20</b>
1. Les propriétés antimicrobiennes de miel.....	20
1.1. L'activité antibactérienne.....	20
1.2. L'activité antifongique.....	20
1.2.1. Activité sur les mycoses cutanées.....	20
1.2.2. Activité sur les mycoses vaginales.....	21

1.3. Les mécanismes antimicrobiens .....	21
1.3.1. L'osmolarité.....	21
1.3.2. Le pH acide.....	22
1.3.3. Le peroxyde d'hydrogène .....	22
1.3.4. Le système non peroxyde.....	22
1.3.5. La Méthylglyoxal.....	23
1.3.6. La Defensine-1 .....	23
<b>Matériel et méthodes.....</b>	<b>24</b>
1. Lieu d'étude .....	25
2. Provenance des échantillons du miel .....	25
3. Provenance des souches microbienne.....	26
3.1. Origine .....	26
3.2. Préparation des inoculum fongiques .....	27
4. Evaluation du pouvoir antifongique.....	27
4.1. Préparation des échantillons du miel .....	27
4.2. Méthode des puits de diffusion .....	28
4.2.1. Le mode opératoire .....	28
4.2.2. Expression des résultats .....	28
4.3. Méthode de contact directe .....	28
4.3.1. Le mode opératoire .....	29
4.4. La méthode de spectrophotométrie.....	29
5. La détermination de la concentration minimale inhibitrice .....	30
<b>Résultats et discussion .....</b>	<b>31</b>
1. Evaluation du pouvoir antifongique .....	32
1.1. Méthode des puits de diffusion .....	32
1.2. Méthode de contact directe .....	34
1.3. Méthode de spectrophotométrie.....	36
2. Détermination de la concentration minimale inhibitrice. ....	40
<b>Conclusion .....</b>	<b>46</b>
<b>Références bibliographiques .....</b>	<b>48</b>
<b>Annexes</b>	

## Liste des abréviations

Mg	: Magnésium
Mn	: Manganèse
K	: Potassium
Ca	: Calcium
Na	: Sodium
Fe	: Fer
Cu	: Cuivre
Se	: Sélénium
Cl	: Chlore
Zn	: Zinc
Co	: Cobalt
B	: Bore
Cr	: Chrome
Ni	: Nickel
Au	: Or
Ag	: Argent
Ba	: Baryum
P	: Phosphore
Cs	: Césium
ATF	: Antifongiques
MH	: Miller Hinton
M	: Miel
al	: Collaborateurs
UFC	: unité formant colonie

## Liste des figures

Figure 1 :	Le fleur butiné par une abeille.....	07
Figure 2 :	Puceron avec la goutte du miellat.....	07
Figure 3 :	Cellules operculées et non operculées.....	08
Figure 4 :	Différents couleurs des miels testés.....	26
Figure 5 :	Mesure de l'activité antifongique de six miels pure vis-à-vis. au <i>Candida albicans</i> .....	32
Figure 6 :	La croissance de <i>Candida albicans</i> bonne formatrice de biofilm en présence du miel <i>Onobrychis sativa</i> et en absence (Témoin).....	35
Figure 7 :	La croissance de <i>Candida albicans</i> non formatrice de biofilm en présence du miel <i>Ajuga reptans</i> et en absence (Témoin).....	35
Figure 8 :	Mesure de l'activité antifongique de cinq miels testés vis-à-vis au <i>Candida albicans</i> bonne formatrice de biofilm.....	37
Figure 9 :	La microplaque de six miels testés vis-à-vis au <i>Candida albicans</i> .....	37
Figure 10 :	Mesure de l'activité antifongique de cinq miels testés vis-à-vis de <i>Candida albicans</i> non formatrice de biofilm.....	38

## Liste des tableaux

Tableau 1 :	la composition moyenne de miel.....	09
Tableau 2 :	Micro-organismes répertoriés dans le miel.....	10
Tableau 3 :	les différentes sortes de miel.....	18
Tableau 4 :	l'origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de six échantillons de miel.....	25
Tableau 5 :	Les abréviations des souches fongiques.....	26
Tableau 6 :	l'évaluation de la croissance fongique des deux souches S <sub>1</sub> et S <sub>2</sub> en présence de miel par la méthode de contact directe.....	34
Tableau 7 :	Les concentrations minimales inhibitrices de S1 et S2 par les six miels testées par la méthode de contact directe.....	40
Tableau 8 :	les valeurs de la concentration minimale inhibitrice par les six miels testées sur <i>Candida albicans</i> bonne formatrice de biofilm.....	41
Tableau 9 :	les valeurs de la concentration minimale inhibitrice par les six miels testées sur <i>Candida albicans</i> non formatrice de biofilm.....	42
Tableau 10 :	La concentration minimale bactéricide <i>Candida albicans</i> .....	43

## تلخيص

هذا العمل هو المساهمة في تقييم تأثير مضادات الميكروبات من ست عينات من العسل من زهرة واحدة تحصد الأراضي الجزائرية.

لدينا عينات من العسل لديهم مصادر نباتية وجغرافية مختلفة من تلمسان: عسل عشبة تسلغة، عسل عشبة السدر، عسل النجار، عسل الجرجير و من تيزي وزو: عسل الخزامة و عسل السلة .

تم اختبار عينات العسل على اثنين من الفطريات الممرضة. هذه السلالات هي؛ المدرب جيد لمقاومة بيوفيلم والآخرى غير قادرة على تشكيل بيوفيلم وعرضة معتدلة إلى مضادات الفطريات.

و يستند عملنا على تقييم تأثير مضاد للفطريات من العسل الصافي والمخفف ( 0.20، 0.5، 0.75، 0.60، 0.50، 0.40، 0.30، 0.20، 0.10، 0.05) من خلال تقنية نشر جيدا الاتصال المباشر الهندسة وطريقة القياس الطيفي.

يظهر نتيجة بوضوح تأثير العسل الطبيعي على نمو الفطريات. هذا التأثير المثبط وجد هو متغير تبعا للسلالة ونوع العسل التي تم اختبارها.

العسل: عشبة تسلغة ، عسل النجار و عسل الجرجير هي الأكثر فعالية ضد الفطريات لدينا سلالات مع مناطق تثبيط تتراوح بين 11 الى 20mm للأسلوب جيد. وبالتالي هذه العينات الثلاث تكشف عن نشاط مضاد للاهتمام على اثنين من سلالات بتركيزات تتراوح بين 0.05 إلى 0.75 متفاوتة، مع نسب تثبيط تتراوح بين 0.50 إلى 0.90 مع الأسلوب الثاني من القياس الطيفي.

تأثير مضاد للفطريات إما قاتل للفطريات أو كابح الفطريات مع تركيزات قليلة كابحة على نطاق واسع (CMI)، العسل النجار، عسل الجرجير والسدر ا يمارس تأثير قاتل للفطريات غير مشكلة للبيوفيلم وكابح للفطريات المشكلة جيدا للبيوفيلم

هذه الدراسة تكشف نوعا من الزهور واحدة العسل مضاد للفطريات التي يمكن استغلالها في التطبيق العيادي الكلمات المفتاحية العسل , مضادات الفطريات, فطر, عسل الخزامة, عسل النجار, عسل الجرجير, عسل عشبة تسلغة، عسل عشبة السدر, عسل السلة .

## Abstract

The present work is a contribution to the evaluation of the antimicrobial effect of six samples of monofloral honey harvested from the Algerian territory.

Our samples of honeys come from different sources of floral and geographical origin: Tlemcen: *Globularia alypum*, *Eruca Sativa*, *Ziziphus lotus* and *Ajuga reptans*, and Tiziouzou: *Lavandula officinalis*, *Onobrychis sativa*.

The six samples were tested on two clinical yeasts of pathogenic *Candida albicans*. These strains are; One good form of biofilm and resistant and the other non-formative of biofilm and moderately sensitive to antifungal agents.

Our work is based on the evaluation of the antifungal effect of pure and diluted honeys (75%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%) using the diffusion well technique, Direct contact technique and spectrophotometric method.

The result clearly shows the impact of natural honey on fungal growth. This inhibitory effect was found to be variable depending on the strain and type of honey tested. Honeys: *Globularia alypum*, *Ajuga reptans* and *Eruca Sativa* are the most effective against our yeast strains with zones of inhibition ranging from 11 to 20mm for the well method. These three samples thus reveal an interesting antifungal activity on our two strains at variable concentrations ranging from 5% to 75% with inhibition percentages ranging from 50% to 90% with the second spectrophotometric method.

The antifungal effect is either fungicidal or fungistatic with very variable MICs, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* and *Ziziphus lotus* exert a fungicidal effect against *Candida albicans* that do not form biofilm and fungistatic effect against *Candida albicans*, which is a good formoter of biofilm.

This study reveals varieties of antifungal monofloral honeys that can be exploited in clinical applications.

Key words: Honey, antifongic, *Candida albicans*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Globularia alypum*, *Lavandula Officinalis*, *Onobrychis sativa*, *Ziziphus lotus*.

## Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antimicrobien de six échantillons de miel monofloral récoltés du territoire Algérien.

les échantillons des miels sont de différentes sources florale et géographiques il s'agit de Tlemcen : *Globularia alypum*, *Eruca Sativa*, *Ziziphus lotus* et *Ajuga reptans* ; de Tiziouzou : *Lavandula officinalis*, *Onobrychis sativa*.

Les six échantillons sont testés sur deux levures cliniques de *Candida albicans* à caractère pathogène. Ces souches sont; l'une bonne formatrice de biofilm et résistante et l'autre non formatrice de biofilm et moyennement sensible aux antifongiques.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'effet antifongique des miels purs et dilués (75%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5% )par la technique de puits de diffusion, technique de contacte directe et par la méthode de spectrophotométrie.

Le résultat obtenu montre clairement l'impact du miel naturel sur la croissance fongique. Cet effet inhibiteur a été constaté est variable selon la souche et le type de miel testé. Les miels : *Globularia alypum*, *Ajuga reptans* et *Eruca Sativa* sont les plus efficaces contre nos souches levuriennes avec des zones d'inhibition allant de 11 à 20mm pour la méthode de puits. Ces trois échantillons révèlent ainsi une activité antifongique intéressante sur nos deux souches a des concentrations variables allant de 5% à 75% avec des pourcentages d'inhibition variant de 50% à 90% avec la deuxième méthode de spectrophotométrie.

L'effet antifongique est soit fongicide ou fongistatique avec des CMI très variables , les miels *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* et *Ziziphus lotus* exercent un effet fongicide contre *Candida albicans* non formatrice de biofilm et effet fongistatique contre *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm.

Cette étude dévoile des variétés de miels monofloraux antifongiques qui peuvent être exploité en application clinique.

Les mots clés : Miel, antifongique, *Candida albicans*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Globularia alypum*, *Lavandula Officinalis*, *Onobrychis sativa*, *Ziziphus lotus*.

# INTRODUCTION

Le miel est la substance naturelle qui a accompagnée l'homme depuis la plus haute antiquité. Ce produit noble est élaboré par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes aussi bien que du miellat. C'est l'un des aliments les plus complexes qui représente une solution hautement concentré en sucres, dont les principaux sont le glucose et le fructose. Il renferme aussi une large gamme de composés mineurs tels que, les vitamines, les minéraux, les protéines, les acides organiques, les flavonoïdes.... cette composition est en fonction des conditions environnementales, du climat, des espèces végétales et de la contribution de l'apiculteur [(Azeredo et al., 2003); (Yaiche Achour et Khali, 2014)].

Le miel vient au secours de la médecine, face à certaines pathologies résistantes aux traitements conventionnels. Avec l'évolution de la médecine alternative la recherche de nouvelles molécules actives constitue un but majeur pour les scientifiques qui cherchent à valider les effets thérapeutiques des centaines de variétés de miels monofloraux et polyfloraux qui peuvent être administrés seuls ou comme remède aux agents antimicrobiens (ATB, ATF, traitements chimiques) pour améliorer leur efficacité limitée.

Il est considéré comme une partie importante de la médecine traditionnelle (Bogdanov et al., 2008), plusieurs vertus sont attribuées au miel grâce à leur propriétés thérapeutique et antimicrobienne, cicatrisantes et antioxydants, qui sont utiles pour le traitement des brûlures, des blessures, des troubles gastro-intestinaux, des ulcères et autres[(Lobreau-Callen et al., 2000) ; (Al-Mamary et al., 2002)].

L'Algérie possède une flore mellifère extrême riche, un climat favorable et un sol fertile mais la production des miels restes très inférieure par rapport aux potentialités mellifères existantes .En effet Des études et des recherches sur les miels Algérien montrent ses meilleures qualité et ses propriétés antimicrobiennes [(Merah et al., 2010) ; (Makhloufi, 2010) ; (Nadir, 2014)].

C'est dans ce contexte que nous présentons cette étude sur six échantillons monofloraux de miel Algérien dont l'objectif est de tester leur efficacité vis-à-vis de deux souches fongiques de *Candida albicans* l'une formatrice de biofilm et l'autre non formatrice de biofilm par trois méthodes différentes :

- ✓ La méthode de puits de diffusion
- ✓ la méthode de contact direct ou de diffusion en milieu solide

- ✓ la méthode de spectrophotométrie ou de diffusion en milieu liquide
- ✓ et enfin une détermination des CMI et CMB.

**Synthèse**  
**bibliographique**

## Chapitre I : Généralité sur le miel

### 1-Historique

La relation entre les hommes et les abeilles existent depuis la préhistoire. En effet, le miel a toujours eu une place privilégié, dans plusieurs civilisations et croyances. Ce produit phare de la ruche est le symbole à la fois de la vie, de la sagesse, de l'abondance et de la pureté [(Lefief-Delcourt, 2010) ; (Nicolay, 2014)].

La première peinture retrouvée en Espagne daterait d'environ 10000 ans avant J-C et représentée des hommes cueilleurs de miel. D'autres peintures rupestres également étaient retrouvées dans les montagnes de l'Afrique du Sud montrent des interactions entre des chasseurs-cueilleurs et des abeilles. Ce qui confirme et prouve que le miel existait à des époques très lointaines [(Russell et Lander, 2015) ; (Rossant, 2011)]. Dès 2700 avant J-C, le miel a été mentionné comme un médicament et non pas comme un aliment dans des tablettes d'argile mésopotamiennes (Clémence, 2005).

Depuis la plus haute antiquité le miel était reconnu par ses propriétés médicinales, préventives, curatives, antiseptiques et antimicrobiennes qui ont été longtemps utilisées empiriquement [(Jonathan et al., 1912) ; (Paulus et al., 2011)].

Les Égyptiens et les Grecs utilisaient déjà le miel dans des médicaments, il faisait également partie de la formule d'embaumement chez les Egyptiens, qui l'utilisaient pour ses propriétés antiseptiques sur les momies et les protégeait de la putréfaction, pour des soins de beauté, et comme agent sucrant dans la préparation des pains et des gâteaux (Desrochers et Schmidt, 2013). Les Grecs et les Romains appliquaient le miel sur la peau pour ses propriétés régénératrices, adoucissantes, nourrissantes et hydratantes (Domerego, 2002).

Le saint Coran et la Bible font également référence au miel, tel qu'Allah l'indique dans le Coran le miel est « curatif pour les hommes » "شفاء للناس" «Sourate Ennah 16, verset 68 et 69 », donc il n'ya pas une précision de type de miel ou de maladies traiter. Et cela laisse la porte ouverte pour dévoiler le secret du miel d'abeille [(Sib, 2011) ; (Ali Raessi et al., 2013)].

Durant la première et la deuxième guerre mondiale, le miel constitue un véritable pansement pour le traitement des plaies profondes et surinfectées des soldats grâce à ces propriétés cicatrisantes et antimicrobienne (Tourrassé, 2014).

Une des utilisations traditionnelles les plus ancrées du miel dans notre société est son emploi pour soulager les maux de gorge et la toux, en raison de ces propriétés anti-inflammatoires et calmante. A nos jours le miel est de plus en plus demandé en raison de ses multiples propriétés bénéfiques pour l'organisme, d'autre part, une nouvelle thérapie alternative est apparue ces dernières années basée sur le miel et d'autres produits des abeilles pour le traitement de maladies, l'apithérapie (<https://www.anastore.com>).

### 2-Définition

Le miel est un liquide visqueux remarquable, produite par les abeilles d'espèce *Apis mellifera* à partir du nectar ou à partir du miellat laissées sur les parties vivante de plantes par les insectes butineurs, et que les abeilles récolte , transformé en les assembler avec leurs sécrétion de substances spécifiques, déposent, déshydratent, stockent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche ou combinant avec des matières propres, conservent et laissent mûrir .cette aliment peut-être épaisse, fluide ou cristallisée (codex Alimentarius,2001).

### 3- Origine et formation du miel

Il existe deux variétés de miel selon l'origine sécrétoire : le miel de nectar et le miel de miellat

#### 3.1. Le nectar

Le nectar est un liquide sucré sécrété par les nectaires, il présente une composition complexe mais variable selon les espèces, et différente de celle de la sève. On y trouve de l'eau, des sucres, des substances aromatiques et colorantes, des acides, des minéraux ou quelques substances diverses et rares comme des vitamines ou des protéines. La qualité et la composition du nectar influencent donc les propriétés du miel, par exemple au niveau des arômes, des sucres [(Philippe, 1991); (Bessas, 2008) ; (Lequet, 2010)].

#### 3.2. Le miellat

Certaines espèces d'insectes sont capables de prélever la sève élaborée dans les canaux où elle circule (phloème) à l'aide de pièce buccale piqueuse [(Rossant, 2011) ; (Koechler, 2015)]. La sève subie des transformations dans le système digestif de l'insecte, notamment sous l'action de microorganismes qui y vivent en symbiose,

puis elle est rejetée sous forme d'excréments liquides et sucrés, le miellat. Les abeilles le récoltent directement sur les insectes ou sur la végétation (**Guerriat, 2000**).

### 3.3. Formation du miel

L'abeille transporte dans son jabot les matières premières liquides sucrées qu'elle aspire avec sa trompe. Le nectar aspiré par l'abeille ou le miellat excrété par les pucerons des arbres sont mélangés aux sécrétions salivaires contenant différents enzymes responsables de modifications importantes du spectre des sucres.



**Figure 1** : Fleur butinée par une Abeille



**Figure 2** : Puceron avec la goutte de miellat (**Nicolay, 2014**)

Le nectar circule alors très vite d'une abeille à l'autre. Dans un premier temps, les abeilles évaporent l'eau du nectar en refoulant une goutte et en l'étalant sous la trompe, de manière répétitive ; la concentration en sucre augmente.

Lorsque la teneur en eau est tombée à 40-50% ; le nectar est déposé dans les cellules où l'évaporation de l'eau se poursuit sous la double influence : de la chaleur et la ventilation des abeilles ventileuses [(**Guerriat, 2000**) ; (**Mazrou, 2008**) ; (**Nadir, 2014**)]. Quand le miel est mué, c'est-à-dire suffisamment concentré en sucre, les abeilles ferment les cellules d'un couvercle de cire (operculation). Finalement, Le travail de l'apiculteur est de récolter le miel quand la majorité des alvéoles sont operculées, à cette étape, il désopercule les cadres et extrait le miel. Il le filtre puis le conditionne (**Nicolay, 2014**).



**Figure 3 : Cellules operculées et non Operculées (Nicolay, 2014)**

#### **4. La composition chimique du miel**

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

- L'origine florale
- Condition météorologique
- Nature du sol [(Guerriat, 2000) ; (Makhloufi , 2010)].

Mélange d'origine végétal et animale, 200 substances y ont été identifier jusqu'à présent participe à l'équilibre de notre organisme (Ali Raessi et al., 2013). Le tableau suivant résume la composition moyenne de miel

-les substances indiquées entre parenthèses sont à l'état de traces ; les pourcentages sont donnés par rapport au poids total du miel (Tableau 1)

# Généralité sur le miel

**Tableau1:** la composition moyenne de miel[(Olaitan *et al.*,2007); (Aboussedik, 2008); (Bogdanov *et al.*, 2008); (Jesica,2015)]

Composition	Pourcentage totale	Types de composés	Principaux composants
Hydrates de carbone	75 à 80%	Monosaccharides	Fructose (38%), glucose (31%)
		Disaccharides	Maltose (7, 3%), isomaltose, saccharose (1, 3%)
		Polysaccharides (1,5 à 8%)	Erllose, Raffinose, (dextantriose, mélézitose, Kojibiose, mélibiose)...
Eau	15 à 20% (moyenne 17%)		
Substances diverses	1 à 5% (Moyenne 3, 5%)	Acides organique (0,1 à 0,5%)	acide citrique, acétique, phosphorique, gluconique (0,1 à 4%), lactique, fumarique, (maléique), (oxalique), (pyroglutamique), (succinique)
		Protéines, peptides et acides aminées (0,2 à 2%)	Matières albuminoïdes, matières azotées, la defensine-1 (aspartique, glutamique, alanine, arginine, asparagine, cystine, glycine, histidine, Isoleucine, leucine lysine, méthionine, phénylalanine, proline, sérine, tryptophane, tyrosine et valine)
		Les vitamines	B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8 ou H, B9 et C
		Enzymes provenant des glandes hypopharyngiennes	Amylase $\alpha$ et $\beta$ , gluco-invertase, glucose-oxydase
		Enzymes provenant du nectar	(catalase, amylase, phosphatase acides)
		Minéraux	Mg, Mn, K, Ca, Na, Fe, Cu, Se, S, Cl, Zn, (Co, B, Ci, Cr, Ni, Au, Ag, Ba, P, Cs)
		(Acétylcholine)	
Arômes		Esters	Méthyléthylcétone, méthylantranilate, acétates...
		Aldéhydes et acetones	Formaldéhyde, acétaldéhyde...
		Alcools	Ethanol, méthanol, isobutanol, 2-phényléthanol....
(Lipides)	Traces	Acides gras	(acide palmitique, oléique et linoléique, butyrique, caprique)
Pigments		Caroténoïdes et flavonoïdes	Lutéoline, méthylflavonol, catéchine, chryisine....

## 5-Contaminants et composés toxiques potentiels

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 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 (Koechler, 2015).

**Tableau 2 :** Micro-organismes répertoriés dans le miel [(Olaitan et al., 2007) ; (Sib, 2007)].

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

## 6- Les types des miels

Il existe nombreuse variété de miel qui peuvent être classé de façon diverses :

### 6.1- Miel varie selon l'origine floral

En distingue deux grandes variétés de miel en fonction de l'origine sécrétoire : miel de nectar et le miel de miellat

### 6.2- Miel varie selon l'origine géographique

#### 6.2.1. Miel mono-florale

un miel uni floral est un miel récolté par les abeilles sur une espèce végétale unique (**Gonnet, 1982**), Les miels monofloraux possèdent des caractéristiques palynologiques, physico-chimiques et organoleptiques spécifiques (**Bogdanov et al., 2001**).

#### 6.2.2. Miel poly-florale

Appelé aussi miel de toute fleurs, le miel est préparé à partir du nectar et /ou de miellat de plusieurs fleurs différentes (**Makheloufi, 2010**), souvent classés suivant les lieux de récolte (miel de montagne, de forêt), ou encore suivant les saisons (miel de printemps ou d'été) (**Donadieu, 1982**).

### 7 -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 pré- dominante 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 8Kg/ruche, ce qui est très faible par rapport aux potentialités mellifères qu'offre notre pays. En 2011 l'Algérie a introduit plus de 150.000T de miel de Chine, d'Inde et d'Arabie Saoudite (**Oudjet, 2012**).

## Chapitre II : Les caractéristiques du miel

Ces caractères sont importants pour bien différencier les miels les uns des autres mais également pour évaluer la qualité de ceux-ci (**Blanc, 2010**).

### 1- les caractéristiques organoleptiques:

#### 1. 1. La couleur

Les miels ont des multiples couleurs qui sont déterminées par les espèces des fleurs butinées. On peut diviser les couleurs en 5 catégories principales : brun-ocre-ambri-jaune intense-jaune paille. Plus un miel est clair plus sa saveur est accessible. La couleur d'un même miel peut varier d'une année à l'autre [(**Schweitzer, 2000**) ; (**Ibrahim Khalil et al., 2012**)].

#### 1.2. L'odeur

Considérer comme deuxième élément pour déguster pleinement un miel est d'en capter les effluves dès l'ouverture du pot. Les odeurs varient considérablement mais s'évaporent très rapidement. Elles sont végétales, puissantes ou non, florale ou fruitées, fines, lourdes, vulgaires.

Certains miels peuvent avoir une odeur de fumée, de métal de fermentation ou de produits chimiques cet état pourrait provenir des manipulations de l'apiculteur, c'est un défaut ne doit pas être perceptible [(**Mokeddem, 1998**) ; (**Guerzou et Nadji, 2002**)].

#### 1.3. La texture

La texture est largement tributaire de la provenance du nectar, elle influence l'expérience gustative qui suivra et représente un trait caractéristique du miel. Celui-ci peut être liquide, crémeux, visqueux ou même granuleux (**françois, 2017**).

#### 1.4. La cristallisation

Désigne un processus naturel complexe du fait de la présence de plusieurs sucres en mélange et de leurs différences de solubilité. Plus la teneur en fructose est élevée, plus le miel reste liquide, le fructose influence souvent la solubilité du glucose [(**Bogdanov, 1984**) ; (**Guerriat, 2000**) ; (**El Sohaimy et al., 2015**)]. Cette cristallisation est liée au fait que le glucose en solution dans le miel tend à se cristalliser à température ambiante. Il forme d'abord de petits cristaux qui vont se lier entre eux progressivement pour former de plus gros cristaux et donner une consistance grumeleuse au miel [(**Dailly, 2008**) ; (**Koechler, 2015**)].

### 1.5- Le goût

Les parfums et les arômes influencent très largement la saveur du miel, on trouve parfois le goût très fort comme le miel de sauge, parfois plus doux comme le miel d'acacia, parfois amer comme le miel de châtaignier ou très sucré comme le miel de bruyère (**Anonyme**).

### 1.6. Les arômes

L'arôme de miel est donné soit par l'acide phénylacétique, qu'il est présent dans tous les miels, ceux qui donnent le goût caractéristique de ces derniers ; soit par une auxine présente dans la sève de certains arbres, et elle est transférée au miel à travers le miellat (**Miel et fleur E.Moniste.com**). En règle générale, les miels foncés sont plus aromatiques que les autres (**Guerzou et Nadji, 2002**).

## 2. Caractéristiques physicochimiques du miel

### 2.1. Le poids spécifique

Le poids spécifique d'un miel varie essentiellement en fonction de sa teneur en eau. La moyenne retenue s'élève à 1,42 kg par litre. En moyenne, un litre de miel pèse donc 1420 grammes (**Guerriat, 2000**). Il apprécie avec un densimètre (**Rezzag, 2010**).

### 2.2. La viscosité

C'est la consistance du miel, elle joue un rôle prépondérant dans l'écoulement du miel, que ce soit lors de l'extraction, lors de la filtration, ou encore lors de la mise en pot (**Rossant, 2011**). La viscosité varie rapidement entre 15 et 40°C, si bien qu'un léger réchauffage suffit souvent à rendre le miel plus fluide et à faciliter les opérations de conditionnement. La teneur en eau influence aussi la viscosité du miel, il devient plus fluide lorsque la quantité d'eau augmente (**Clémence, 2005**), ce critère est très important pour évaluer la qualité, la maturité et la durée de vie de miel (**Dustman, 1978**).

### 2.3. La solubilité

Le miel est soluble dans l'eau et l'alcool dilué mais insoluble dans l'alcool fort, l'éther, le benzène et le chloroforme (**Clémence, 2005**).

### 2.4. L'hygroscopicité du miel

Le miel, spécialement lorsqu'il est riche en fructose, est très hygroscopique, confiné en atmosphère humide il absorbe l'eau rapidement. C'est d'abord un phénomène de surface mais qui gagne en suite en profondeur (**Broneck et al., 1980**). Cela peut conduire à une hausse de la teneur en eau et peut faire fermenter le miel. Il est donc important que le miel soit toujours stocké dans des récipients aux couvercles bien ajustés (**Bradbear, 2010**).

### 2.5. L'humidité

La teneur en humidité du miel d'abeille représente une grande importance à sa stabilité contre la fermentation et la granulation. Les réglementations internationales CEU (Council of-European Union), TSE (Turkish Standard Institute) et AFNOR fixe cette valeur en une fourchette de 15 à 20% (**Sib, 2007**). La faible teneur en humidité protège le miel de la contamination microbologique et donc il peut être conservé pendant des périodes plus longues (**El-Sohaimy et al., 2015**).

### 2.6. L'indice de réfraction

Il est en fonction de la teneur en eau et de la température. L'indice de réfraction de miel est d'autant plus élevé que sa teneur en eau est plus basse, Il est plus élevé quand sa concentration en sucre est forte ; il diminue lorsque la température augmente [(**Guerriat, 2000**) ; (**Guerzou et Nadji, 2002**) ;(**Mazrou , 2008**)].

### 2.7. La conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel. Cette mesure dépend de la teneur en minéraux et de l'acidité du miel, plus elles sont élevées, plus la conductivité correspondante est élevée (**Mazrou, 2008**). Elle est intéressante car elle permet de distinguer aisément des miels de miellats des miels de fleurs, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (**Emmanuelle et al., 1996**).

### 2.8. La conductibilité thermique

Elle permet de différencier les miels de nectar des miels de miellat (**Blanc, 2010**). Elle s'exprime en calories par cm<sup>3</sup> par seconde et par degré centigrade. Elle varie de 118 à 143x10 Cal/cm<sup>2</sup>/sec/°C (**White, 1975**). En générale le miel n'est pas un bon conducteur de la chaleur, sauf quand il est tout-à-fait déshydraté. En effet, le

miel est mauvais conducteur de la chaleur, donc bon isolant thermique (**Rezzag, 2010**).

### 2.9. La chaleur spécifique

La chaleur spécifique d'un corps est la quantité de chaleur nécessaire pour élever de 1c° la température d'une unité de poids de ce corps. Un miel a 17% d'eau, la chaleur spécifique est de 0,54 à 20c° cela veut dire qu'il faut approximativement deux fois moins d'énergie ( de joules) pour réchauffer du miel que pour réchauffer la même masse d'eau, et que la chaleur spécifique varie très peu d'un miel à l'autre (**Guerzou et Nadji , 2002**).

### 2.10. Le pH

Tous les miels sont acides et c'est probablement l'abeille qui leur confère cette propriété. Le pH et l'acidité libre vont influencer la stabilité du miel et ces conditions de conservation (**Mbogning et al ., 2011**). Le pH se situe entre 3,5 et 4,5 pour les miels de nectar et entre 4,5 et 5,5 pour un miel de miellat (**Cari, 2011**).

### 2.11. L'abaissement du point de congélation

Cette caractéristique dépend de la proportion en sucres, il serait de 1,42c° à 1,53c° en solution aqueuse à 15% et 2,75c° à 3,15c° en solution aqueuse à 25% (**Rezzag, 2010**).

### 2.12. Fluorescence

Plusieurs miels présentent une Fluorescence plus ou moins importante sous l'action de l'ultraviolet. Les couleurs de Fluorescence des miels sont variables. Certains miels tels que les miels de châtaigner par exemple sont légèrement fluorescents en lumière UV (**Nadir, 2014**).

## 3. Les caractéristiques nutritionnelles

Le miel est essentiellement contient des glucides, des protéines, des lipides, des enzymes et des vitamines. C'est un aliment sain, léger, naturel et riche en calories. Son apport énergétique est un peu moins important que celui du sucre (316 kcals pour 100 g contre 400 kcals pour 100 g). C'est une alternative au sucre de table convenant aux personnes portant une attention particulière à leurs apports énergétiques (**Velghe, 2016**). Une cuillère à soupe du 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 (**Anonyme, 2011**). Les quantités que l'on conseille d'absorber sont,

## Les caractéristiques de miel

---

en général, de 1 à 2g de miel par kilogramme de poids (pour une personne pesant 60 kg : 60 à 120 g de miel) (**Bazoche, 2011**).

## Chapitre 3 : Les propriétés thérapeutiques du miel

### 1 .Propriétés bienfaisants générales

Les propriétés curatives du miel sont nombreuses, elles peuvent toutes fois varier en importance selon la variété de miel considéré, elles incluent :

- Action anti-inflammatoire liée à la teneur antioxydant élevée du miel (**Molan, 1999**)
- Propriété curatif de blessure en stimulant la croissance de tissu due à une variété d'hypothèse [(**Postmes et al., 1984**) ; (**Bergman et al., 1983**)]
- Barrière visqueuse contre l'invasion (**Bergman et al., 1983**)
- Action de désodorisation : une conséquence d'action antibactérienne [(**Postmes et al., 1993**) ; (**Molan, 1999**)]
- Antiseptique
- Antianémique
- Antipyrétique (stimule l'appétit)
- Apéritif (combat la fièvre)
- Antalgique (calmant la douleur)
- Dynamogénique (augmente la force et l'énergie) (**Donadieu, 1981**).

### 2. 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

## Les propriétés thérapeutiques du miel

**Tableau3:** les différentes sortes de miel et leur action[(Bazoche, 2011);(Morvan, 2013)]

Origine floral	Type de miel	Description	Action
Acacia	Mon floral	Liquide et doux de couleur ambrée, jaune or et blond	Bon édulcorant. Stimule la digestion
Aubépine	Mon floral	Crémeux	Antispasmodique. Stimule la digestion, cardiopathie. Crampe, crispations (des paupières par Exemple), contractures. Insomnies
Sarrasin	Mon floral	Foncé et corsé	Stimule la digestion
Bruyère	Mon floral	Foncé et corsé	Renforce les défenses immunitaires en cas de fatigue et de convalescence
Châtaignier	Mon floral	Foncé et corsé	Stimule la circulation du sang
Trèfle	Mon floral	Claire et doux	Calmant et relaxant
Lavande	Mon floral	Claire et aromatique	Calmant. Antiseptique respiratoire
Tilleul	Mon floral	Corsé et aromatique	Calmant. Favorise le sommeil
Pissenlit	Mon floral	Jaune doré	Nettoie le sang
Colza	Mon floral	Clair et doux	Calmant et relaxant
Ronce	Mon floral	Ambré foncé	Diurétique. Tonique
Tournesol	Mon floral	Jaune doré, doux	Améliore la circulation sanguine
Sapin	Mon floral	Foncé et corsé	Anti-anémique.diurétique. antiseptique respiratoire
Thym	Mon floral	Foncé et corsé	Stimule la digestion
Miel de Romarin	Mon floral	Claire, toujours très pâle, presque blanche	Stimulant hépatique, insuffisances digestives
Miel d'Oranger	Mon floral	Liquide, dorée et translucide	Sédatif, antispasmodique
Miel de corse	Poly floral	Ambrée claire, foncé	Antioxydant
Miel de montagne	Poly floral	Foncé, presque noir, Crémeux	Troubles hépatiques, anémie
Miel de chêne	Poly floral	brun foncé, quasiment noir Texture : liquide, crémeuse	anémie, fatigue, chez les sportifs, les personnes âgées
Miel de Maquise d'été	Poly floral	Ambrée, clair, fruité et aromatique	un antiseptique des voies respiratoires, urinaires et digestives.

### 3. Mécanisme d'action contre l'infection

Les expériences cliniques ont montré l'efficacité du miel dans le processus anti-infectieux et dans la guérison. Or nous savons que dans le cas de brûlures, les bactéries Gram + sont les premières à coloniser la plaie, issues de la flore cutanée endogène ou de l'environnement externe. Elles sont ensuite suivies par les bactéries Gram – provenant de la flore gastro-intestinale dans les jours qui suivent. Donc, que ce soit *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* ou d'autres germes, le miel lutte contre toutes sortes de micro-organismes.

La prolifération des lymphocytes B et T dans le sang ainsi que l'activation des Phagocytes est stimulée par le miel à des concentrations de 0,1%. A une concentration de 1%, le miel peut stimuler les monocytes à sécréter des cytokines, du TNF $\alpha$ , d'IL-1 et de l'IL-6 qui activent la réponse immunitaire contre l'infection (**Delphine, 2010**).

### 4. 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 de la condition d'une hémorragie interne ou un externe, il convient d'éviter la consommation de miel
- Diminution de la santé des dents [(Colongeon-Boukoba, 2014) ;(Luca, 2016)].

## Chapitre IV : Activités antimicrobiennes et mécanismes

### 1. Les propriétés antimicrobiennes du miel

L'activité antimicrobienne est multifactorielle, le miel peut donc inhiber la croissance d'un large spectre de bactéries, champignons, protozoaires et virus sans que ces derniers ne puissent développer de résistance (**Delphine, 2010**).

De nombreuses études et des recherches ont démontré et décrit l'inhibition de croissance des microorganismes par l'utilisation de miel [( **Molan, 1992**) ; (**Taormina et al.,2001**) ; (**Mundo et al.,2004**) ; (**Tumini et al.,2005**) ; (**küçük et al., 2007**) ; (**Hyungjae et al., 2008**) ; (**Adetuyi et al., 2009**) ; (**Tajik et jalali 2009**) ; (**Osho et Bello, 2010**) ; (**Halawani et Shohayeb, 2011**) ; (**Libonatti et al., 2014**)]

#### 1.1. L'activité antibactérienne

L'activité antibactérienne du miel est connue depuis le 19<sup>ème</sup> siècle, il a été signalé pour la première fois en **1892** citée par **Dustmann en 1919**. Récemment, l'activité du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques a encore augmenté l'intérêt pour l'application du miel (**Paulus et al., 2011**).

#### 1.2. L'activité antifongique

Le miel est capable d'éliminer et d'inhiber complètement la croissance des moisissures comme *Aspergillus flavus*, *Aspergillus fumigatis*, *Aspergillus Niger*, *Aspergillus parasiticus*, *Candida Albicans*, *Penicillium spp*, *Penicillium chrysogenum* (**Molan, 1992**).

**Malcolm Richardson**, professeur de mycologie médicale à l'Université de Manchester explique que Le miel a été utilisé depuis l'antiquité pour le traitement de plusieurs maladies. Mais seul un nombre limité d'étude se sont penchées sur son effet sur les champignons pathogènes.

##### 1.2.1. Activité sur les mycoses cutanées

L'essai clinique mené par **Alwaili en 2004** qui est utilisé une mixture composée à parts égales ; de miel, d'huile d'olive et de cire d'abeille, pour traiter pendant un mois trois fois par jour des patients atteints de mycoses dermiques, dues notamment à *Pythiriacis Versicolor* et à *Epidermophyton Inguinale*.

Les résultats cliniques qu'il a obtenus sont : 86% des cas pour les patients atteints par *Pythiriacis Versicolor*, et dans 79% des cas chez ceux touchés par *Epidermophyton Inguinale*. Une guérison complète a été observée dans 79% des cas

pour *Pythiriacis Versicolor* et dans 71% des cas pour *Epidermophyton Inguinale* (Clémence, 2005).

### 1.2.2. Activité sur les mycoses vaginales

Le miel a une efficacité comparable aux antifongiques classiques sur les Candidoses vaginales provoquées par *Candida Albicans* [(Obaseiki-Ebor et Afonya, 1984) ; Darvishi et al., 2015]. Pour traiter des mycoses Il faut souligner que, les concentrations en miel sont plus élevées que pour obtenir un effet antibactérien [(Clémence, 2005); (Gicquel, 2015)]

### 1.3. Les mécanismes antimicrobiens

Les mécanismes mis en jeu dans le caractère antimicrobien ne sont pas tous élucidés, mais cette activité est lié par des facteurs bien connus : la forte concentration en sucres, l'osmolarité élevée, le faible PH, ainsi la présence de plusieurs composants antimicrobiens appelés « inhibine » terme établi par Dold et al, 1937.

Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine contenue dans le miel [(Adcock. 1962) ; (Bogdanov et Pascale, 2001)].

D'autres travaux ont montré la présence d'autres facteurs « non peroxydiques » impliqués dans cette activité tels que : des flavonoïdes, des acides phénoliques, et plus récemment, le méthylglyoxal (retrouvé en particulier dans le miel de Manuka), et la défensines-1 (protéines fabriquées par les abeilles) ont été identifiés comme des composés antibactérienne importants dans le miel [(Allen et al., 1991) ; (Molan, 1992) ; (Kwakman et al., 2010) ; (Paulus et al., 2011)].

#### 1.3.1. L'osmolarité

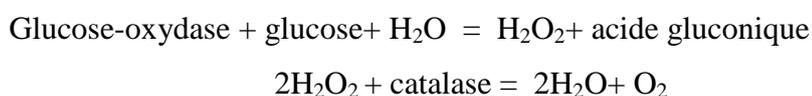
L'osmolarité élevée de miel est influencé par la forte concentration en sucres et la faible teneur en eau. La forte interaction entre les molécules de sucre et d'eau laisse donc peu des molécules d'eau libre disponible pour le développement des microorganismes. Cela provoque une forte déshydratation des germes mettant en jeu leur survie. La quantité d'eau libre pour le miel est comprise entre 0,562 et 0,62 [(Molan, 1992) ; (Molan, 2001) ; (Olaitan et al., 2007)].

### 1.3.2. Le pH acide

Le pH de miel compris entre 3, 2 et 4,5, il est donc suffisamment acide pour inhiber ou ralentir la croissance de nombreux microorganismes pathogènes [(Mandal MD, Mandal S, 2011); (Balas, 2015)].

### 1.3.3. Le Peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)

Le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) aussi appelée l'eau oxygénée constitue le principal agent antimicrobien retrouvé dans la plupart des miels. L'eau oxygénée et l'acide gluconique résultent de l'oxydation de l'eau et du glucose par la glucose-oxydase. La glucose-oxydase est une enzyme du miel sécrétée par les glandes nourricières des abeilles qui est ajoutée lors de la transformation du nectar en miel. L'eau oxygénée est réduite par la catalase également trouvée dans de nombreux miels et qui représente l'antagoniste de la glucose-oxydase, alors que celle-ci est éliminée par la catalase. Donc la concentration en peroxyde dépend de l'activité de ces deux enzymes.



Sa production est influencée par la chaleur, la lumière et la durée du stockage ; ainsi elle n'est pas active dans le miel pur mais elle inhibe que faiblement le développement bactérien, par contre, elle devient active lorsque le miel est dilué [(Molan, 1992) ; (Bogdanov et Pascale, 2001) ; (Libonatti et al., 2014) ; (Kwakman et al., 2012) ; (Jessica, 2015)].

### 1.3.4. Le système non peroxyde

Comme certains acides aromatiques ou composés volatils ainsi que des Flavonoïdes et des acides phénoliques transmis par la plante (Blanc, 2010). En effet, l'activité antimicrobienne n'est pas uniquement corrélée au taux de peroxyde. Les principaux composants ayant une activité non peroxyde sont :

## Activités antimicrobiennes et mécanismes

---

Les lysozymes (produite par les abeilles, enzyme bactériostatique présente dans le miel), La Pinocembrine (un flavonoïde présent dans le miel et produit par les abeilles), et d'autres nombreux composants chimiques comme les terpènes, l'alcool benzénique, l'acide syringique.

Contrairement aux composants à activités peroxyde, ces facteurs non peroxydiques sont beaucoup moins sensibles à la chaleur, la lumière et la durée du stockage [(**Bogdanov, 1997**) ; (**Bogdanov et Pascale, 2001**) ; (**Cushnie et Lamb, 2005**)].

### 1.3.5. La méthylglyoxal (MGO)

Est un agent de protéine-glycating, elle est trouvée dans les miels médicaux et est vraisemblablement responsable de l'activité non-péroxyde observée dans des miels [(**Badet et Quero, 2011**) ; (**Majtan, 2011**) ; (**Annie, 2013**)].

### 1.3.6. La Defensine-1

On appelle aussi la defensine de l'abeille a été trouvée dans le miel de Revamil par **Kwakman et al, 2010** et qui ont été montrée leur rôle dans la contribution vers l'activité antimicrobienne (**Annie, 2013**).

# Matériel et méthodes

### 1. Lieu d'étude

Nos expériences ont été déroulées au laboratoire de microbiologie appliquée à l'agroalimentaire au biomédicale et à l'environnement : LAMAABE

### 2. Provenance des échantillons du miel

Les échantillons de miel proviennent de différentes origines florales et géographiques, cela est illustré dans le tableau 4

**Tableau 4** : l'origine florale et géographique avec la date de récolte et la couleur de six échantillons de miel

Miel	Origine géographique	Origine florale Nom commun scientifique	Date de récolte	La couleur
M1	Tlemcen	<i>Globularia alypum</i>	2016	Jaune doré doux
M2	Tlemcen	<i>Ajuga reptans</i>	2016	Claire et doux
M3	Tlemcen	<i>Eruca Sativa</i>	2016	Blanc crémeux
M4	Azafoun Tiziouzou	<i>Lavandula officinalis</i>	Mai 2010	Ambré foncé
M5	Tlemcen	<i>Cidre (Ziziphus lotus)</i>	2016	Doré claire aromatique
M6	Tigzirt Tiziouzou	<i>Solla : Sainfoin</i> <i>Onobrychis sativa</i>	Mars 2010	Liquide doré et translucide



**Figure 4 :** différents couleurs des miels testés

### 3. Provenance des souches microbiennes

#### 3.1. Origine

Les souches fongiques utilisées sont deux souches cliniques de *Candida albicans* qui proviennent de dispositifs médicaux de CHUT « Centre Hospitalo-universitaire de Tlemcen » et qui ont été isolées et identifiées et fournies par Mm Boucherite. LABSAB (laboratoire des antibiotiques et antifongiques). Ces souches sont responsable des infections nosocomiales, et le plus souvent des infections urinaires, et qui présentent une résistance envers les ATF communément utilisés dans nos services (Urol, 2005).

La première souche de *Candida albicans* est fortement formatrice de biofilm et l'autre non formatrice de biofilm. Les biofilm de *Candida albicans* sont intrinsèquement résistants : aux thérapies antifongique conventionnelles, au système immunitaire de l'hôte et à d'autres perturbations environnementales, ce qui rend les infections basées sur le biofilm comme un défi clinique important (Nobile et Johnson, 2015).

**Tableau 5 :** les abréviations des souches fongiques utilisées

Les souches	Abréviations
<i>Candida albicans</i> bonne formatrice de biofilm	S <sub>1</sub>
<i>Candida albicans</i> non formatrice de biofilm	S <sub>2</sub>

### 3.2. Préparation des inoculums fongiques

Les suspensions fongiques ont été inoculées dans le bouillon Tryptone Soja (TSB) à  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$ , la charge fongique a été ajusté à une densité optique de 0.08 à 0.1 par le spectrophotomètre ce qui correspond à une charge d'environ  $10^8$  UFC/ml [(Eucast, 2000) ; (Sib , 2007)].

### 4. Evaluation du pouvoir antifongique

Les méthodes d'évaluations de l'activité antifongique *in vitro* des miels sont nombreuses et donnent parfois des résultats différents selon les conditions expérimentales adoptées par chaque manipulateur [(Suhr et Nielsen, 2003) ; (djenadi, 2011)].

#### 4.1. Préparation des échantillons du miel

Les échantillons du miel utilisés pour les tests antifongiques sont soit purs à 100% ou dilués à 75%, 50%, 25%, 12, 5% (v/v).les séries de dilutions ont été préparé instantanément dans l'eau physiologique stérile pour un volume finale de 4ml.

#### 4.2. Méthode des puits de diffusion

Il s'agit d'un test simple de criblage et de sensibilité, en utilisant une méthode dite de diffusion avec des puits creusé dans le milieu Mueller Hinton agar + 2% de glucose [(Perez et al., 1990) ; (Murat et al., 2004)].

Cette méthode de puits à été modifié dans notre laboratoire où on a utilisé les pipettes pasteur flambées et refroidies pour creuser des puits de 0,8mm de diamètre comportant environ 100  $\mu\text{l}$  d'échantillon de miel pur ou dilué.

Cette technique est répertoriée et décrite dans différentes publications [(Parente et al., 1995) ; (Assegid et al., 2004) ; (Melissa et al., 2004) ; (Osho et Bello, 2010)].

### 4.2.1. Le mode opératoire

Après les travaux préliminaires de **Sib** portant sur les différents milieux de culture suivants : Mueller Hinton MH, MH à 2% de glucose, Sabouraud, Sabouraud à 2% de glucose on a choisi le milieu MH à 2% de glucose.

0.1ml de chaque souche ont été déposés puis étalés en surface du milieu par écouvillonnage. Nos échantillons du miel ont été versés avec une seringue stérile pour les miels purs et par micropipettes pour les miels dilués dans les puits creusés à raison de cinq puits par boîte. L'incubation se fait à  $37 \pm 2^\circ\text{C}$  pendant 24h à 48h. Nos expériences sont réalisées en triple.

### 4.2.2. Expression des résultats

les zones d'inhibitions ont été mesurées deux fois par puits à des angles perpendiculaire ainsi le totale de ces mesures par échantillon de miel (**Jason et al., 2004**).

**Mural et al., 2007** ont déterminé les intervalles suivantes : <5mm inactive ; 5,5-9mm activité très basse ; 12-15mm activité moyenne et >15mm activité élevée.

### 4.3. Méthode de contact direct

C'est une technique de diffusion en milieu solide. Elle est utilisée en premier lieu pour l'étude du pouvoir antimicrobien des huiles essentielles, décrite par **Beylier Maurel, 1976** et modifiée par **Bendjillali, 1986**.

Cette méthode est ainsi rapportée pour les miels, peut être afin d'améliorer leur sensibilité et sa diffusion dans la gélose [(**Perruci et al., 1994**) ; (**lakhdar , 2015**)]. Les dilutions de miels sont obtenues par un mélange entre les différents miels avec le milieu de culture. Après refroidissement, on ensemence et on incube [(**Taudou ,1990**) ; (**Sib, 2007**)].

Cette technique nous donne une estimation de degré de l'inhibition de la croissance fongique : croissance Très Forte (TF) ; croissance Forte (F) ; croissance Moyenne (M) et croissance Nul (N) (**Dilnawaz et al., 1995**).

#### 4.3.1. Le mode opératoire

La liquéfaction du miel se fait au bain-Marie, entre 40 et 50°C à fin de conserver toutes ces propriétés, puis dans des tubes à essai stériles et à l'aide d'une seringue on a mélangé les concentrations variables du miel 1ml-2,5ml- 5ml avec les volumes du

milieu de culture liquéfié (MH+2% de glucose) 19ml- 17,5ml-15ml afin d'obtenir les dilutions 5%, 12,5% et 25% respectivement.

Après une homogénéisation avec le vortex jusqu'à la diffusion totale du miel, ce mélange à été coulé dans des boites de Pétri. On ensemence par écouvillonnage et l'incubation se fait à  $37\pm 2^{\circ}\text{C}$  pendant 24h à 48h.

Deux boites témoins exempt de miel sont ainsiensemencées.

Nos expériences sont réalisées en triple.

#### **4.4. La méthode de spectrophotométrie**

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

Cette méthode repose sur la préparation des dilutions de miels avec le milieu de culture liquide bouillon Muller Hinton (BMH) + 2% de glucose et la suspension fongique dont la concentration totale est de 5% (v/v). Et cela pour pouvoir quantifier l'inhibition faite par le miel.

Cette fois-ci la détermination de l'activité antimicrobienne de miel se fait soit dans des tubes à essai ou dans une microplaque de 96 puits. 200ul de chaque dilution à été déposé dans chaque puits.

On incube sous agitation de 100 rpm les tubes et sans agitation les plaques à  $37^{\circ}\text{C}$  de 24h à 48h. La lecture des résultats se fait à l'aide de spectrophotomètre pour les tubes ou avec un lecteur des microplaques qui détermine les densités optiques de chaque dilution [(Carson *et al.* 1995) ; (Parente *et al.*, 1995) ; (Torres *et al.*, 2004)].

On utilise la formule suivante pour estimer les pourcentages d'inhibition de nos échantillons du miel :

**Pourcentage de croissance= (DO de teste/DO de témoin) x 100 (Thomas *et al.*, 2005).**

NB : Deux microplaques pour les deux souches de *Candida albicans* et les six échantillons du miel.

### 5. la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

la CMI est définie comme étant la concentration la plus faible d'un agent antimicrobien qui inhibe la croissance visible d'un micro-organisme après incubation, et la CMBC comme la plus faible concentration d'antifongique qui tue 99,9% des micro-organismes après sous-culture sur milieu sans antifongique[(**Cosentino et al.,1999**) ; (**Bellerbeck, 2000**) ; (**Andrews, 2001**)].

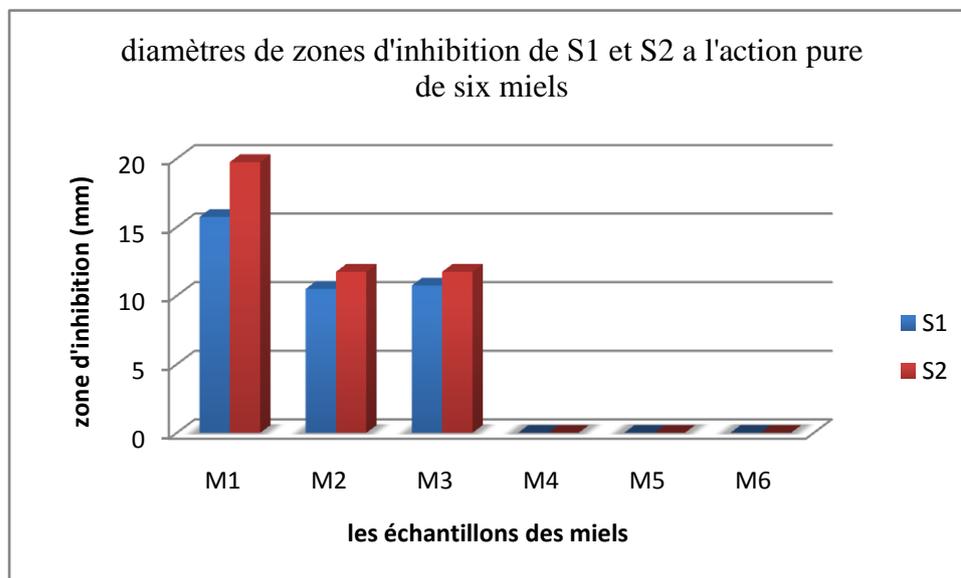
La détermination de la CMI se fait par deux techniques sur milieu solide : technique de puits de diffusion et de contact directe sur milieu MH+ 2% glucose et sur milieu liquide par la méthode de spectrophotométrie : MHB +2% de glucose.

## Résultats et discussion

### 1. Le pouvoir antifongique des miels

#### 1.1. Méthode de puits de diffusion

Les résultats de zones d'inhibition produites par nos échantillons du miel sont illustrés dans la figure 1



**Figure 5 :** Mesure de l'activité antifongique de six miels purs vis-à-vis au *Candida albicans*

Le miel pur de *Globularia alypum* donne une activité élevée avec les deux souches de *Candida albicans* avec des diamètres de 15 à 20mm.

Les miels purs *Ajuga reptans* et *Eruca Sativa* donne une activité moyenne avec les deux souches de *Candida* avec les zones allant de 11 à 12mm.

Les autres miels *Lavandula officinalis*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* sont inactives ne donnant aucune zone d'inhibition envers nos souches testées.

Tous les miels sont avérés inactifs à des concentrations allant de 75% à 12,5%.

On comparant les diamètres de zone d'inhibition, la souche S<sub>2</sub> est plus sensible à l'action des miels purs que la souche S<sub>1</sub>.

La méthode de puits de diffusion fournit des résultats qualitatifs interprétables, et la quantification de l'inhibition de la croissance microbienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibition [(Dorman et Deans, 2000) ; (Jason et al., 2004)].

Nos souches de *candida albicans* S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub> testées par cette méthode sont sensibles à l'action du miel pur des échantillons : *Globularia alypum*, *Ajuga reptans*, *Eruca Sativa* avec des zones d'inhibition allant de 12 à 20mm de diamètre.

Des résultats similaires ont été rapportés dans l'étude de **Nadir, 2015** à l'université d'Oran laboratoire de Bioconversion, Génie Microbiologie et Sécurité Sanitaire (LBGMSS) où la levure *Candida albicans* est révélée sensible à l'action de 34 échantillon de miel Algérien pur (100%) avec des zones d'inhibition allant de 11 à 15mm de diamètre, mais cette fois ci par la méthode de disque de diffusion qui a le même principe de la méthode de puits de diffusion.

Les résultats de **Sib, 2007** montrent que la levure *candida albicans* ATCC10231 testé par cette méthode est révélé sensible à l'action de 35% du miel avec un intervalle de 13 à 40mm, en peut constater que la souche de référence est plus sensible que nos souches cliniques.

Les travaux de **Al-Waili Ns et al., 2005** montrent une inhibition de souche de *Candida albicans* dans les milieux solides à concentration de 30 à 100%. Autre étude prouve aussi la sensibilité de cette levure (**Theunissen et al., 2001**).

Par contre, concernant les deux souches on a une absence totale des zones d'inhibition avec tous les miels à des concentrations allant de 75% à 12,5%, et avec les trois échantillons *Lavandula dentata*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* à 100%.

L'étude de **Merah et al., 2010** sur trois échantillons de miel de l'Algérien et un échantillon commerciale d'Arabie Saoudite testé sur *Candida albicans* montre des résultats comparables à nos résultats : la levure résiste à l'action des miels, mais elle est faiblement sensible à l'action de miel de la zone géographique de Tizi-Ouzou avec des zones d'inhibition allant de 9 à 12mm .

On peut expliquer l'absence de l'inhibition par cette méthode de puits par : l'absence du contact directe entre les miels et les inoculums fongique, les concentrations du miel sont trop faible pour exercer une activité antifongique et l'inoculum était très important. cette technique peut être peu fiable dans certaines situations due à la subjectivité liée aux détermination visuelles [(**Swenson et al., 1989**) ; (**Piliouras et al., 2002**)].

L'absence de l'inhibition antifongique par les différentes concentrations des miels testées, nous a mené à réaliser une autre méthode du contacte directe.

### 1.2. La méthode de contact directe :

Cette technique permet de voir l'effet inhibiteur de la croissance fongique par nos échantillons de miel s'il existe.

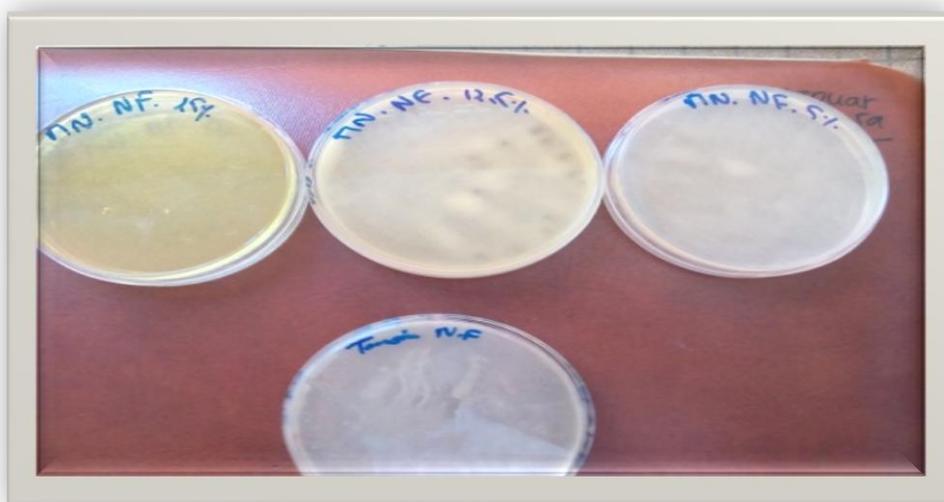
**Tableau 6** : l'évaluation de la croissance fongique des deux souches S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub> en présence de miel par la méthode de contact directe

	S <sub>1</sub>			S <sub>2</sub>		
	5%	12,5%	25%	5%	12,5%	25%
M <sub>1</sub>	N	N	N	F	M	N
M <sub>2</sub>	TF	M	N	M	M	N
M <sub>3</sub>	N	N	N	N	N	N
M <sub>4</sub>	TF	TF	M	F	F	M
M <sub>5</sub>	M	M	N	M	M	N
M <sub>6</sub>	TF	M	N	F	M	N

(TF) croissance très Forte ; (F) croissance Forte ; (M) croissance Moyenne ; (N) croissance Nulle



**Figure 6 :** la croissance de *Candida albicans* Bonne formatrice de biofilm en présence du miel *Onobrychis sativa* et en absence (*Témoin*)



**Figure 7 :** la croissance de *Candida albicans* non formatrice de biofilm en présence du miel d'*Ajuga reptans* et en absence (*Témoin*)

Nos miels présentent un effet antifongique très intéressant avec les concentrations 5%, 12,5% et 25%, sauf le miel de *Lvandula officinalis* qui donne une activité moyenne.

Les miels *Globularia alypum*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* donnent une inhibition de croissance fongique totale à 25%.

Les miels *Ajuga reptans*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* donnent une inhibition de croissance fongique moyenne à 12,5%.

Les miels *Lavandula officinalis* et *Globularia alypum* donnent une absence totale d'inhibition de la croissance fongique à 5%.

La méthode de contact directe donne des résultats positifs très intéressants avec la concentration 25% (V/V) des échantillons *Ajuga reptans*, *Globularia alypum* et *Eruca sativa*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* envers les deux souches où l'inhibition est complète avec absence de croissance fongique, avec la concentration 12,5% des miels *Ajuga reptans*, *Ziziphus lotus* et *Onobrychis sativa* l'inhibition de la croissance fongique est moyenne, et avec la concentration 5% des miels *Ajuga reptans* et *Onobrychis sativa* l'inhibition de la croissance fongique est absente.

L'effet inhibiteur de *Lavandula officinalis* est moins important que les autres miels où il y a présente une inhibition moyenne des deux souches à 25% et l'absence totale d'inhibition à 12,5% et 5%.

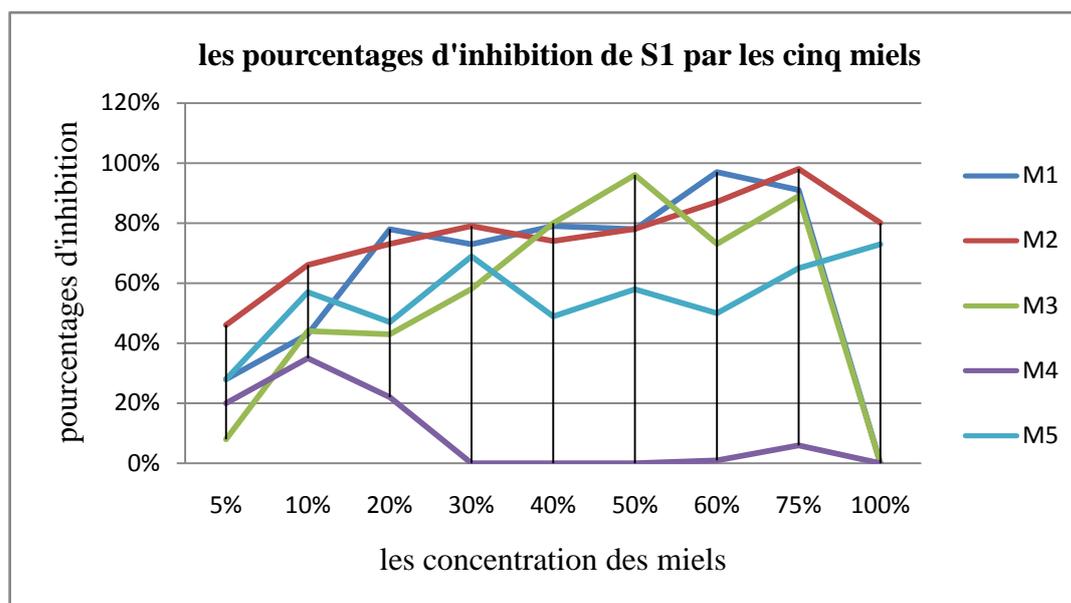
l'étude de **Dilnawaz et al., 1995** sur dix échantillon de miel de Pakistan testées sur *Candida albicans* présente des résultats comparable à nos résultats dont l'inhibition de *Candida* est complète de 50% de miels testés .

Les résultats d'**Al-Waili, 2005** sont proches de nos résultats avec des milieux de culture et concentrations différentes, car ils ont trouvé une inhibition complète de la croissance de *Candida albicans* par la méthode de contact directe sur le milieu Sabouraud avec 66% de miel, et dans le milieu Sabouraud glucosé contenant du miel à des concentrations de 33 et 50%.

D'autres travaux réalisés en Ethiopie montrent une inhibition de *Candida albicans* à des concentrations de 2,5% ; 5%, 7,5% et 10% des miels testés (**Andargarchew et al., 2004**). La souche *Candida albicans* ATCC 10231 c'est avéré résistante à l'action de trois miels Algériens à des concentrations 0.5, 1, 1.5 et 2 (**Sib, 2007**).

### 1.3. La méthode de spectrophotométrie

Les résultats obtenus par cette méthode montrent les différents pourcentages d'inhibition des miels testés envers les deux souches de *Candida*



**Figure 8 :** mesure de l'activité antifongique de cinq miels vis-à-vis au *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm



**Figure 9 :** la microplaque de six miels testés vis-à-vis au *Candida albicans*

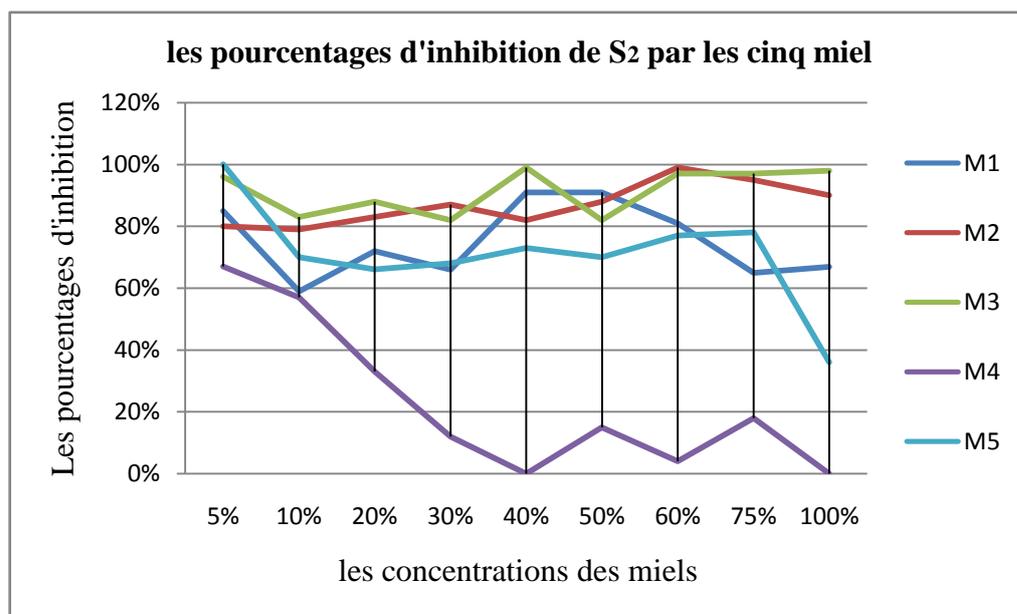
D'après ces résultats on constate que la souche  $S_1$  est fortement sensible aux échantillons  $M_1$ ,  $M_2$ ,  $M_3$ , à partir de la concentration 40% à 75% (v/v) et au  $M_6$  à la concentration 10% (v/v).

On remarque que les échantillons  $M_1$ ,  $M_3$  montrent une forte activité inhibitrice fongistatique à toutes les concentrations testées sauf à 100% où il y avait

pas d'inhibition, dont le pourcentage d'inhibition varie de 28% à 97% pour M<sub>1</sub> et de 8% à 98% pour M<sub>3</sub>. Les pourcentages d'inhibitions sont en ordre croissant de la concentration 20 à 75% (v/v).

L'échantillon M<sub>2</sub> et M<sub>5</sub> ont une très forte activité inhibitrice fongistatique à toutes les concentrations testées, par un pourcentage allant de 46% à 98% pour M<sub>2</sub> et de 28% à 73% pour M<sub>5</sub>. Ainsi l'échantillon M<sub>6</sub> présente un effet inhibiteur très important qui est inversement proportionnel à la concentration du miel, à 10% de concentration on a 82% d'inhibition, à 75% et 100% de concentration 52% et 35% de pourcentage d'inhibition respectivement.

Le miel M<sub>4</sub> est dévoile une activité fongistatique très faible avec pourcentages d'inhibition allant de 6% à 35% aux concentrations < 30% et avec absence totale d'inhibition aux concentrations > 40%.



**Figure10** : mesure de l'activité antifongique de cinq miels vis-à-vis au *Candida albicans* non formatrice de biofilm

D'après ces résultats on peut constater que la souche S<sub>2</sub> est fortement sensible aux M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> et M<sub>5</sub> envers toutes les concentrations testées.

On remarque que les échantillons M<sub>1</sub>, M<sub>2</sub>, M<sub>3</sub> et M<sub>5</sub> ont une très forte activité inhibitrice fongistatique à toutes les concentrations testées par un pourcentage d'inhibition allant de 36% à 98%.

Cette inhibition est fongicide avec le miel M<sub>2</sub> à la concentration 60% (v/v), avec M<sub>3</sub> à la concentration 40% (v/v) et avec M<sub>5</sub> a la concentration 5% (v/v).

Pour l'échantillon M<sub>4</sub> en observe que l'activité inhibitrice est fongistatique de la concentration 5%, jusqu'à 75%(v/v) à une fourchette de 4% à 67%, et une absence totale d'inhibition à 40% et 100% (v/v) de concentration.

Le miel M<sub>6</sub> présente une inhibition fongistatique a 20%, 75%, et 100% (v/v) avec un pourcentage de 52%, 46% ,42% respectivement.

La méthode de spectrophotométrie C'est une technique de diffusion en milieu liquide très sensible, simple, rapide et plus favorable à l'analyse statistique ; elle permet la détermination du pourcentage de CMI. (**lakhdar, 2015**). Cette technique présente plusieurs avantages : réduire la manipulation et faciliter l'automatisation (**Thomas et al., 2005**). **Parente et al., 1995** écrit que l'inhibition de la croissance microbienne peut être déterminée par la simple mesure de densité optique .

La levure de *candida albicans* bonne formatrice de biofilm est fortement sensible à l'action des échantillons *Globularia alypum*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, à des concentrations supérieurs à 40% (v/v) et au M<sub>6</sub> à la concentration 10% (v/v), et l'activité inhibitrice de cette souche par les six miels aux autres concentrations est fongistatique

La levure de *candida albicans* non formatrice de biofilm est fortement sensible à l'action des échantillons *Globularia alypum*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* et *Ziziphus lotus* avec toutes les concentrations testées, et l'activité inhibitrice de cette souche est fongicide par *Ajuga reptans* à la concentration 60%(v/v), par *Eruca sativa* à 40%(v/v) et par *Ziziphus lotus* à 5%(v/v).

Les autres échantillons de miel sont estiment un effet inhibiteur fongistatique avec tous les concentrations testées.

Nos résultats étaient en accord avec l'étude de **Theunissen et al., 2001** que le miel de *Wabessie* est devenu inhibiteur pour *Candida albicans* à une concentration de 20%(v/v) ou plus haut. De même dans l'étude de **Dolezal, Dolezal et Medrela-Kuder, 1988** ont constaté qu'une basse concentration en miel de 1,6%(v/v) pourrait provoquer l'inhibition complète de *Candida albicans* ; ainsi l'étude de **Revathy et Banerji, 1980** qui ont été constaté que une concentration de 100%(v/v) de miel exerce un effet fongicide sur *Candida albicans*.

Et d'autre étude convenable à notre étude mais a des concentrations différentes, **Cavanagh et al., 1970** ont démontré que la concentration 100%(v/v) de miel a été exercé un effet fongicide sur *Candida albicans*, alors qu'une concentration de 50%(v/v) était nécessaire pour tenter l'action à peu près identique dans les espèces de *Candida*.

En outre, des travaux convenables à nos résultats sont les travaux de **Banaeian-Borujeni et al., 2013** ont montré que l'effet inhibiteur du miel sur *Candida* était considérable 20 à 60% de miel, et intermédiaire à 95%.

### 2. La détermination de la concentration minimale inhibitrice

On détermine la CMI de six miels testés par les trois méthodes

#### 2.1. Par la méthode des puits de diffusion

La CMI est  $> 75\%$  pour les trois échantillons du miel *Globularia alypum*, *Ajuga reptans* et *Eruca sativa* envers les deux souches. Ces résultats sont en accord avec les résultats de **Sib, 2007** qu'elle a trouvés la CMI de *Candida albicans* de référence est  $> 75\%$

#### 2.2. Par la méthode de contact directe

Les valeurs de la CMI des deux levures par la méthode de contact directe sont variable compris entre  $\leq 5\%$ , 12,5% et à 25%. (Tableau 7).

**Tableau7** : Les concentrations minimales inhibitrices de  $S_1$  et  $S_2$  par les six miels testées par la méthode de contact directe

	CMI	
	$S_1$	$S_2$
$M_1$	$< 5\%$	12,5%
$M_2$	12,5%	5%
$M_3$	$<5\%$	$<5\%$
$M_4$	25%	25%
$M_5$	5%	5%

M <sub>6</sub>	12,5%	12,5%
----------------	-------	-------

la CMI de la souche S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub> par l'échantillon *Eruca sativa* est < 5% et par l'échantillon *Lavandula officinalis* est à 25%, par le miel *Ziziphus lotus* est à 5% et par *Onobrychis sativa* est à 12,5%.

Le miel *Globularia alypum* a une CMI < 5% envers la souche S<sub>1</sub> et 12,5% envers la souche S<sub>2</sub>. Par contre le miel *Ajuga reptans* a une CMI de 12,5% envers S<sub>1</sub>, et 5% envers S<sub>2</sub>.

Des valeurs de CMI trouvés par **Sib, 2007** sont proches à nos valeurs mais d'autres souches fongiques compris entre 20 à 22%, 22% à 24% et de 23% à 25%, et pour la souche de *Candida albicans* de référence elle a trouvé la valeur de la CMI à 100% ce résultat s'oppose avec nos valeurs, ainsi l'étude de **Jeddar et al, 1985** qui a trouvé l'effet inhibiteur du miel à la dilution 40%.

### 2.3. Par la méthode de spectrophotométrie

La CMI<sub>100</sub> de S<sub>1</sub> est inférieure à 50%, la CMI<sub>50</sub> varie de 5 à 10% et la CMI<sub>0</sub> elle est de 5% avec 50% des miels et de 30 à 100% avec le reste. ( tableau 8).

**Tableau 8 :** les valeurs de la concentration minimale inhibitrice par les six miels testés sur *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm

Les miels	S <sub>1</sub>		
	CMI <sub>0</sub>	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>100</sub>
M <sub>1</sub>	100%	10%	20%
M <sub>2</sub>	-	5%	30%
M <sub>3</sub>	5%	10%	20%
M <sub>4</sub>	30%	-	-
M <sub>5</sub>	<5%	10%	≥ 50%

M <sub>6</sub>	5%	75%	10%
----------------	----	-----	-----

CMI<sub>0</sub> : signifier la concentration minimale non inhibitrice de la population microbienne

CMI<sub>50</sub> : signifier la concentration minimale inhibitrice de la moitié de la population microbienne

CMI<sub>100</sub> : signifier la concentration minimale inhibitrice de toute la population microbienne

**Tableau 9** : les valeurs de la concentration minimale inhibitrice par les six miels testées sur *Candida albicans* non formatrice de biofilm

Les miels	S <sub>2</sub>		
	CMI <sub>0</sub>	CMI <sub>50</sub>	CMI <sub>100</sub>
M <sub>1</sub>	-	-	5%
M <sub>2</sub>	-	-	≤ 10%
M <sub>3</sub>	-	-	5%
M <sub>4</sub>	40%	5%	-
M <sub>5</sub>	100%	30%	5%
M <sub>6</sub>	5%	20%	-

La CMI<sub>100</sub> de nos miels actifs donnant un effet fongicide se situe entre 5 à 10% les plus basses concentrations. La CMI<sub>50</sub> est variable de 5% à 30%, et la CMI<sub>0</sub> est très variable avec une large fourchette de 5 à 100%.

Les résultats de **Thomas et al., 2005** sont proches de nos résultats, ils ont trouvés que la CMI<sub>0</sub> de *Candida albicans* est 13,5%, la CMI<sub>50</sub> est 25,10% et la CMI<sub>100</sub> est 40%.

**Tableau10** : la concentration minimale bactéricide *Candida albicans* non formatrice de biofilm

Les miels	CMBC
M2	60%
M3	40%
M5	5%

Dans la littérature il ya des travaux similaires qui ont trouvés des CMB avec d'autre types de miels d'Afrique du Sud aux concentrations  $\geq 2,5\%$  à  $> 30\%$  (**Theunissen et al., 2001**).

D'après les résultats de l'évaluation de l'activité antifongique on peut constater ce qui suit :

- les deux souches fongiques testées sont sensibles à l'action inhibitrice des miels analysés avec des différences d'un type à un autre et d'une souche à une autre, ce qui indique son large spectre d'action antifongique.

-l'action du miel naturel sur les microorganismes dépend, d'une part de la structure de la paroi de la cellule cible (**French et al., 2005**) ce qui dit **Ashi, 2000** que *Candida albicans* présente une sensibilité moins importance à celle des bactéries parce que la levure est une cellule eucaryotique et les bactéries sont des cellules procaryotiques, ainsi l'étude de **Ceyhan et al., 2001** rapporte que les champignons sont en générale moins sensibles que les bactéries à l'action du miel ; et d'autre part de la composition du miel lui-même qui dépend à son tour de nombreux facteurs, tels que : la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie [(**Jeanprost, 1979**) ; (**Voidarou et al., 2011**)], climat de l'environnement, l'origine florale de l'alimentation (**Biri , 1999**) ; les conditions et la durée de conservation, telle que la température et la lumière qui conditionnent l'activité et l'efficacité des enzymes de miel [(**Caillas, 1974**) ; (**Chauhan et al., 2010**)].

- le miel est considéré comme un milieu défavorable au développement des micro-organismes grâce à sa composition. Tout d'abord, cette solution concentrée de sucre retire après absorption l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes

(Bogdanov, 1997 ; Morais et al., 2011). l'acidité (pH) et H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> des miels inhibe ainsi les micro-organismes [(Torres et al., 2004) ; (Mandal et al., 2010)].

Selon Kerkvliet, (1996) ; Bogdanov et Pascale, (2001) ; Al-habsi et Niranjana, (2012) l'activité antimicrobienne du miel peut être expliquée partiellement par son contenu important en enzyme, dont le glucose-oxydase qui assure la transformation du glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Cette enzyme reste active tous le temps de la production de miel c'est-à-dire dans le miel non mure en trouve (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>).

Dans le miel mure l'enzyme n'est plus active mais reste intacte donc la production d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> sera bloquée, donc le miel mure contient des faibles quantités d'H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (Bogdanov et Pascale, 2001). Mais si le miel est dilué l'enzyme reprend son activité [(Manyi-loh et al., 2010) ; (Kwakman et Zaat, 2012)]. Cette idée à été annoncée depuis plus de 14 siècles par notre prophète \*MOHAMED\* qui insiste sur « boire du miel dilué » ou le verset annonce « une liqueur de tous les couleurs puis fait guérir les gents ». Cela est convenable avec nos résultats, nos miels de la récolte 2016 (*Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Ziziphus lotus*) sont plus actifs que les miels de la récolte 2010 et ces derniers redeviennent plus actifs après dilution.

En revanche, la présence dans le miel mure d'autres inhibine non peroxydes à été prouvée tels que : les flavonoïdes, les lysozymes et des acides aromatiques...etc. (Escuredo et al., 2012). Le rôle de ces inhibine est très important car elles sont dans une large mesure ; insensibles à la lumière, à la chaleur et demeurent intactes après stockage du miel pour de longues périodes [(Gonnet et Lavie, 1960) ; (Bogdanov, 1984) ; (Roth et al., 1986)].

# **Conclusion**

Ces résultats montrent clairement que nos miels sont dotés d'un large spectre d'activité inhibitrice sur les souches fongique testées, cet effet antifongique à été constaté pour la plupart des échantillons testés avec une certaine variabilité d'un échantillon à un autre et d'une souche à une autre.

La souche de *Candida albicans* non formatrice de biofilm est la plus sensible à l'effet de six échantillons de miel que *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm.

Les miels *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* , *Ziziphus lotus* sont les plus efficace envers *Candida albicans* non formatrice de biofilm car ils ont révélés une activité fongicide de cette levure, et *Globularia alypum*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* et *Onobrychis sativa* sont les plus efficace envers *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm, car ils ont dévoilés une meilleur activité fongistatique.

L'effet antifongique de nos échantillons de miel est plus important avec les échantillons dilués, il augmente avec les dilutions successives.

Donc, on peut déduire que nos miels sont de bonne qualité thérapeutique contre les souches de *Candida*.

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

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

Il serait judicieux de compléter ce travail par :

- La recherche d'autres variétés de miels à activité antifongique.
- faire des applications cliniques de nos échantillons (essais in vivo).
- Tester l'efficacité de ces miels contres les souches formatrice de biofilm.

# Références Bibliographiques

## References bibliographiques

---

- 1-Abousseddik, B. (2008). «Les miracles du miel. Merveilles Coraniques». Texte parus dans *El Moudjahid*.
- 2-Adcock, D. (1962). «The effect of catalase on the inhibine and peroxide values of various honeys». *J.Apicult.Res*, vol.1, p.38-40.
- 3-Adetuyi, F.O. Ibrahim, T.A. Jude-Ojei Ogundahunsi, G.A. (2009). «Total phenol, tocopherol and antibacterial quality of honey *Apis mellifera* sold in Owo community, Ondo State, Negeria. *Afr. J. Biotechnol*, vol. 8, p. 1305-1309.
- 4-Agathe, M. (2016). « Le miel serait un super antifongique». Top santé. En ligne <<https://www.topsante.com> > Médecine > Accidents et traumatismes > Blessures >. Consulté le 17 mai 2017.
- 5 -AI WAILI, N.S. (2004). «Topical honey application vs. acyclovir for the treatment of recurrent herpes simplex lesions». *Medical Science Monitor*, vol.10, n°8, p.94-98.
- 6-Alexandre, G. (2010). «Le miel de Manuka, un puissant agent antibactérien». Toute la diététique. < En ligne [www.i-dietetique.com](http://www.i-dietetique.com) >.
- 7-Al-Habsi, N.A. Niranjan, K. (2012). « Effect of high hydrostatic pressure on antimicrobial activity and quality of Manuka honey». *Food chemistry*, vol. 135, p. 1448-1454.
- 8-Ali-Raessi, F, M. Aslani, J. Raessi, N. Ali-Akbar, H.K.Z. Raessi, F. (2013). «Honey plus coffee versus systemic steroid in the treatment of persistent post-infections cough: a randomised controlled trial». *Primary Care Respiratory*, vol.22, n°3, p.325-330. Pubmed
- 9-Allen, K.L. Molan, P.C. Reid,G.M. (1991). «A survey of antibacterial activity of some New Zealand honeys». *J Pharm.Pharmacol*, vol.43, p.817-822.
- 10-Al-Mamary, M. Al-Meeria , Al-Habori , M. (2002). «Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey». *Nutrition Research*, vol. 22, p. 1041-1047.

## References bibliographiques

---

- 11-Al-Waili, N.S. (2005). «Le mélange de miel, de cire d'abeille et d'huile d'olive inhibe la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Candida albicans*». *Arch Med Res*, vol. 36, p. 10-3. Pubmed.
- 12-Andargarchew, M. Belay, T. Derby, F. (2004). «In vitro assessment of the antimicrobial potential of honey on common pathogens». *Ethiop.J.Health Dev*, vol.18, n°2, p. 107-111.
- 13-Andrews, J. M. (2001). «Determination of minimum inhibitory concentrations». *J Antimicrob Chemother*, vol.48, n° 1, p. 5-16.
- 14-Annie Knight. (2013). «The therapeutic effects of honey». *The Plymouth student scientist*, vol.6, n° 1, p.376-385.
- 15-Anonyme «Les propriétés médicinales du miel». 2013. En ligne <[www.ndarinfo.com](http://www.ndarinfo.com)>
- 16- Anonyme Miel et fleur. «L'arome du miel». E-moniste. En ligne < [miel-et-fleur.e-monsite.com](http://miel-et-fleur.e-monsite.com)>. Consulté le 15 mai 2017.
- 17- Anonyme, [weynshoning.be/Fr/abeilles-et-miel/classification-de-miels](http://weynshoning.be/Fr/abeilles-et-miel/classification-de-miels)
- 18- Anonyme, « les bienfaits du miel ». En ligne < <https://www.anastore.com>>
- 19-Assegid, G. Erik, S. Lapre, I. (2004). «Microcalometric investigation on the antimicrobial activity of honey of the stingless bee *Trigona* spp and comparison of some parameters with those obtained with standard methods». *Thermochimica Acta*, vol. 415, n°1-2, p. 99-106.
- 20-Azeredo, L. Da .C. Azeredo, M .A.A. Souza, S.R. Dutra, V.M.L. (2003). « Protein contents and physicochemical properties in honey samples of *Apis mellifera* of different floral origins». *Food Chemistry*, vol. 80, p. 249-254.
- 21-Badet, C. Quero, F. (2011). « in vitro The effect of Manuka honeys on growth and adherence of oral bacteria». *Anaerobe*, vo.17, p. 19-22.

## References bibliographiques

---

22-Balas, F. (2015). «Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale revue de la littérature». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en médecine. Université Nice.

23-Banaeian-Borujeni, Sh. Mobini, G.R. Pourgheysari, B. Validi, M. (2013).«Comparison of the effect of honey and miconazole against *Candida albicans* in vitro». *Advanced biomedical Research*, vol. 2, p.1- 57.

24-Bardy, J. (2008). «A SYSTEMATIC REVIEW OF HONEY USES AND ITS POTENTIAL VALUE WITHIN ONCOLOGY CARE». *J.clin. Nurs*, vol. 19, n°26, p.61-64. Pumed.

25-Bazoche,M.(2011). «Les produits de la ruches». Edition GFA. Paris, 159 p.

26-Bellerbeck, V.G. (2000). «Activité antifongique de l'huile essentielle de *Cymbopogon Nardus*(L) W. WATSON sur *Aspergillus niger*. Evaluation d'un bioréacteur pour l'étude de l'effet inhibiteur de substances volatiles en phase vapeur». Laboratoire de bactériologie-virologie et microbiologie industrielle et UPRES-EA3030, Pharmacophore-Redox. Faculté de pharmacie de Toulouse. France.

27-Ben Zian, A. Yousfi, I. (2001). «Contribution à l'étude ethnobotanique des plantes médicinales dans la région de Djelfa: Activité antibactérienne des huiles essentielles des feuilles de *Pistacia atlantica Desf*». Mémoire pour l'obtention du diplôme d'ingénieur d'état en agropastoralisme. Centre Universitaire Ziane Achour Djelfa. Algérie

28-Bendjillali, B. Tantaoui-el araki,A. Ismaili Alaoui,M. Ayadia,A.(1986). «Méthode d'étude des propriétés antiseptiques des huiles essentielles par contact direct en milieu gélosé». *Plantes médicinales et phytothérapie*, vol.20, p. 155-167.

29-Bergman, A. Yanai, J. Weiss, J. Bell, D. David, M.P. (1983). «Accélération de blessure guérissant par application topique de miel: Un modèle animal». *Le journal Américain de la chirurgie*, vol. 45, p. 374-376.

30-Bessas, A. (2008). «Dosage biochimique des composés phénoliques dans les dattes et le miel récoltés dans le Sud Algérien». Mémoire d'obtention de diplôme d'ingénieur d'état en biologie. Université Djilali Liabes-Sidi Bel Abbes, Algérie.

## References bibliographiques

---

- 31-Beylier,M.(1976).« Bacteriostatic activity of some Australian essential oils perfumer and flavoïdes». Vol 4, p.23-34.
- 32-Biri, M. (1999). «Le grand livre des abeilles. L'apiculture moderne». Edition Vecchi S.A Paris, 260 P.
- 33-Blanc, M. (2010). «Propriétés et usage médical des produits de la ruche». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Limoges.
- 34-Bogdanov S. (1984).« Characterisation of antibacterial substances in honey». *Lebensam.-Wiss.U.Technol*, vol.17, p. 74-76.
- 35-Bogdanov, S. (1997). «Nature and origin of the antibacterial Substances in honey» . *Lebensmittel Wissenhard und Technology*, vol.30, p. 748- 753.
- 36 -Bogdanov, S. (1997).« Nature and Origin of the Antibacterial Substances in Honey». *Lebensm.-Wiss. u.-Technol*, vol. 30, p. 748–753.
- 37-Bogdanov,S. Pascale,B. (2001).« Propriétés antibiotiques naturelles du miel». *Centre Suisse de recherche Apicole*, p. 1-8.
- 38-Bogdanov,S. Tomislav, J. Sieber, R. Gallmann,P. (2008). «Honey for Nutrition and Health». *American Journal of the College of Nutrition*, vol. 27, p. 677-689.
- 39-Bogdanov. S, Lullmann. C, Martin. P, (2001). « Qualité du miel et norme international relative au miel ». Rapport de la commission international du miel. *Abeille Cie*, vol. 4, n° 71, p.12.
- 40-Boulianne, A. (2011).« Le miel artificiel le miel et les abeilles»-E-moniste. En ligne < le-miel-et-les-abeilles.e-monsite.com>, consulté le 27 janvier 2017.
- 41-Bourneck, R. Gonnet, M. (1980). « Hygiène des produits de la ruche ». in l'abeille. Toulouse information technique des services vétérinaires. ChapitreV, p. 91-95.
- 42-Bradbear, N. (2010). « Le rôle des abeilles dans le développement rural (Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles)». *Organisation des Nation Unies pour l'alimentation et l'agriculture*. Rome. 176 p.

## References bibliographiques

---

- 43-Caillas, A. (1974). «La propolis, in l'Abeille de France et l'Apiculture», p. 97-98.
- 44 -Cari. (2011). «Les paramètres physico-chimiques du miel. L'apiculture Wallonne et Bruxelloise». En ligne < [www.cari.be/article/les-parametres-physico-chimiques](http://www.cari.be/article/les-parametres-physico-chimiques)>.
- 45-Carson, C. F. Hammer, K. A. Riley, T.V. (1995). «Broth micro-dilution method for determining the susceptibility of *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* to the essential oil of *Melaleuca alternifolia* (tea tree oil) ». *Microbios*, vol. 82, n°332, p. 181-5.
- 46-Cavanagh, T. Durand, C. Taliercio, Y.P. (1970). «Contribution à l'étude du microbisme et de l'hygiène des miels du commerce». *Recueil de Médecine Vétérinaire*, vol. 146, p. 1471- 92.
- 47-Cavelier, E. (2013). «Le miel : composition et techniques de production». Mémoire d'obtention du diplôme de master. Université Sorbonne Nouvelle, Paris.
- 48-Ceyhan, N. Ugur, A. (2001).« Investigation of in vitro antimicrobial activity of honey». *Riv Biol*, vol.94, n°2, p.363-371.
- 49-Chauhan, A. Pandey, V. Chacko, K.M. Khandal, R.K. (2010). «Antibacterial activity of Raw and processed honey». *Electronic journal of Biolog*, vol. 5, n°3, p.58-66.
- 50-Chouia, A. (2014). «Analyse pollinique et caractéristique des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain Zaatou». Mémoire d'obtention de Magistère en Biologie. Université de Biskra.
- 51-Claude V, Jean-Christophe D. (2003). «Histoire et emplois du miel, de l'hydromel et des produits de la ruche». *Revue d'histoire de la pharmacie*. Volume 91, n°337, p.7-20.
- 52-Clémence, H. (2005). « Le miel: de la source a la thérapeutique». Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Henri-Poincaré-Nancy.
- 53-Codex Alimentarius. (2001). »Codex Standard for Honey». *Codex Stan*, 12, p. 1-8.

## References bibliographiques

---

- 54-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)>.
- 55-Cosentino, S. Tuberoso, C.I. Pisano, B. Satta , M. Mascia ,V. Arzedi, E. Palmas ,F.( 1999). «In vitro antimicrobial activity and chemical composition of *Sardinian Thymus* essential oils». *Lett Appl Microbiol*, vol. 29, n°2, p. 130-5.
- 58-Cushnie, T. Lamb,A. (2005).«Antimicrobial activity of flavonoids». *Int J Antimicrob Agents*, vol.26, p. 343-346.
- 59-Dailly,H. (2008). «Cristallisation du miel». *Abeille 8 Cie*, vol.3, n°124, p.24-28.
- 60-Darvishi , M. Jahdi,F. Hamzegardeshi,Z. Goodarzi ,S. Vahedi ,M. ( 2015). «The Comparison of Vaginal Cream of Mixing Yogurt, Honey and Clotrimazole on Symptoms of Vaginal Candidiasis» .*Global Journal of Health Science*, Vol. 7, n° 6, P. 108-116.
- 61-Delphine, I. (2010). « Le miel et ses propriétés thérapeutiques». Thèse du doctorat.
- 62-Desrochers, A. Schmidt, A.V. (2013). «Miel l'art des abeilles, l'or de la ruche». Edition de l'homme. Canada, 189 p.
- 63-Dilnawaz,Sh. Shams-Uz-Zaman,S. BaQir-NaQvi,M. Rafi-Sheikh. Ghulam, A. (1995). «Studies on the antimicrobial activity of honey». *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol.8, n°1, p.51-62.
- 64-Djenadi,F.(2011). «Contribution à l'étude de l'activité antimicrobienne du genévrier (*Juniperus phoenicea*): essai des huiles essentielles et composés phénolique». Mémoire d'obtention du diplôme de Master en biologie. Université A Mira de Bejaïa. Algérie.
- 66-Dold, H. Du. Dh et al., (1937). «Nachweis antibakterieller, hitz-und lichtempfindlicher Hemmungsstoffe (inhibine) im Naturhonig (Blutenhonig)». *Zeitschrift fur Hygiene Und Infektionskrankheiten*, vol. 120, p.155-167

## References bibliographiques

---

67. Dolezal, M. Dolezal, M. Medrela, Kuder, E. (1988). «Research on inhibine effect of herb-honey». *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, vol. 30, p. 9-16.
- 68-DOMEREGO R. (2002). «Santé, bien-être, Apithérapie. In Le traité rustica de l'apiculture». Paris, Rustica, p. 390-416.
- 69-Donadieu. Y, (1982). « Pollen : thérapeutique naturelles ». 5<sup>ème</sup> Ed Maloine S.A Paris. 31p.
- 70-Donadieu, Y. (1981). «Quelles sont les vertus du miel». Apitherapie Faculté de Medecine de Paris. En ligne <[http:// www.01santé.com](http://www.01santé.com)>.
- 71-Dorman H.J.D. and Deans S.G. (2000). Antimicrobial agents from plants: antibacterial Activity of plant volatile oils». *J App Microbiol*, vol.88, n°2, p. 308-16.
- 72-Dustman, J.H. (1978). «Antibacterial effect of honey». *Apiacta*, vol.14, n°1, p.7-11.
- 73-El-Sohaimy, S.A. Masry, Sh.D. Shehata, M.G. (2015).« Physicochemical characteristics of honey from different origins». *Annal of Agricultural Sciences*, vol.60, n°2, p. 279-287. (Science directe).
- 74-Emmanuelle, H. Guinot, L. Coustel, J. (1996). «Les constituants chimiques du miel». Ecole Nationale Supérieure des Industries Agricoles et Alimentaires. 1, Avenue des Olympiades, 91744 Massy CEDEX-France. Méthode d'analyses chimiques Département Science de l'Aliment. En ligne <<http://www.beekeeping.com/articles/fr/chimie-miel.htm>>.
- 75-Escuredo, O. Silva-Luis, R. Valentao, P. Seijo, M.C. Andrade, P.B. (2012).« Assessing Rubus honey value: pollen and phenolic compounds content and antibacterial capacity». *Food chemistry*, vol.130, p. 671-678.
- 76-Eucast. (2000). Definitive Document E. Def3.1.2000. «Determination of minimum inhibitory concentrations (MIC) of antibacterial agents by agar dilution». European Committee for antimicrobial susceptibility testing (EUCAST) of the European society of clinical microbiologie and infection diseases (ESCMID).

## References bibliographiques

---

- 78-Ezz El- Arab, A. M. Girgis, S. M. Hegazy, E. M. Abd El- Khalek, A. B. (2006). « Effect of dietary honey on intestinal microflora and toxicity of mycotoxins in mice. *BMC complementary and Alternative Medicine*, vol. 6, p.6.
- 79-François, L. (2017). «La texture du miel. Journal aliments naturels et biologiques». En ligne [www.essentielle-coop](http://www.essentielle-coop). Consulté le 5 mai 2017.
- 80-French, V.M. Cooper, R.A. Molan, P.C. (2005). «The antibacterial activity of honey against Coagulase-negative *Staphylococci*». *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, vol. 56, p.228- 231.
- 81-Gicquel,M. (2015).«Le miel contre les mycoses vaginales». La Propolis et Vous. En ligne< [www.lapropolisetvous.com](http://www.lapropolisetvous.com)>.
- 82-Gonnet, M. Lavie, P. (1960). «Influence du chauffage sur le facteur antibiotique du miel». *Annale de l'abeille*, Paris, vol. 3, p. 349-364.
- Gonnet, M. (1982). « Le miel ; composition, propriétés, conservation ». *INRA station expérimentale d'apiculture*. Pp : 1-18.
- 83-Guerriat, H. (2000). « Etre performant en Apiculture». Édition Rucher du Tilleul. 415p.
- 84-Gurezou,M .N. Nadji, N.(2002). «Etude comparative entre quelques miels locaux et autre importés». Mémoire d'obtention d'ingénieur d'état en agronomie. Université de Djelfa.
- 85-Halawani,E. Shohayeb,M. (2011). «Survey of the antimicrobial activity of Saudi and some international honeys». *Microbial Antimicrobial*, vol.3, p.94-101.
- 86-Hungjae, L. Churey, J.J. Worobo, R.W. (2008). «Antimicrobial activity of bacterial isolates from different floral sourcesof honey». *Int. J. Food Microbial*, vol. 126, p. 240-244.
- 88-Ibrahim-khalil, M. Moniruzzaman,M . Boukraa,L. Benhanifia,M. Asiful-Islam,Md. Nazmul-Islam,Md. Siti-Amrah,S. Hna-Gan,S.(2012).« Physicochemical and Antioxidant properties of Algerian honey». *Molécules*, vol.17, n°9, p. 11199-11215.

## References bibliographiques

---

- 89-Islamweb.(2011).«Effetbénéfiquedumielsurlasanté».Enligne<[www.islamweb.net](http://www.islamweb.net)...  
> *Médecine*>. Consulté le 1 mai 2017.
- 90-Jason, H. D. Esther. R. ANGERT. ( 2004). «Comparison of the antimicrobial activity of honey produced by *Tetragonisca angustula* (Meliponinae) and *Apis mellifera* from different phytogeographic regions of Costa Rica». *Apidologie*, vol. 35, p. 411–417.
- 91-Jean-prost ,P.(1979).« La Botanique et ses applications agricoles et horticoles. Tomes 1.5 éd. Paris, 211p.
- 92-Jeddar, A. Kharsany, A. Ramsaroop, U.G. Bhamjee,A. et al. (1985). «The antibacterial action of honey, an in vitro study». *South African Medical Journal*, vol. 67, p. 257- 8.
- 93-Jessica, Y- Y. (2015). «Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de Docteur en chirurgie dentaire .Université de Bordeaux.
- 94-Jonathan, W. White, J.R. Mary, H. Subers. Abner ,I. Schepartz. (1912). «The identification of inhibine, the antibacterial factor in honey, as hydrogen peroxide and its origin in a honey glucose-oxidase system». *Biochimica et Biophysica ACTA*, vol. 73, P. 57-70.
- 95-Kerkvliet ,J. Ortiz ,A. Ivanov, T.D. Arcy, B. Mossel, B. Vit, P. (1996). «Honey quality and international regulatory Standards: review by the international honey commission». *Bee World*, vol.80, n°2, p. 61-69.
- 96-Koechler, 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.
- 97-Küçük, M. kolayli, S. karaoglu, S. ulusoy, E. baltaci, C. Candan,F. (2007). «Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia». *Food chemistry*, vol.1»00, p.526-534.

## References bibliographiques

---

- 98-Kwakman, P.H.S. Tevelde, A.A. De Boer,L. Speijer,D. Vanden-broucke-grauls,C.M.J.E. Sebastian .A. J. Zaat. (2010). «How honey kills bacteria». *FASEB. J*, vol. 24, p.2576-2582.
- 99-Kwakman, P.H.S. Zaat, S.A.J. (2012) .«Antibacterial components of honey». *IUBMB Life*, vol.64, n°1, p.48-55.
- 100-Laallam, H. Boughediri, L. Bissati, S. Hammoudi, R. (2014). «Activité bactériostatique des miels du sud Algérien». *Revue des Bioressources*, Vol. 4, n° 4, p.68-74.
- 101-Lakhdar,L. (2015). «Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles Marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : in vitro». Thèse de doctorat. Université de la médecine de Rabat.
- 102-Lefief-Delcourt, A. (2010). *Le miel malin*. Luduc.s éd. Paris, 175 p.
- 103-LeQuet, L. (2010). «Du nectar a un miel de qualité : contrôle analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur». Thèse d'obtention de garde de docteur vétérinaire. Université Claude-Bernard, LYONI.
- 104-Libonatti,C. Soledad,V. Basualdo,M. (2014). «Antimicrobial activity of honey: a review of honey around the world». *Microbiology and Antimicrobials*, vol.6, n°3, p.51-56.
- 105-Lobreau-Callen, D. Marmion, V. Clément, M-C. (2000). « Les miels. In techniques de l'ingénieur ». P.1-20.
- 106-Luca, T. (2016). «Les contre -indications, allergies et intolérances au miel». Miellerie de chanteclair. En ligne < [geleeroyale.biz/contre-indications-du-miel](http://geleeroyale.biz/contre-indications-du-miel)>.
- 108-Majtan,J.( 2011) . «Methylgloxal – A Potential Risk factor of Manuka Honey in Healing of Diabetic Ulcers».Evidence- Based *Complementary and Alternative Medicine*.p.1-5.

## References bibliographiques

---

- 109-Makhloufi, Ch. (2010). «Melissopalynologie et étude des élément bioactifs des miels Algérienne». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en science agronomiques. Université Alger.
- 110-Mandal, M.D. Mandal, S. (2011). «Honey: its medicinal property and antibacterial activity». *Asian Pac J Trop Biomed*, vol.1, n°2, p.154-60.
- 111-Mandal, S. Debmandal, M. Pal-Nishith ,K. Krishnendu, s. (2010).« Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enteric serovar Typhie*». *Asian pacific Journal of Tropical Medicine*, vol.3, n°12, p. 961-964.
- 112-Manyi-Loh, Ch.E. Clarke-Anna, M. Munzhelele, T. Green, E. Noxolo, M. Roland, N. (2010). « Selected South African honeys and their extracts possess in vitro anti-Helicobacter pylori activity». *Archives of Medical Research*, vol.41, p. 324-331.
- 113-Mazrou, K. (2008). « L'effet de la température sur l'évolution de l'HMF dans les miels Algériens». Mémoire d'obtention de diplôme d'étude supérieure en biologie. Université Ibn Khaldoune, Tiaret, Algérie.
- 114-Mbogning, E. Tchoumboue, J. Damesse,F. Sanou-Sobze,M. Canini,A. (2011).« Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'ouest de l'Adamaoua Cameroun». *Tropicultura*, vol.29, n°3, p. 168-175.
- 115-Meli, N.V. (2015). «Types de miel- Miel Meli ».Belgium. En ligne [www.meli.be](http://www.meli.be) › Home › Tout sur le miel › Le miel dans la vie quotidienne».
- 116-Melissa,A.Mundo,M. Padilla-zakour,O.I. worobo,R.W. (2004). Growth inhibition of foodborne pathogens and food spoilage organisms by select raw honey. *International journal of food Microbial*, vol. 97, n°1, p.1-8.
- 117- Merah, M. Bensaci-Bachagha, M. Boudershem, A. (2010). «Etude de l'effet antimicrobienne de trios echantillons du miel naturel recoltés du territoire Algerien». *Annales des Science et Technologie*, vol. 2, n°2, p. 115-125.

## References bibliographiques

---

118-Michel Gicquel. (2015). «Le Miel contre les mycoses vaginales».la propolis et vous. En ligne < [www.lapropolisetvous.com/le-miel-contre-les-mycoses-vaginales](http://www.lapropolisetvous.com/le-miel-contre-les-mycoses-vaginales)>. Consulté le 15 mai 2017.

119-Mokeddem, T. (1998). «Contribution à l'analyse physicochimique et pollinique du miel d'oranger, région de Mitidja». Thèse d'ingénieur en agronomie. Université des sciences et de la technologie de Blida.

120-Molan ,P. (2003). «Antibacterial proprieties of honey». *Hivelights*, vol.15, n°1, p.19.

121-Molan ,P.C. (1992).«The antibacterial activity of honey.1.the nature of the antibacterial activity». *Bee world*, vol.73, p.59-76.

122-Molan, P.C. (2001). «Why honey is effective as a medicine: 2- the scientific explanation of its effect». *Bee World*, vol.82, n°1, p.22-40.

123-Molan, P. (1999). «Le rôle du miel dans la gestion des blessures». *Journal du soin de blessure*, vol. 8, n°8, p.415- 418.

124-Morais, M. Moreira, L. Xesus, F. Estevinho, L.M. (2011). «Honeybee- collected pollen from five Portuguese natural parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity». *Food and chemical Toxicology*, vol.49, p. 1096-1101.

125.Morvan,M.(2013).«Les1000vertusdumiel».Nananews.Enligne<[nananews.fr/sante/nutrition-et-sante](http://nananews.fr/sante/nutrition-et-sante)>.

126-Mundo, M. Padilla-Zakour, O.I. Worobo, R.W. (2004). «Growth inhibition of foodborne pathogene and food spoilage organisms by select raw honey. *Int. J. Food.Microbial*, vol.97, p. 1-8.

127-Nadir, S. (2014).« Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens». Thèse d'obtention du diplôme de doctorat en biologie. Université d'Oran, Algérie.

128-Nicolay, J. (2014). Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'officine. Thèse pour l'obtention de diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université Angers.

## References bibliographiques

---

- 129-Nobile, C.J. Johnson, A.D. (2015). «Candida albicans biofilm and Human disease». *Annual Review Microbiol*, vol.69, p. 71-92. Pubmed
- 130-Nolwenn, E. (2011). «De la fleur à l'abeille, de l'abeille au miel, du miel à l'homme : miel et autres produits de la ruche». Thèse d'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nantes.
- 131-Obaseiki-Ebore, E. Afonya, T.C.A. (1984). «In vitro evaluation of the anticandidiasis activity of honey distillate (IIY-1) compared to that of some antimycotic agents». *J. Pharm. Pharmacol*, vol.36, p. 4-283.
- 132-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.
- 133-Osho, A. Bello,O.O. (2010). «Antimicrobial effect of honey produced by *Apis mellifera* on some common human pathogens». *Asian journal.EXP.BIOL.SCI*, vol.1, n°4, p.875-880.
- 134-Oudjet, K. (2012). «Le miel une denrée à promouvoir». *Infos-CACQE* ,p.1-3.
- 135-Parente, E. Brienza, C. Moles, M. Ricciardi, A. (1995). «A comparison of methods for the measurement of bacteriocin activity». *Journal of Microbiological Methods*, vol.22, p.95– 108.
- 136-Paterson .D. (2008).« L'apiculture». Edition Quae. France. 158 p.
- 137-Paulus, H.S. Kwakman, Sebastian, A.J. Zaat. (2011).« Antibacterial components of honey». *IUBMB Life*, vol.64, n°1, p.48-55.
- 138-Perez, C. Paul, M. Bazerque, P. (1990). «An Antibiotic assay by the agar well diffusion method». *Acta. Bio. Med. Exp.*vol, 15, p. 113-115.
- 139-Perruci .S. Mancianti, F. Cioni, P. L. Famini ,G. Morelli, I. Macchioni ,G. (1994).«In vitro antifungal activity of essential oils against some isolates of *microsporium canis* and *microsporium gypseum*». *Planta Med*, vol, 60, p. 184-187.
- 140-Petit, N. (2012). « Le miel au secours de la médecine ». *Vertus du Miel Santé*.

## References bibliographiques

---

- 141-Phillippe, J .M. (1991). «La pollinisation des abeilles». Edition Edisud la calade. 13090 Aix .Provence.
- 142-Piliouras, P. Ulett, G. C. Robert, G. Hirst, R. E. (2002). «A comparison of antibiotic susceptibility testing methods for cotrimoxazole with Burkholderia pseudomalle». *International Journal of Antimicrobial Agents*, vol. 19, p. 427– 429.
- 143-Poiret, D. Webbies, S.P. R. L. (2011). «Globulaire (*Globularia vulgaris*)». Mr plantes & les plantes médicinales. En ligne < [www.mrplantes.com/2011/04/globulaire-globularia-vulgaris](http://www.mrplantes.com/2011/04/globulaire-globularia-vulgaris)>.
- 144-Postmes, T. Van Den Bogaard, E.A. Hazen, M. (1984). «Le miel pour la conservation de blessures, d'ulcère et de greffe de peau». *The Lancet*, vol. 341, p. 756- 757.
- 145-Revathy, V. Banerjis, A. (1980). «A preliminary study of antibacterial properties of Indian honey». *Indian Journal of Biochemistry and Biophysics*, vol. 17, n°242, p. 62.
- 146-Rezzag, M.O. (2010). «Extraction de certains composés du miel naturel ayant l'effet antimicrobienne». Mémoire pour l'obtention de diplôme d'étude supérieure en biologie. Université Kasdi Merbah, Algérie.
- 147-Rossant, A. (2011). «Le miel un composé complexe aux propriétés surprenantes». Thèse pour l'obtention du diplôme d'état de docteur en pharmacie. Limoges. En français.
- 148-Roth, L. A. Kwan, S. Sporn, P. (1986). «Use a disc assay to detect oxytetracycline residues of honey». *Journal of food protection*, vol. 49, p. 44-436.
- 149-Russell, T.H. Lander, F. (2015). «The bees are our sheep: the role of honey and fat in the transition to livestock keeping during the last two thousand years in southernmost Africa». *Azania: Archaeological Research in Africa*, vol. 50, P. 318-342.

- 150-Sarfaz, A. Nor-Hayati, O. (2013). «Review of the medicinal effects of Tualang honey and a comparison with Manuka honey». *The Malaysian journal of Medical Science*, vol. 20, n°3, p.6-13.
- 151-Schweitzer, P. (2000). «La couleur des miels». Syndicat National D'apiculture. En ligne < [www.apiservices.biz](http://www.apiservices.biz)>. Consulté le 21 mars 2017.
- 152-Sherlock,O. Dolan,A. Athman,R. Power,A. Gethin,G. Cowman,S. Humphreys,H. (2010). «Comparision of the antimicrobial activity of UImo honey from chile and Manuka honey against methicicllin-resistant *Staphylococcus aureus*,*Escherichia coli* and *pseudomonas aeruginosa*». *BMC Complement Altern Med*, vol.2,p.10-47.
- 153-Sib, A. (2007). «Contrôle de la qualité physicochimique et microbiologique et évaluation de l'activité antimicrobienne du miel d'origine locale et importe». Mémoire d'obtention de diplôme en microbiologie alimentaire et sécurité sanitaire des aliments. Université de Tlemcen, Algérie.
- 154.Stéphane,B.(2015).«Lavande».PasseportSanté.Net.Enligne<[www.passeportsante.net](http://www.passeportsante.net) > Huiles essentielles>.
- 155-Suhr, K.I. Nielson, P.V. (2003). «Antifungal activity of essential oil evaluated by two different application techniques against rye bread spoilage fungi». *JOURNAL OF APPLIED MICROBIOLOGY*, vol. **94**, p.665-674.
- 156-Swenson, J.M. Hill, B.C. Thornsberry, C. (1989). «Problems with the disk diffusion test for detection of *vancomycin* resistance in *enterococci*». *Journal of Clinical Microbiology*, vol. 27, p. 2140–2142.
- 157-Tajik,H. Jalali, F.S.S. (2009). «In vitro evaluation of antimicrobial efficacy of natural honey comparision with sulfonamide derivatives». *Journal Anim vet Adv*, vol. 8, p.23-25.
- 158-Taormina, P.J.Neimira, B.A.Beuchat, L.R. (2001). « Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int. J. Food Microbial*, vol. 69, p. 217- 225.
- 159-Taudou, A. (1990). «Activité antifongique des labiatae. Données bibliographiques. Etudes in vitro de treize huiles essentielles (intérêt de la

## References bibliographiques

---

microémulsion)». Doctorat d'état en sciences pharmaceutiques. Université Paul Sabatier, Toulouse. France.

160-Theunissen, F. Grobler, S. Gedalia, I. (2001). «The antifungal action of three South African honeys on *Candida albicans*». *Journal of Apidologie*, vol. 32, p. 371–379. (Science Direct).

161-Thomas, P. Barrett, J. Brennan, J. Moran, N. (2005). «Use of a spectrophotometric bioassay for determination of microbial sensitivity to Manuka honey». *Journal of Microbiology Methods*, vol.64, n°1, p.84-95.

162-Torres, A. Garedeu, G. Schmolz, E. Lamprecht, I. (2004). «Calorimetric investigation of the antimicrobial action and insight into the chemical properties of “angelita” honey, a production of the stingless bee *Tetragonisca angustula* from Colombia». *Thermochimica Acta*, vol.415, n°1-2, 7, p.107-113.

163-Tourrasse, A. (2014). «Le miel et ses vertus thérapeutiques». Hippocratus. En ligne. < <https://www.hippocratus.com> >. Consulter le 24 avril 2017.

164-Tumini, N. Halim, N.A.A. Shahjahan, M. Noor-Izani, Nj. Sattar, M.A. Khan, A.H. Mohsin, S.Sj.(2005). «Antibacterial activity of local Malaysian honey». *Malaysian journal pharmaceutical Science*, vol. 2, p. 1-10.

165-Urol, P.(2005). «Les Candiduries». *Association Française D'urologie*, vol.15, p. 213-2016. En ligne [www.urofrance.org](http://www.urofrance.org)

166-Velghe, C. (2016). «Miel valeurs nutritionnelle et bienfaits». Santé-MGC-Prévention. En ligne < [www.mgc-prevention.fr](http://www.mgc-prevention.fr) > Nutrition > Aliments et santé >. Consulté le 17 février 2017.

167-Viodarou, C. Alexopoulos, A. Plessas, S. Karapanou, A. Mantzourani, I. Stavropoulou, E. Fotou, K. Tzora, A. Skoufos, I. Bezirtzoglou, E. (2011). «Antibacterial activity of different honeys against pathogenic bacteria». *Anaerobe*, vol.17, p. 375-379.

## References bibliographiques

---

- 168-Wijesinghe, M. (2009). «HONEY IN THE TREATMENT OF BURNS: A SYSTEMATIC REVIEW AND META-ANALYSIS OF ITS EFFICACY». *New Zeal. Med. J*, vol. 122, p. 47-60. Pubmed
- 169-White, J.W. (1975). «Physical Characteristics of honey». In: Crane, editor, *Honey, a comprehensive survey*. UK: Heinemann London, p. 157-206.
- 170-YAICHE ACHOUR, H. KHALI, M. (2014). « Composition physicochimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques ». *Afrique Science*, vol. 10, n°2, p. 127 - 136.
- 171- سيب, أ. (2011). «ملخصات بحوث المؤتمر العالمي العاشر للاعجاز العلمي في القرآن 1432 هـ- 2011م». دار جواد للنشر و التوزيع و السنة. رابطة العالم الاسلامي.

# Annexes

**Annexe1** : tableau des diamètres des zones d'inhibition de l'activité antifongique des six miels testés par la méthode de puits de diffusion sur les deux souches S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub>

	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>	S <sub>1</sub> - S <sub>2</sub>			
	100%	100%	75%	50%	25%	12,5%
M <sub>1</sub>	16,5 mm 15mm	20mm 19,5mm	-	-	-	-
M <sub>2</sub>	12mm 9 mm	12mm 11,5mm	-	-	-	-
M <sub>3</sub>	11,5mm 10mm	12mm 11,5mm	-	-	-	-
M <sub>4</sub>	-	-	-	-	-	-
M <sub>5</sub>	-	-	-	-	-	-
M <sub>6</sub>	-	-	-	-	-	-

**Annexe2** : Tableau des moyennes des diamètres de zone d'inhibition de six miels testées par la méthode de puits de diffusion sur les deux souches S<sub>1</sub> et S<sub>2</sub> à la concentration 100%.

LES MIELS	S <sub>1</sub>	S <sub>2</sub>
M <sub>1</sub>	15,75	19,75
M <sub>2</sub>	10,5	11,75
M <sub>3</sub>	10,75	11,75
M <sub>4</sub>	0	0
M <sub>5</sub>	0	0
M <sub>6</sub>	0	0

**Annexe3** : Tableau des résultats du pouvoir antifongique de six miels testées par la méthode de contacte directe sur la levure *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm

Témoin S1	M <sub>1</sub>			M <sub>2</sub>			M <sub>3</sub>			M <sub>4</sub>			M <sub>5</sub>			M <sub>6</sub>		
4+	5%	12,5	25	5%	12,5	25	5%	12,5	25	5%	12,5	25	5%	12,5	25	5%	12,5	25
		%	%		%	%		%	%		%	%		%	%		%	%
	0	0+	0	4+	2+	0	0	0	0	4+	3+	2	2+	1+	0	4+	2+	0
			+			+						+						

**Annexe4** : Tableau des résultats du pouvoir antifongique de six miels testées par la méthode de contacte directe sur la levure *Candida albicans* non formatrice de biofilm

Témoin S2	M1			M2			M3			M4			M5			M6		
4+	5	12,5	25	5	12,5	25	5%	12,5	25	5	12,5	25	5	12,5	25	5	12,5	25
	%	%	%	%	%	%		%	%	%	%	%	%	%	%	%	%	%
	3	1+	0	2+	2+	0+	0	0	0	3	3+	2+	1	1+	0	3	2+	0
	+									+			+			+		

**(4+)** : désigne une croissance très forte

**(3+)** : désigne une croissance forte

**(2+ et 1+)**: désigne une croissance moyenne

**(0)** : désigne une croissance nulle

**Annexe 05 :** Tableau des pourcentages de la croissance de *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm envers les six miels par la méthode de spectrophotométrie.

Dilutions miels	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M1	81% 63%	66% 48%	31% 12%	31% 22%	24% 17%	14% 8%	3%	9%	102%
M2	49% 58%	21% 46%	14% 39%	19% 23%	24% 28%	16% 27%	13%	2%	17% 23%
M3	92%	59% 53%	23% 34%	22% 20%	21% 19%	2% 5%	27%	11%	375% 385%
M4	83% 76%	55% 75%	75% 81%	100% 99%	109% 112%	106% 96%	99%	94%	154% 188%
M5	62% 81%	52% 62%	51% 55%	47% 15%	62% 40%	42%	42% 58%	35%	14% 40%
M6	139%	18%	/	/	/	/	/	48%	65%

**Annexe 06 :** tableau des pourcentages d'inhibition de *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm par les six miels testés par la méthode de spectrophotométrie.

Dilutions Miels	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M <sub>1</sub>	28%	43%	78%	73%	79%	78%	97%	91%	0%
M <sub>2</sub>	46%	66%	73%	79%	74%	78%	87%	98%	80%
M <sub>3</sub>	8%	44%	43%	58%	80%	96%	73%	89%	0%
M <sub>4</sub>	20%	35%	22%	0%	0%	0%	1%	6%	0%
M <sub>5</sub>	28%	57%	47%	69%	49%	58%	50%	65%	73%
M <sub>6</sub>		82%						52%	35%

**Annexe 07** : tableau des pourcentages de croissance de *Candida albicans* non formatrice de biofilm envers les six miels par la méthode de spectrophotométrie

Dilution Miel	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M1	09% 21%	36% 45%	22% 34%	34% 33%	11% 6%	12% 5%	19%	35%	33%
M2	15% 25%	15% 26%	4% 30%	10% 15%	8% 28%	10% 14%	1%	5%	0,3% 9%
M3	3% 4%	15% 19%	3% 20%	11% 24%	0,3% 1%	5% 31%	3% 00%	3%	2%
M4	39% 27%	48% 38%	78% 56%	90% 85%	104% 103%	89% 81%	96%	82%	174%
M5	00%	30%	38% 30%	35% 28%	36% 17%	44% 16%	23%	22%	64%
M6	150%	/	48%	/	/	/	/	54%	68%

**Annexe 08** : tableau des pourcentages d'inhibition de *Candida albicans* non formatrice de biofilm par les six miels testées par la méthode de spectrophotométrie.

Dilutions Miels	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M1	85%	59%	72%	66%	91%	91%	81%	65%	67%
M2	80%	79%	83%	87%	82%	88%	99%	95%	90%
M3	96%	83%	88%	82%	99%	82%	97%	97%	98%
M4	67%	57%	33%	12%	0%	15%	4%	18%	0%
M5	100%	70%	66%	68%	73%	70%	77%	78%	36%
M6	/	/	52%	/	/	/	/	46%	42%

**Annexe 9** : tableau de la croissance de *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm  
envers les six miels

Dilution Miels	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M <sub>1</sub>	$4,78 \times 10^8$	$3,75 \times 10^8$	$1,41 \times 10^8$	$1,7 \times 10^8$	$1,35 \times 10^8$	$7,2 \times 10^7$	$2,3 \times 10^7$	$6,1 \times 10^7$	$7,75 \times 10^8$
M <sub>2</sub>	$3,55 \times 10^8$	$2,23 \times 10^8$	$3,52 \times 10^8$	$1,40 \times 10^8$	$1,71 \times 10^8$	$1,42 \times 10^8$	$8,8 \times 10^7$	$1,5 \times 10^7$	$1,35 \times 10^8$
M <sub>3</sub>	$6,13 \times 10^8$	$3,71 \times 10^8$	$1,89 \times 10^8$	$1,43 \times 10^8$	$1,34 \times 10^8$	$2,6 \times 10^7$	$1,78 \times 10^8$	$7,9 \times 10^7$	$2,5 \times 10^9$
M <sub>4</sub>	$5,28 \times 10^8$	$4,28 \times 10^8$	$5,17 \times 10^8$	$6,63 \times 10^8$	$7,33 \times 10^8$	$6,73 \times 10^8$	$6,56 \times 10^8$	$6,23 \times 10^8$	$1,13 \times 10^9$
M <sub>5</sub>	$4,74 \times 10^8$	$3,81 \times 10^8$	$3,52 \times 10^8$	$3,27 \times 10^8$	$3,37 \times 10^8$	$2,76 \times 10^8$	$2,79 \times 10^8$	$2,37 \times 10^8$	$9,8 \times 10^7$
M <sub>6</sub>	$9,2 \times 10^8$	$1,25 \times 10^8$	/	/	/	/	/	$3,2 \times 10^8$	$4,3 \times 10^8$
Témoins de $S_1 = 6,6 * 10^8$									

**Annexe 10** : tableau de la croissance de *Candida albicans* non formatrice de biofilm  
envers les six miels

Dilution Miels	5%	10%	20%	30%	40%	50%	60%	75%	100%
M <sub>1</sub>	$9,75 \times 10^7$	$2,59 \times 10^8$	$3,20 \times 10^7$	$2,13 \times 10^8$	$5,6 \times 10^7$	$5,6 \times 10^7$	$1,22 \times 10^8$	$2,26 \times 10^8$	$2,15 \times 10^8$
M <sub>2</sub>	$1,29 \times 10^8$	$1,31 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$	$8 \times 10^7$	$1,16 \times 10^8$	$7,7 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$	$3,5 \times 10^7$	$3,1 \times 10^7$
M <sub>3</sub>	$2,7 \times 10^7$	$1,1 \times 10^8$	$7,15 \times 10^7$	$1,12 \times 10^7$	$5,5 \times 10^6$	$1,15 \times 10^7$	$8,5 \times 10^6$	$2,3 \times 10^7$	$1,2 \times 10^7$
M <sub>4</sub>	$2,11 \times 10^8$	$2,73 \times 10^8$	$4,26 \times 10^8$	$5,58 \times 10^8$	$6,66 \times 10^8$	$5,47 \times 10^8$	$6,17 \times 10^8$	$5,25 \times 10^8$	$1,19 \times 10^9$
M <sub>5</sub>	$3,1 \times 10^7$	$1,94 \times 10^8$	$2,19 \times 10^8$	$2,61 \times 10^8$	$1,72 \times 10^8$	$1,94 \times 10^8$	$1,46 \times 10^8$	$1,46 \times 10^8$	$4,1 \times 10^8$
M <sub>6</sub>	$9,6 \times 10^8$	/	$3 \times 10^8$	/	/	/	/	$3,5 \times 10^8$	$3 \times 10^8$
Témoins de $S_2 = 6,4 * 10^8$									

### Annexe 11 : Composition des milieux de culture et solution utilisées :

#### (M.H) Muller Hinton

- Extrait de viande 2g
- Caséine 17,5g ou 38g de poudre déshydratée
- Amidon 1,5g de Muller Hinton
- Agar 15g
- Glucose 20g
- E.D 1000ml pH 7,4 ± 0,2

#### (G.N) gélose nutritif

- Extrait de viande 10g
- Extrait de levure 2g
- Peptone 10g
- Na Cl 5g
- Agar 15g
- E.D 1000ml Ph ± 0,2

#### (B .M.H) bouillon Muller Hinton

- Extrait de viande 2g
- Caséine 17,5g
- Amidon 1,5g
- Glucose 20g
- E.D 1000ml

### (T.S.B) bouillon Tryptone Soja

- Peptone (origine non –animale) 20g/L
- Glucose 2,5g/L
- Na Cl 5g/L
- K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> 2,5g/L

### (E.D) Eau physiologique

- Na Cl 9g
- E.D 1000ml

## Résumé

Le présent travail est une contribution à l'évaluation de l'effet antimicrobien de six échantillons de miel monofloral récoltés du territoire Algérien.

les échantillons des miels sont de différentes sources florale et géographiques il s'agit de Tlemcen : *Globularia alypum*, *Eruca Sativa*, *Ziziphus lotus* et *Ajuga reptans* ; de Tiziouzou : *Lavandula officinalis*, *Onobrychis sativa*.

Les six échantillons sont testés sur deux levures cliniques de *Candida albicans* à caractère pathogène. Ces souches sont; l'une bonne formatrice de biofilm et résistante et l'autre non formatrice de biofilm et moyennement sensible aux antifongiques.

Notre travail est basé sur l'évaluation de l'effet antifongique des miels purs et dilués (75%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%) par la technique de puits de diffusion, technique de contact directe et par la méthode de spectrophotométrie.

Le résultat obtenu montre clairement l'impact du miel naturel sur la croissance fongique. Cet effet inhibiteur a été constaté est variable selon la souche et le type de miel testé. Les miels : *Globularia alypum*, *Ajuga reptans* et *Eruca Sativa* sont les plus efficaces contre nos souches levuriennes avec des zones d'inhibition allant de 11 à 20mm pour la méthode de puits. Ces trois échantillons révèlent ainsi une activité antifongique intéressante sur nos deux souches a des concentrations variables allant de 5% à 75% avec des pourcentages d'inhibition variant de 50% à 90% avec la deuxième méthode de spectrophotométrie.

L'effet antifongique est soit fongicide ou fongistatique avec des CMI très variables, les miels *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* et *Ziziphus lotus* exercent un effet fongicide contre *Candida albicans* non formatrice de biofilm et effet fongistatique contre *Candida albicans* bonne formatrice de biofilm.

Cette étude dévoile des variétés de miels monofloraux antifongiques qui peuvent être exploités en application clinique.

Les mots clés : Miel, antifongique, *Candida albicans*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Globularia alypum*, *Lavandula Officinalis*, *Onobrychis sativa*, *Ziziphus lotus*.

## Abstract

The present work is a contribution to the evaluation of the antimicrobial effect of six samples of monofloral honey harvested from the Algerian territory.

Our samples of honeys come from different sources of floral and geographical origin: Tlemcen: *Globularia alypum*, *Eruca Sativa*, *Ziziphus lotus* and *Ajuga reptans*, and Tiziouzou: *Lavandula officinalis*, *Onobrychis sativa*.

The six samples were tested on two clinical yeasts of pathogenic *Candida albicans*. These strains are; One good form of biofilm and resistant and the other non-formative of biofilm and moderately sensitive to antifungal agents.

Our work is based on the evaluation of the antifungal effect of pure and diluted honeys (75%, 60%, 50%, 40%, 30%, 20%, 10%, 5%) using the diffusion well technique, Direct contact technique and spectrophotometric method.

The result clearly shows the impact of natural honey on fungal growth. This inhibitory effect was found to be variable depending on the strain and type of honey tested. Honeys: *Globularia alypum*, *Ajuga reptans* and *Eruca Sativa* are the most effective against our yeast strains with zones of inhibition ranging from 11 to 20mm for the well method. These three samples thus reveal an interesting antifungal activity on our two strains at variable concentrations ranging from 5% to 75% with inhibition percentages ranging from 50% to 90% with the second spectrophotometric method.

The antifungal effect is either fungicidal or fungistatic with very variable MICs, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa* and *Ziziphus lotus* exert a fungicidal effect against *Candida albicans* that do not form biofilm and fungistatic effect against *Candida albicans*, which is a good formoter of biofilm.

This study reveals varieties of antifungal monofloral honeys that can be exploited in clinical applications.

Key words: Honey, antifongic, *Candida albicans*, *Ajuga reptans*, *Eruca sativa*, *Globularia alypum*, *Lavandula Officinalis*, *Onobrychis sativa*, *Ziziphus lotus*.

## تلخيص

هذا العمل هو المساهمة في تقييم تأثير مضادات الميكروبات من ست عينات من العسل من زهرة واحدة تحصد الأراضي الجزائرية. لدينا عينات من العسل لديهم مصادر نباتية وجغرافية مختلفة من تلمسان: عسل عشبة تسلغة، عسل النجار، عسل الجرجير و من تيزي وزو: عسل الخزامة و عسل السللة.

تم اختبار عينات العسل على اثنتين من الفطريات الممرضة. هذه السلالات هي؛ المدرب جيد لمقاومة بيوفيلم والاخرى غير قادرة على تشكيل بيوفيلم وعرضة معتدلة إلى مضادات الفطريات.

و يستند عملنا على تقييم تأثير مضاد للفطريات من العسل الصافي والمخفف ( 75%، 60%، 50%، 40%، 30%، 20%، 10%، 5%) من خلال تقنية نشر جيدا الاتصال المباشر الهندسة وطريقة القياس الطيفي.

يظهر نتيجة بوضوح تأثير العسل الطبيعي على نمو الفطريات. هذا التأثير المثبط وجد هو متغير تبعا للسلالة ونوع العسل التي تم اختبارها. العسل: عشبة تسلغة، عسل النجار و عسل الجرجير هي الأكثر فعالية ضد الفطريات لدينا سلالات مع مناطق تثبيط تتراوح بين 11 إلى 20mm للأسلوب جيد. وبالتالي هذه العينات الثلاث تكشف عن نشاط مضاد للاهتمام على اثنتين من سلالات بتركيزات تتراوح بين 5% إلى 75% متفاوتة، مع نسب تثبيط تتراوح بين 50% إلى 90% مع الأسلوب الثاني من القياس الطيفي.

تأثير مضاد للفطريات إما قاتل للفطريات أو كاجح للفطريات مع تركيزات قليلة كاجحة على نطاق واسع (CMI)، عسل النجار، عسل الجرجير والسدر ايمارس تأثير قاتل للفطريات غير مشكلة للبيوفيلم وكاجح للفطريات المشكلة جيدا للبيوفيلم هذه الدراسة تكشف نوعا من الزهور واحدة العسل مضاد للفطريات التي يمكن استغلالها في التطبيق العيادي الكلمات المفتاحية العسل، مضادات الفطريات، فطر، عسل الخزامة، عسل النجار، عسل الجرجير، عسل عشبة تسلغة، عسل عشبة السدر، عسل السللة.