

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

مولاي الطاهر. د - جامعة سعيدة

Université de Saida - Dr. MOULAY Tahar



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

## **Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des deux produits naturels (Miel & Huile essentielle) d'*Eucalyptus***

Présenté par :

- M<sup>elle</sup>: MOGHARBI Bouchra
- M<sup>elle</sup>: NEHILA Manel

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président

Mr. Kahloula Khaled

Pr Université UMTS

Examineur

Mr. Adli Djallal Eddine H

MCA Université UMTS

Rapporteur

Mr. Ziani Kaddour

MCA Université UMTS

**Année universitaire 2022/2023**

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية

République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي

Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique

مولاي الطاهر. د - جامعة سعيدة

Université de Saida - Dr. MOULAY Tahar



كلية العلوم

Faculté des Sciences

قسم البيولوجيا

Département de Biologie

N° d'Ordre

**Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master**

En Sciences biologiques

**Spécialité : Microbiologie Appliquée**

Thème

## **Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne des deux produits naturels (Miel & Huile essentielle) d'*Eucalyptus***

Présenté par :

- M<sup>elle</sup>: MOGHARBI Bochra
- M<sup>elle</sup>: NEHILA Manel

Soutenu le :

Devant le jury composé de :

Président	Mr. Kahloula Khaled	Pr Université UMTS
Examineur	Mr. Adli Djallal Eddine H	MCA Université UMTS
Rapporteur	Mr. Ziani Kaddour	MCA Université UMTS

**Année universitaire 2022/2023**

## Dédicaces

Avec l'aide d'Allah le tout puissant et miséricordieux qui m'a donné la force et la patience J'ai pu accomplir cet humble travail que je dédie à :

À l'être la plus chère à ma vie ma mère. Quoi que je fasse ou que je dis, je ne saurai point te remercier comme il se doit, ton affection me couvre, ta bienveillance me guide et ta présence à mes côtés a toujours été ma source de force pour affronter les différents obstacles.

Et à tous les membres de ma famille, qui m'ont soutenu à chaque pas que j'ai fait.

Et un merci spécial à mon amie, compagnon de mon chemin, et mon second soutien. Je n'ai pas trouvé assez de mots pour t'exprimer ma gratitude. Oui, camarade. J'espère que Dieu t'accorde le succès dans ta vie et que tu accomplis tout tes rêves et tes ambitions, mon cher ami « HALIMA »

Et sans oublier d'exprimer mes sincères remerciements et ma gratitude au chef de service du laboratoire d'hygiène pour un état heureux et à tout son personnel « IMAN, HANAN, Monsieur HAMADA », si Dieu le veut, bon traitement, respect et appréciation, ils ont le plus grand crédit pour le succès de ce mémorandum, j'espère Que Dieu te bénisse dans ton travail

Son oublier ma binôme Manel, pour son soutien moral, sa sympathie, sa compréhension tout au long de ce projet dont laquelle j'ai pris beaucoup de plaisir à travailler avec elle. Nous avons formé une belle équipe. Je te souhaite plein d'autres réussites et beaucoup de bonheur.

« Rien n'est plus nécessaire pour réussir après avoir fait confiance à Dieu que la persévérance car elle surmonte tous les obstacles » Georges Patton

**Bouchra**

---

## Dédicace

Avant tout, je remercie Dieu tout puissant de nous avoir donné la force, le courage, la persistance et m'a permis d'exploiter les moyens disponibles afin d'accomplir ce modeste travail. Merci de m'avoir éclairé le chemin de la réussite. Avec l'aide et la grâce de Dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je dédie particulièrement :

A mon très cher PAPA, ma première école dans la vie, l'homme qui a toujours cru en moi et mis à ma disposition tous les moyens nécessaires pour que je réussisse, aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour lui. Je le remercie vivement pour son soutien, que Dieu prolonge sa vie et le préserve.

A mon ange ma chère MAMAN symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse, lumière de mes yeux. Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que tu mérites pour tous les sacrifices que tu n'as cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte que Dieu la garde pour moi et la récompense de tout le meilleur.

Je leur dédie ce travail, souhaitant apporter un peu de bonheur et joie dans leurs cœurs.

A mes chers frères et soutien dans cette vie : WALID, AMINE et SARA.

A mes chers amis et âmes sœurs, qui ont toujours été à mes côtés et mon soutien, avec qui j'ai partagé tous mes moments heureux et tristes : FATIMA & HANANE.

Je tiens également à remercier ma chère amie et mon binôme BOUCHRA pour sa patience et sa ténacité durant les bons et parfois durs moments qu'on a passés ensemble.

À toute personne qui m'a aidée d'un geste si petit soit-il je dis « Merci »

**Manel**

---

## **Remerciements**

Je tiens à remercier Monsieur ZIANI Kaddour, maître de conférence à l'Université de Saida Dr. Molay Tahar, qui m'a encadré tout au long de cette Mémoire et on la remercie Pour ses conseils avisés et ses suggestions, Pour sa patience et pour le soutien qu'il a fourni à tout moment de ce travail, Je tiens aussi, Melle Driss khodja fatima, et le chef service de laboratoire d'hygiène « IMANE » Et toute son équipe, qui a joué un rôle majeur dans la réalisation de ce mémoire, Je tiens aussi à saluer toutes les personnes qui ont contribué à la réalisation de cette Mémoire. J'espère trouver les mots nécessaires qui vont traduire toute ma gratitude.

Notre vif remerciement pour les membres du jury à commencer par: Mr. Kahloula Khaled, Mr. Adli Djallal Eddine et Mr. Ziani Kaddour.

Nos remerciements s'adressent également à tous nos professeurs de l'Université de Saida Dr. Molay Tahar, pour leurs générosités et la grande patience dont ils ont su faire preuve malgré leurs charges académiques et professionnelles.

Nous témoignons notre reconnaissance envers tous nos enseignants qui nous ont guidé jusque-là, c'est en une grosse partie grâce à eux que nous sommes arrivées à ce jour, nous vous remercions du plus profond de nos cœurs.

Enfin, nos remerciements s'adressent à toute personne ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail ou qui nous ont encouragé et soutenu à tout moment.

---

## **Liste des abréviations**

**%** : Pourcentage

**AFNOR** : Association française de normalisation

**AMP** : Ampicilline

**AK** : Amikacine

**ATP** : Adénosine triphosphate

**BMRs** : Bactéries Multirésistances

**°C** : degré Celsius

**CEU** : Council of European Union

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice

**ERV** : Entérocoque résistant à la vancomycine

**Hcl** : L'acide chlorhydrique

**HE** : Huile essentielle

**HEE** : Huile essentielle d'Eucalyptus

**HMF** : Hydroxyméthylfurfural

**H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>** : Peroxyde d'hydrogène

**H<sup>+</sup>** : des ions hydrogènes (protons)

**g/cm<sup>3</sup>** : grammes par centimètre cube

**ITELV** : l'Institut technique des élevages

**Kg** : kilogramme

**Kg/ruche** : kilogramme par ruche

**KOH** : d'hydroxyde de potassium

**KMnO<sub>4</sub>** : Permanganate de potassium

**m** : la masse

**M** : la masse molaire

**ME** : Miel d'Eucalyptus

**meq** : milliéquivalents

**meq.kg-1** : milliéquivalents par kg

**mg/Kg** : milligramme par kilogramme

**Mm** : millimètre

**mPa.s** : millipascal-seconde

**mS/cm** : millisiemens par centimètre

**N** : Néomycine

**NaOH** : Hydroxyde de sodium

**P** :Pénicilline G

**pH** : potentiel hydrogène

**Qx** : quintaux

**S** : Streptomycine

**S/cm** : Siemens par centimètre

**SARM** : Staphylococcus aureus résistant à la méticilline

**TE** :Tétracycline

**TSE** : Turkish Standard Institute

**V** : Volume

**Liste des tableaux**

**Tableau 1 :** Propriétés physicochimiques du miels de Eucalyptus des régions Subhumides et zones semi-arides en Algérie (**Makhloufi et al.,2021**) ..... 17

**Tableau 2 :** Les résultats des analyses physico-chimiques d’huile essentielle d’*Eucalyptus globulus* ..... 42

**Tableau 3 :** Résultats des analyses physico-chimiques de ME ..... 43

**Tableau 4 :** Les bactéries dans leur milieux sélectif préféré (a) *Staphylococcus aureus* dans le milieu Chapman ; (b) *Pseudomonas aeruginosa* dans le milieu Hektoën ; (c) *Echerchia coli* dans le gélose nutritif. .... 46

**Tableau 5 :** Diamètres des zones d’inhibition de l’antibiogramme des trois souches utilisées ..... 46

**Tableau 6 :** Diamètre en (mm) de la zone d’inhibition de l’effet d’HE sur les trois souches de la bactéries..... 47

**Tableau 7 :** Diamètre en (mm) de la zone d’inhibition de l’effect de ME sur les trois souches de la bactéries..... 49

**Tableau 8 :** Diamètres en (mm) de la zone d’inhibition de l’effect combiné d’HE et ME sur les trois souches des bactéries..... 52

## Liste des figures

<i>Figure 1. Origine du miel (<a href="https://www.memoireonline.com/03/10/3229/m_Etude-comparative-entre-quelquesmiels-locaux-et-autres-importes2.html">https://www.memoireonline.com/03/10/3229/m_Etude-comparative-entre-quelquesmiels-locaux-et-autres-importes2.html</a>)</i> .....	6
<i>Figure 2: Maturation du miel (<a href="https://be-keeper.com/blog/maturation-miel/">https://be-keeper.com/blog/maturation-miel/</a> : maturation du miel)</i> .....	9
<i>Figure 3 : Composition moyenne du miel (créer par canva)</i> .....	11
<i>Figure 4. Feuilles d'eucalyptus globulus (<a href="https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/">https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/</a>)</i> .....	16
<i>Figure 5 : Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles par les plantes aromatiques (Vieira et al.,2001; Karray-Bouraoui et al.,2009)</i> .....	19
<i>Figure 6 : Montage d'entraînement à la vapeur (Mohamed 2010)</i> .....	20
<i>Figure 7: Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger (Azzeddine. 2010)</i> .....	21
<i>Figure 8 : Machine à expression à froid (a) grattage des épicarpes d'agrumes (b): machine à extraction par expression à froid des huiles essentielles d'agrumes (Meissa et anfel.2020)</i> .....	22
<i>Figure 9 : Exemples de structures de terpènes</i> .....	24
<i>Figure 10 : Structures chimiques des composants majoritaires de l'HE</i> .....	26
<i>Figure 11 : schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne (Bouyahya et al., 2017)</i> .....	28
<i>Figure 12 : Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques (Wong-Paz et al., 2017)</i> .....	29
<i>Figure 13 : Huile d'eucalyptus</i> .....	33
<i>Figure 14 : Miel d'eucalyptus</i> .....	34
<i>Figure 15 : résultats du test d'indice d'acide</i> .....	43
<i>Figure 16 : les étapes pour faire la coloration de gram ( Aminetou et Aicha m, 2008, Manuel de Travaux pratiques de Microbiologie, 23)</i> .....	69

## Résumé

Le présent travail est une contribution à l'étude de l'effet antibactérien de certains produits naturels « Miel d'eucalyptus (ME) et Huile essentielle d'eucalyptus (HEE) » sur trois souches bactériennes à caractère pathogène (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*). Ce travail débutera par une analyse des propriétés physico-chimiques de ME et d'HEE parmi ces propriétés étudiées: le pH, l'indice d'acide, la densité relative, l'humidité, l'acidité libre, les sucres réducteurs et la conductivité électrique. Ensuite, après une identification morphologique, biochimique, et l'antibiogramme de chaque bactérie tester. L'activité antibactérienne de l'HEE et ME a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose. Les résultats ont montré que le ME et l'HEE ont une activité antibactérienne variable contre les bactéries Gram négatif avec un diamètre de zone d'inhibition 14 mm chez *Escherichia coli* pour l'HEE et 9 et 10 mm pour le ME. La sensibilité des *Staphylococcus aureus* a marqué par une zone d'inhibition de 7,5mm a l'HEE, et de 10 et 12 mm au ME. et pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* était 13,5 mm pour l'HEE et pour le ME il avait le diamètre d'inhibition le plus faible soit 6 mm. L'activité antibactérienne d'une combinaison de ME et HE a montré une activité remarquable contre les bactéries testées, avec des zones d'inhibition allant de 11 mm à 22 mm. Tous ces résultats mettent en évidence les applications thérapeutiques de ces deux produits naturels « ME et HEE », dans la médecine traditionnelle et incitent à la recherche de nouvelles molécules naturelles aux propriétés antibactériennes, dans le but de les investir dans différentes industries : pharmaceutique, cosmétique, alimentaire, etc.

**Mots clés :** Activité antibactérienne, Bactéries pathogènes, Huile essentielle d'eucalyptus, Miel d'eucalyptus, Produits naturels, Propriétés physico-chimiques.

### Abstract

The present work is a contribution to the study of the antibacterial effect of some natural products "Eucalyptus honey (ME) and Eucalyptus essential oil (HEE)" on three bacterial strains with pathogenic character (*Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, and *Pseudomonas aeruginosa*). This work will start with an analysis of the physicochemical properties of HEE and ME. Among these properties studied: are pH, acid number, relative density, humidity, free acidity, reducing sugars, and electrical conductivity. Then, after a morphological identification, biochemical and antibiogram of each bacterium were tested. The antibacterial activity of HEE and ME was determined by the agar diffusion method. The results showed that HEE and ME have variable antibacterial activity against Gram-negative bacteria with a zone of inhibition diameter of 14 mm for *Escherichia coli* for HEE and 9 and 10 mm for ME. The sensitivity of *Staphylococcus aureus* was marked by a zone of inhibition of 7.5 mm in HEE, and 10 and 12 mm in ME. and for the bacterium *Pseudomonas aeruginosa* was 13.5 mm for the HEE and for the ME it had the weakest diameter of inhibition is 6 mm. The antibacterial activity of a combination of ME and HE showed remarkable activity against the tested bacteria, with inhibition zones ranging from 11 mm to 22 mm. All these results highlight the therapeutic applications of these two natural products, "ME and HEE", in traditional medicine and encourage the research of new natural molecules with antibacterial properties to invest them in different industries: pharmaceutical, cosmetic, food, Etc.

**Keywords:** Antibacterial activity, Pathogenic bacteria, Eucalyptus essential oil, Eucalyptus honey, Natural products, physicochemical properties.

## ملخص

هذا العمل هو مساهمة في دراسة التأثير المضاد للبكتيريا لبعض المنتجات الطبيعية «عسل الكاليتوس (ME) وزيت الكاليتوس الأساسي» (HEE) على ثلاث سلالات بكتيرية مسببة للأمراض (المكورات العنقودية الذهبية والإشريكية القولونية والزائفة الزنجارية)، سيبدأ هذا العمل بتحليل الخصائص الفيزيائية الكيميائية لـ ME و HEE من بين هذه الخصائص: الأس الهيدروجيني، ومؤشر الحمض، والكثافة النسبية، والرطوبة، والحموضة الحرة، وتقليل السكريات والتوصيل الكهربائي. بعد ذلك، بعد تحديد مورفولوجي وكيميائي حيوي ومضادات حيوية لكل اختبار بكتيريا. تم تحديد النشاط المضاد للبكتيريا من خلال طريقة انتشار الأجار. أظهرت النتائج أن عسل الكاليتوس وزيت الكاليتوس العطري لهما نشاط متغير مضاد للبكتيريا ضد البكتيريا سالبة الجرام مع منطقة تثبيط 14 ملم في الإشريكية القولونية لـ HEE و EM بين 9 و 10، بينما لم يكن هناك تأثير كبير على البكتيريا الإيجابية الجرام على العنقوديات الذهبية كان 7.5 لـ HEE ، و 10 ME و 12 ملم. للبكتيريا الزنجارية *Pseudomonas aeruginosa* ، كان 13.5 ملم بالنسبة لـ HEE ، وكان أضعف قطر للتثبيط بالنسبة لـ ME هو 6 ملم. كما أظهر النشاط المضاد للبكتيريا لمزيج من ME و HE نشاطاً ملحوظاً ضد البكتيريا المختبرة ، مع مناطق تثبيط تتراوح من 11 مم إلى 22 مم . تسلط كل هذه النتائج الضوء على التطبيقات العلاجية المختلفة لهذين المنتجين الطبيعيين

«ME and HEE» في الطب التقليدي وتشجع البحث عن جزيئات طبيعية جديدة ذات خصائص مضادة للبكتيريا، من أجل استثمارها في صناعات مختلفة: الأدوية ومستحضرات التجميل والغذاء، إلخ.

**الكلمات المفتاحية:** نشاط مضاد للجراثيم ، البكتيريا المسببة للأمراض ، زيت الأوكالبتوس العطري ، عسل الأوكالبتوس ، المنتجات الطبيعية ، الخواص الفيزيائية والكيميائية.



**Table des matières**

I.1. Introduction .....	2
Chapitre 1 : Généralités sur le miel .....	5
II.1. Origine du miel .....	5
II.1.1. À partir du nectar .....	5
II.1.2. À partir du miellat.....	6
II.2. Principale différence entre un miel de nectar et un miel de miellat.....	6
II.3. Types de miels .....	7
II.3.1. Miel unifloral .....	7
II.3.2. Miel poly floral .....	7
II.3.3. Miel Algérien .....	7
II.4. Formation et la récolte du miel .....	8
II.4.1. Formation.....	8
II.4.1.1. Transformation Chimique(emmagasinage) .....	8
II.4.1.2. Transformation physique(Maturation).....	9
II.4.2. Récolte .....	9
II.4.3. Pasteurisation .....	9
II.4.4. Emballage et étiquetage .....	10
II.4.5. Conditionnement et stockage.....	10
II.5. Composition du miel.....	10
II.5.1. Eau .....	11
II.5.2. Sucres .....	11
II.5.3. Acides organiques .....	11
II.5.4. Matière azotée.....	12
II.5.5. Protéines.....	12
II.5.6. Vitamines .....	12
II.5.7. Enzymes.....	12
II.5.8. Sels minéraux.....	13
II.5.9. Lipides .....	13
II.5.10. Composés polyphénols .....	14
II.6. Propriétés physico-chimiques du miel .....	14
II.6.1. Densité .....	14
II.6.2. Viscosité.....	14

---

II.6.3. Humidité .....	14
II.6.4. Hydroxyméthylfurfural .....	14
II.6.5. Conductivité électrique .....	15
II.6.6. Potentiel d'hydrogène .....	15
II.6.7. Acidité libre .....	15
II.7. Miel d'Eucalyptus .....	16
II.7.1. Production .....	16
II.7.2. Composition .....	17
II.7.3. Caractéristiques .....	17
Chapitre 2 : Huiles essentielles .....	18
III.1. Répartition et localisation d'HE dans la plante .....	18
III.2. Obtention des HE .....	19
III.2.1. Entraînement à la vapeur .....	19
III.2.2. Hydrodistillation .....	20
III.2.3. Expression à froid .....	21
III.3. Propriétés physico-chimiques .....	22
III.3.1. Densité .....	22
III.3.2. Indice de réfraction .....	22
III.3.3. Potentiel d'hydrogène .....	22
III.3.4. Indice d'acide .....	23
III.4. Composition des HEs .....	23
III.5. Huile essentiel d'Eucalyptus .....	25
III.6. Genre Eucalyptus en Algérie .....	26
III.6.1. Composition chimique de l'HEE .....	26
Chapitre III : Activité antibactérienne des produits naturels (HEE et ME) .....	27
IV.1. Mode d'action des antibiotiques .....	27
IV.2. Activité antibactérienne d'HEE .....	28
IV.3. Activité antibactérienne du Miel .....	30
IV.3.1. Composés à activité peroxyde .....	30
a. Peroxyde d'hydrogène (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ) .....	30
b. Composés à activité non peroxyde .....	31
Chapitre 4 : Matériel et Méthodes .....	33
V.1. Rappel sur les Objectifs .....	33
V.2. Matériel biologique .....	33

---

---

V.2.1. Produits naturels .....	33
V.2.1.1. Huile essentielle d'eucalyptus .....	33
V.2.1.2. Miel d'eucalyptus .....	34
V.2.1.3. Bactéries testées .....	34
V.2.2. Analyse Physico-Chimiques d'HEE .....	34
V.2.2.1. pH .....	34
a. Mode opératoire.....	34
V.2.2.2. Indice d'acide.....	35
a. Mode opératoire.....	35
b. Calcul.....	35
V.2.2.3. Densité relative .....	35
a. Mode opératoire.....	35
b. Calcul.....	35
V.2.3. Analyse physico-Chimiques du ME .....	36
V.2.3.1. Humidité .....	36
a. Mode opératoire.....	36
V.2.3.2. Sucres réducteurs .....	36
V.2.3.3. pH et Acidité.....	36
a. Mode opératoire.....	37
b. Calcul.....	37
V.2.3.4. Conductivité électrique .....	37
a. Mode opératoire.....	37
c. Calcul.....	37
V.2.4. Activité antibactérienne .....	38
V.2.4.1. Identification des souches collectées .....	38
V.2.4.2. Antibiogramme .....	38
V.2.1. Activité antibactérienne des produits naturels.....	39
Chapitre V. Résultats et discussion .....	42
VI.1. Caractéristiques physico-chimiques d'HEE .....	42
VI.1.1. pH.....	42
VI.1.2. Indice d'acide .....	42
VI.1.3. Densité.....	43
VI.2. Caractéristiques physico-chimiques de ME .....	43
VI.2.1. Conductivité électrique .....	44

---

---

VI.2.2. Teneur en eau .....	44
VI.2.3. Sucres réducteurs.....	45
VI.2.4. pH.....	45
VI.2.5. Identification des souches collectées.....	46
VI.2.6. Antibiogramme.....	46
VI.2.7. Activité antibactérienne.....	47
VI.2.7.1. Activité antibactérienne d’HE .....	47
VI.2.7.2. Activité antibactérienne de ME .....	49
VI.2.7.3. Activité antibactérienne d’une combinaison de ME et HE .....	52
Annexe 1 : préparation du milieux de culture. ....	66
Annexe 2 : Test catalase .....	68
Annexe 3 : Coloration de gram.....	69
Annexe 3 : Tableau de chataway .....	71
a. Annexe 4 : des images de notre travail pratique.....	73

# PARTIE I. INTRODUCTION

---

## I.1. Introduction

Le développement de la résistance microbienne est le principal souci dans la santé publique et animal. L'apparition rapide de la multi-résistance aux médicaments a donné l'alerte aux scientifiques pour qu'ils cherchent de nouveaux agents antimicrobiens ou recherchent dans le passé des remèdes anciens censés avoir une activité antimicrobienne et réévaluent leur efficacité en tant qu'antimicrobiens. L'émergence de la multi-résistance de bactéries pathogènes humaines ainsi que les effets secondaires indésirables de certains antibiotiques ont déclenché un immense intérêt dans la recherche de nouveaux médicaments antimicrobiens d'origine végétale (**Mezouar et al.,2014**). En effet, la découverte de nouvelles molécules antibactériennes joue un rôle clé dans la résolution de la crise actuelle des antibiotiques. Les produits naturels sont utilisés depuis longtemps comme médicaments populaires dans plusieurs systèmes de médecine traditionnelle (**Dai et al.,2020**).

Actuellement, les chercheurs s'orientent vers l'utilisation de plusieurs produits naturels comme alternatives pour guérir divers maux. Parmi les produits naturels, le miel occupe une place importante qu'en tant que remède magique pour une longue liste de maladies.

L'Algérie dispose d'une grande diversité floristique à laquelle s'ajoute une tradition séculaire d'utilisation traditionnelle des plantes. On compte environ 3000 espèces de plantes dont 15% sont endémiques. Ce potentiel de plantes médicinales comporte des milliers d'espèces présentant divers intérêts et constituent un axe de recherche scientifique, plus particulièrement dans le domaine des substances naturelles (**Daroui-Mokaddem, 2012**).

Le miel est un produit naturel produit par les abeilles (*Apis mellifera*) et traditionnellement utilisé comme édulcorant et à des fins thérapeutiques. Selon la matière première végétale prélevée par les abeilles, le miel se divise en deux groupes : le miellat, qui est produit à partir des sécrétions de parties vivantes de plantes ou excréments d'insectes suceurs de plantes; et s'épanouir le miel, qui est produit à partir du nectar des fleurs. Le miel d'eucalyptus est un miel unifloral important commercialisé dans le monde entier et très désiré par les consommateurs en raison des propriétés médicinales qui lui sont attribuées en raison de la plante à partir de laquelle il est produit. En général le miel d'eucalyptus a été classé comme étant riche en grains de pollen de l'eucalyptus ainsi que comme ayant des caractéristiques physico-chimiques qui, d'une certaine manière, l'ont fait se démarquer des autres miels (**Bobis et al., 2020**).

Dans le même sillage, les huiles essentielles des plantes ont trouvé leur place en aromathérapie, en pharmacie, en parfumerie, en cosmétique et dans la conservation des aliments. Leur utilisation est liée à leurs larges spectres d'activités biologiques reconnues (**Cheurfa et al.,2013**). Les huiles essentielles d'eucalyptus présentent des propriétés antibactériennes, antifongiques, analgésiques et anti-inflammatoires et ont également été largement utilisées dans les produits pharmaceutiques, alimentaires et cosmétiques (**Mulyaningsih et al.,2011**).

Dans ce contexte, l'objectif global de ce travail est d'étudier l'activité antibactérienne de Miel (ME) et huiles essentielles (HEE) d'eucalyptus sur certaines bactéries pathogènes multirésistances. Notre étude sera répartie en quatre chapitres, initiés par une recherche bibliographique : Dans le *1<sup>er</sup> chapitre* une généralité sur le miel : leur origine, type, formation et la récolte, composition, propriétés physico-chimiques, etc. a été détaillé. Ensuite dans le *2<sup>ème</sup> chapitre* des généralités sur les Huiles essentielles ont été abordé. La partie bibliographique et terminé par un *3<sup>ème</sup> chapitre*, dans lequel nous avons traité l'activité antibactérienne du miel et d'huile essentielle d'eucalyptus.

Quant au *4<sup>ème</sup> chapitre*, nous avons décrit le Matériel et le Méthodes utilisé pour réaliser cette étude. Cette dernière est achevé par un l'interprétation des principaux résultats obtenus (Chapitre 5).

**PARTIE II. SYNTHÈSE  
BIBLIOGRAPHIQUE**

---

## Chapitre 1 : Généralités sur le miel

Le mot « miel » est issu de latin, qui signifie « miel » et « douceur » apparenté au grec « *meli, melitos* » ainsi qu'au gothique « *milith* » et « *Melissa* ». Le nom de l'abeille et l'hydromel se traduit par *melition*. Le miel est ainsi étroitement lié à la notion de douceur, autant dans la littérature que dans l'esprit du consommateur (Sellami, 2014)

Le miel est la substance sucrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar et autres matières sucrées (*miellat*) qu'elles récoltent sur des végétaux vivants, enrichissent de substances provenant de leurs propres corps, transforment dans leur corps, entreposent dans les rayons et font mûrir (Belhaj et al., 2015). Le miel est défini aussi comme étant la denrée produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes. En effet, elles butinent, transforment, combinent avec des matières propres, emmagasinent et laissent mûrir dans les rayons de la ruche. Cette denrée peut être fluide, épaisse ou cristallisée » (Yahia et Yahaia, 2015).

### II.1. Origine du miel

Le miel est élaboré par les abeilles à partir de sucres produits par des végétaux, soit sous forme de nectar, soit sous forme de *miellat* (Athmani et al., 2018)

#### II.1.1. À partir du nectar

C'est la principale source des butineuses pour la fabrication du miel. Le nectar est produit par les plantes nectarifères, au niveau de tissus glandulaires spécialisés appelés *nectaires*. Le nectar des plantes a une composition qui dépend bien entendu de l'espèce florale mais aussi des conditions hygrométriques de l'air et du sol et des conditions climatiques en général. L'eau représente de 40 à 80% de sa composition. La part de sucres (7 à 60%) rend le nectar plus ou moins attractif. La nature des sucres diffère selon l'espèce végétale: il s'agit essentiellement de saccharose (chez le trèfle et le romarin), de glucose (chez le thym, le pissenlit ou la moutarde) ou de fructose (chez l'acacia). Enfin, des minéraux, des protides et lipides s'ajoutent à sa composition. La sécrétion de nectar, appelée *miellée*, dépend des conditions climatiques, du moment de la journée et du moment par rapport à la fécondation florale. Le nectar est produit en quantités importantes principalement au cours des premières heures de la matinée et en fin de journée et lorsque les pluies sont abondantes, les nuits chaudes et les journées ensoleillées. Toutefois, la sécrétion cesse en cas de fécondation

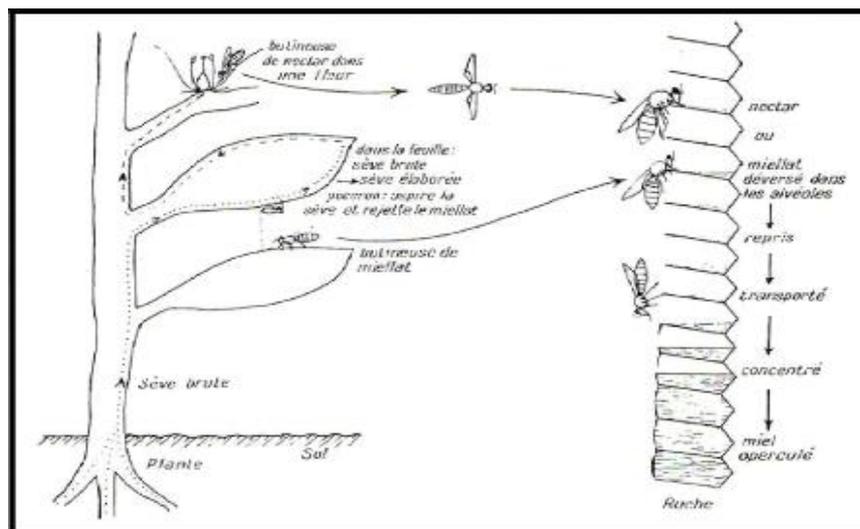
puisque la pollinisation par les insectes attirés par le nectar devient inutile (**Leshaf et Alahoum, 2018**)

### II.1.2. À partir du miellat

Il s'agit des excréments d'insectes suceurs parasites des végétaux (pucerons, cochenilles, cicadelles) qui se nourrissent de sève élaborée. Cette sève est digérée puis excrétée par les parasites sous forme de gouttelettes sirupeuses récoltées par les butineuses. La composition du miellat est plus proche de celle de la sève végétale que celle du nectar: il est plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux. On y trouve également plus de sucres complexes (qui ont été synthétisés dans le tube digestif des insectes suceurs) tels que le mélizitose et l'erlose. Lorsque le nectar abonde, les butineuses le préfèrent au miellat. Cependant, le miellat est une source alimentaire intéressante quand les conditions climatiques sont défavorables à la récolte du nectar notamment en temps sec (**Leshaf et Alahoum, 2018**).

### II.2. Principale différence entre un miel de nectar et un miel de miellat

Le miel de miellat est de couleur plus sombre et possède un goût plus prononcé que le miel de nectar, Il possède également des sucres plus complexes comme le mélizitose ou l'erlose (triholoside), Il est aussi plus riche en azote, en acides organiques et en minéraux, ces différentes caractéristiques permettent d'identifier les miels de miellats (**Bouknani et Langueure, 2020**).



**Figure 1.** Origine du miel ([https://www.memoireonline.com/03/10/3229/m\\_Etude-comparative-entre-quelques-miels-locaux-et-autres-importes2.html](https://www.memoireonline.com/03/10/3229/m_Etude-comparative-entre-quelques-miels-locaux-et-autres-importes2.html))

### II.3. Types de miels

La majorité des miels viennent d'une flore bien diversifiée. Ainsi, il est fréquent que l'ensemble des abeilles d'une même ruche visitent plusieurs espèces végétales différentes fleurissant dans leur secteur de butinage. Il résulte que les miels peuvent être définis, associés à des facteurs physico-chimiques ou organoleptiques (**Benkhaddra et Ghadbane, 2014**).

#### II.3.1. Miel unifloral

Les miels "mono-floraux" sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant d'une seule espèce végétale, ce qui nécessite d'installer les ruches à proximité de la plante recherchée. Les miels de colza et de tournesol représentent à eux seuls près de la moitié de la production française globale. Plus spécifiques, les miels d'acacia, de lavande, de romarin, de callune, de tilleul, de châtaignier, sont bien caractérisés. Enfin, des miels mono-floraux plus rares sont élaborés sur des territoires exigus : miels de cerisier, de framboisier, de serpolet, d'aubépine, de pigments et vitamines. La matrice sucrée du miel est susceptible d'influer sur la biodisponibilité des molécules qu'elle contient (**Benkhaddra et Ghadbane, 2014**).

#### II.3.2. Miel poly floral

Ce miel est élaboré à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales. Pour valoriser leur spécificité et permettre au consommateur de reconnaître leur caractère dominant, les apiculteurs indiquent leur origine géographique. Celle-ci indique soit l'aire de production (région, département, etc.), soit un type de paysage faisant référence à une flore identifiée (garrigue, forêt, etc.) (**Benkhaddra et Ghadbane, 2014**).

#### II.3.3. Miel Algérien

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.
- Hauts plateaux: miel de sainfoin, romarin et jujubier.
- Zone de montagne: Kabylie : miel de toutes fleurs, lavande, carotte sauvage et bruyère.

- Maquis et forets : miel toutes fleurs et miellat.

En 2011 l'Algérie a importé plus de 150.000 Tonne de miel de Chine, d'Inde et d'Arabie Saoudite, 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 (**Abid, 2017**).

La production de miel algérienne a augmenté rapidement avec variations en fonction des contraintes environnementales, Selon l'Institut technique des élevages (ITELV) autour 74,00 quintaux ont été produits en Algérie en 2020 (**Issaad et al., 2021**).

## II.4. Formation et la récolte du miel

### II.4.1. Formation

La fabrication du miel résulte du travail des abeilles appartenant aux Hyménoptères. Toutes collectent du nectar et du pollen. De nombreux rôles sont impartis aux abeilles à l'intérieur de la ruche comme gardiennes, ouvrières ou butineuses, etc. Chaque abeille accomplira au cours de sa vie toutes ces fonctions. La butineuse prélève le nectar secrété par des glandes dites nectarifères, ou le miellat (Que-ce soit de nectar ou de miellat. Les abeilles y ajoutent par un passage de jabot à de la transformation des sucres dans le miel. **Hamoumane et Achite, 2018**, ont cité deux types de transformation :

#### II.4.1.1. Transformation Chimique(emmagasinage)

Les modifications physico-chimiques se poursuivent dès l'arrivée à la ruche. À son retour, la butineuse régurgite, la passe aux ouvrières, qui elles-mêmes la communique à d'autres et ainsi de suite. D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sucs gastriques et de substances salivaires : invertase, diastase, et gluco-oxydase. D'autres sucres qui n'ont pas existé au départ sont synthétisés simultanément. La goutte épaissie et déversée ensuite dans une alvéole, d'où l'eau du miel s'évapore (**Djoubar et Zatout, 2019**).

#### II.4.1.2. Transformation physique(Maturation)

La solution sucrée transformée (contenant 50% d'eau) va subir une nouvelle concentration par évaporation, qui se fait sous double influence d'abord de la chaleur régnant dans la ruche qui est d'environ 36 °C, ensuite de la ventilation par le travail des ventileuses qui entretiennent un puissant courant d'air ascendant par un mouvement très rapide de leurs ailes.



***Figure 2 : Maturation du miel (<https://be-keeper.com/blog/maturation-miel/> : maturation du miel)***

#### II.4.2. Récolte

La récolte du miel peut se pratiquer dès la fin de la miellée quand la ruche est devenue très lourde (mi-avril, mi-mai). En pratique, il est conseillé de ne récolter que les rayons entièrement garnis et operculés, on peut retirer un cadre operculé au  $\frac{3}{4}$ . Il est préférable de choisir une journée calme, ensoleillée. On peut intervenir soit le matin, les butineuses sont encore nombreuses dans la ruche mais le calme règne, soit en fin d'après-midi.

Selon **Louveaux 1985**, pour avoir un miel prêt à la mise en pots il faut lui faire subir une épuration par filtration, cette dernière est efficace pour éliminer les débris de cire et les grosses impuretés elle utilise Des Filtres à mailles de 0.1 mm et exige un chauffage modéré dans le cas d'un miel visqueux (**Nakr, 2014**)

#### II.4.3. Pasteurisation

La pasteurisation consiste à porter le miel à l'abri de l'air, à une température de l'ordre de 78°C pendant 6 à 7 minutes, puis le refroidir rapidement. L'appareillage comporte

principalement des plaques chauffantes parallèles entre lesquelles le miel va circuler en lames minces. Le miel pasteurisé est à l'abri des fermentations puisque les levures ont été détruites, et il se conservera à l'état liquide pendant au moins six mois, le temps nécessaire pour qu'il ait été consommé. Elle peut augmenter très sensiblement la couleur de miel. (Hamoumane et Achite, 2018).

#### II.4.4. Emballage et étiquetage

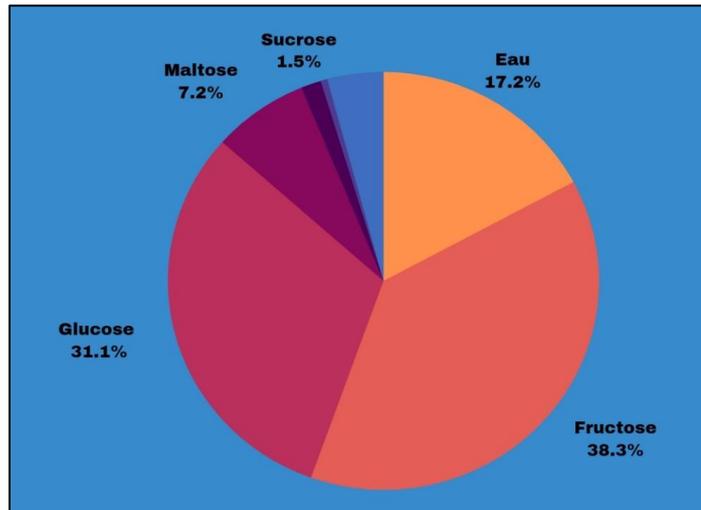
D'après **Jean-Prost (2005)**, le verre est le meilleur emballage pour le miel mais son poids sa fragilité rend visible les traînées blanches causées par les bulles d'air (**NAKR, 2014**). Il est interdit d'inscrire sur les étiquettes des pots de miel, les mots « pur », « naturel », « sain », « 100% » puisque le miel est par définition pur et sans additif. L'étiquette doit aussi mentionner l'origine florale, date, qualité nette de miel ainsi que le nom du fabricant, du conditionneur ou du vendeur et aussi le pays d'origine du miel où il a été récolté (Hamoumane et Achite, 2018).

#### II.4.5. Conditionnement et stockage

Le miel est coulé directement dans les récipients de vente. Le miel doit être mis à l'abri de l'air et de l'humidité ceci afin d'éviter certaine dénaturation et surtout des fermentations, d'où la nécessité de récipients bien remplis et hermétiquement fermés. D'après (**Huchet, 1996**). Le miel est gardé dans des locaux frais où la température ne dépasse pas 20°C. Si le miel a stocké présente un risque de fermentation, il faudra impérativement le pasteuriser ou le conserver à une température de 4 à 5°C.

### II.5. Composition du miel

La composition du miel est variable et dépend de l'origine botanique des plantes butinées ou des miellats ingérés par les abeilles. Les glucides sont les principaux constituants et représentent à eux seuls environ 95% de la matière sèche du miel. Le miel contient également de nombreux autres composants : protéines, enzymes, acides aminés, vitamines, minéraux, polyphénols, etc., sa composition moyenne a été évaluée sur un échantillon de 490 miels (**Balas, 2015**).



***Figure 3 : Composition moyenne du miel( créer par canva )***

### **II.5.1. Eau**

L'eau est l'un des composants les plus importants du miel et provient du nectar butiné par les abeilles ou sa teneur dans le miel varie entre 17% à 19%. La teneur en eau dépend de l'origine florale, des conditions climatiques et d'autres facteurs (le degré de maturation). Si la teneur en eau est supérieure à 20%, le miel risque de se fermenter rapidement (**Hamitouche et Landri, 2020**).

### **II.5.2. Sucres**

Les monosaccharides représentent environ 75% des sucres du miel, avec 10-15% de disaccharides et de petites quantités d'autres sucres. Les sucres présents dans le miel sont responsables des propriétés telles que la valeur énergétique, la viscosité, l'hygroscopicité et la granulation. La composition en sucre du miel dépend principalement de l'origine botanique du nectar butiné, de l'origine géographique, et est affecté en outre par le climat, la transformation et le stockage (**Hamitouche et Landri, 2020**).

### **II.5.3. Acides organiques**

Les miels contiennent des acides organiques (dont certains sont volatils), ainsi que des lactones. Leur provenance est diverse: certains sont issus du nectar directement, d'autres sont le fruit de réactions, enzymatiques et de fermentations. Les acides identifiés dans le miel sont: l'acide gluconique (constituant acide majoritaire, issu du glucose), les acides butyriques, l'acide acétique, l'acide formique, l'acide lactique, l'acide succinique, l'acide pro glutamique, l'acide malique et l'acide citrique. L'acidité totale est la somme des acides libres et des

lactones. Légalement, elle ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents par kg. Pour les miels destinés à l'industrie, la limite tolérée est de 80 milliéquivalents **(Bensefia et Bali, 2019)**.

#### **II.5.4. Matière azotée**

Le taux de matières azotées du miel varie de 0,2 à 2 %. Elle est principalement représentée par les acides aminés dont la proline est le plus abondant. Cet acide aminé provient des sécrétions salivaires de l'abeille durant la transformation du nectar en miel. Sa teneur renseigne sur la maturité du miel et peut servir à détecter des falsifications. Considérablement un miel arrive à maturité lorsque sa teneur en proline est supérieure à 180mg/Kg. Des valeurs plus basses indiquent un manque de maturité ou une falsification **(Hamitouche et Landri, 2020)**.

#### **II.5.5. Protéines**

La teneur en protéines du miel varie selon les espèces d'abeilles. Le miel *d'Apis cerana* contient de 0,1% à 3,3% de protéines, tandis que le miel d'*Apis mellifera* contient entre 0,2% et 1,6% protéine, ces dernières et les acides aminés dans les miels sont attribués à la fois aux sources animales et végétales, y compris les sécrétions des glandes salivaires et du pharynx des abeilles, mais la principale source de protéines est le pollen. L'acide aminé le plus abondant dans le miel et le pollen est la proline, ce dernier provient principalement des sécrétions salivaires des abeilles (*Apis mellifera* L.) lors de la conversion du nectar en miel. Dans le miel, la proline représente un total de 50 à 85% d'acides aminés **(Hamitouche et Landri, 2020)**.

#### **II.5.6. Vitamines**

Le miel contient quelques vitamines en quantités négligeables (généralement mesurables en tant que microgrammes par 100 g de miel prélevé). Ces vitamines comprennent le groupe B (B1, B2 et B6) et les composés suivants : vitamine C, PP, K, acide pantothénique, et la vitamine P.

#### **II.5.7. Enzymes**

Les enzymes sont les constituants les plus importants du miel, les miels de miellats contiennent également les enzymes des homoptères qui ont rejetés ces

miellats. Les plus connues sont la gluco-invertase qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides, les amylases alpha et bêta (couramment appelée diastases) qui permettent la dégradation de l'amidon, une catalase, une phosphatase et une glucose-oxydase qui transforme le glucose en acide gluconique et en peroxyde d'hydrogène. Ces enzymes sont sensibles à un apport d'énergie (une température trop élevée ou l'influence de la lumière), elles se décomposent au fur et à mesure que se forme l'Hydroxyméthylfurfural (HMF). Leur présence ou leur absence peut servir d'indicateur pour déterminer les détériorations dues au stockage et au sur chauffage (**Bara et Bechar, 2014**).

### II.5.8. Sels minéraux

Les matières minérales sont présentes en moyenne de 0,04 à 0,2% pour les miels les plus courants, mais sont plus abondants dans les miels les plus foncés. Les miels de miellats sont plus riches en sels minéraux que ceux de fleurs. Les sels de potassium représentent à eux seuls près de 50% des cendres. Les éléments les mieux présentés dans le miel en dehors du potassium sont : le calcium, le sodium, le cuivre, le magnésium, le chlore, le soufre, le silicium, le fer ainsi que plus de trente oligo-éléments, qui n'existent qu'à l'état de traces, sont trouvés dans le miel.

Leur teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel elles poussent. Bien qu'habituellement considéré comme un produit relativement « propre », le miel peut contenir des polluants présents en très faible quantité, comme le plomb et le cadmium. Le dosage de ces polluants constitue un bon indicateur de la pollution de l'environnement (**Bara et Bechar, 2014**).

### II.5.9. Lipides

Très faiblement présents, il s'agit majoritairement des stérols (cholestérol libre ou estérifié notamment dans le miel de tournesol), des triglycérides ou des acides gras. Leur présence pourrait être expliquée par les besoins importants du métabolisme des abeilles en lipides. Ces composés vont donner une couleur caractéristique à chaque miel. On trouve parmi eux les caroténoïdes ou les flavonoïdes. Les flavonoïdes (pinocembrine, galangine, quercitrines, lutéoline ou kaempférol) font partie du groupe des poly phénols et vont également jouer un rôle d'antioxydant et d'anti-radicalaire (**Hamoumane et Achite, 2018**).

### **II.5.10. Composés polyphénols**

Les polyphénols constituent un groupe de composés importants en ce qui concerne l'aspect du miel mais également ses propriétés fonctionnelles. Les polyphénols contenus dans le miel sont principalement les flavonoïdes (acide caféique, acacétine, quercétine, lutéoline, kaempférol, apigénine, chrysin, galangine, pinocembrine), les acides phénoliques, et les dérivés des acides phénoliques (**Balas, 2016**)

## **II.6. Propriétés physico-chimiques du miel**

### **II.6.1. Densité**

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre [1,40 et 1,45] g/cm<sup>3</sup>. Fondamentalement, la densité d'une substance est exprimée comme le rapport entre le poids et volume pour une température constante. Depuis la densité de l'eau, égale à 1 kg/l, est beaucoup plus faible, plus de l'eau, plus la densité du miel est faible. En conséquence, la quantité d'eau dans le miel peut être approximativement déterminée au moyen d'une mesure de densité simple (**Ettore Baglio, 2018**).

### **II.6.2. Viscosité**

La viscosité cinématique est la résistance à la déformation du miel en écoulement, elle est l'une des caractéristiques physiques la plus significative, car elle affecte la qualité du produit. Elle est influencée par la température, l'humidité et la teneur en glucides. La viscosité de certains miels Algériens varie de (1,12 à 8.98 mPa.s).

### **II.6.3. 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%. La faible teneur en humidité protège le miel de la contamination microbiologique et donc il peut être conservé pendant des périodes plus longues.

### **II.6.4. Hydroxyméthylfurfural**

L'HMF est un dérivé de déshydratation des sucres ; qui apparaît par réaction chimique naturelle lors du vieillissement ou du chauffage des miels affirme que plus la température

augmente plus un miel contient d'HMF et les voies de ces enzymes disparaître. D'ailleurs, les températures élevées ont sur le miel un effet assez semblable à celui du vieillissement. Les basses températures ont, au contraire, un effet de protection contre le vieillissement par blocage des réactions enzymatiques et chimiques. La formation de ce composé est le résultat de la déshydratation d'hexose particulièrement dans des milieux acides, ou par réaction de Maillard. la commission des normes du Codex Alimentarius a fixé la limite maximale de HMF dans le miel à 40 mg/kg (avec une limite supérieure de 80 mg/kg pour les miels provenant de régions tropicales) (Shapla et al.,2028)

### II.6.5. Conductivité électrique

La conductivité électrique est le paramètre de qualité principal pour le miel représente la capacité d'un corps à permettre le passage du courant électrique. Elle est exprimée en Siemens par centimètre (S/cm). Selon leur origine florale, les miels ont une conductivité variable. D'une manière générale, les miels de miellat conduisent beaucoup mieux le courant que les miels de fleurs (Boue Kouanou et al., 2020). Selon le Codex Alimentarius (Codex Alimentarius, 2001) ne dépasse pas au 0.8mS/cm.

### II.6.6. Potentiel d'hydrogène

Le pH d'un miel est fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme ainsi que de sa composition minérale (Boue Kouanou et al., 2020), le pH du miel est acide, il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone. Les miels de nectar, très acides, ont un pH compris entre 3,5 et 4,5. Les miels de miellats, moins acides, ont un pH supérieur à 4,5. Le pH du miel est suffisamment bas pour ralentir ou empêcher la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes.

### II.6.7. Acidité libre

L'acidité est un critère de qualité important. La fermentation du miel provoque une augmentation de l'acidité dans le miel, c'est pourquoi une valeur maximale est très utile, bien qu'il existe une fluctuation naturelle considérable. Le miel est toujours acide ; Il influence fortement la vitesse de dégradation des sucres et des enzymes, elle est plus rapide pour un pH faible (3,5-4,0) que pour un pH élevé (4,0 5,0) Le dosage de l'acidité libre des échantillons du miel est réalisé par la méthode de titrage au point d'équivalence. L'acidité libre est exprimée en meq.kg<sup>-1</sup>.

## II.7. Miel d'Eucalyptus

Le miel d'eucalyptus est produit massivement en Australie et à moindre échelle dans de nombreux pays méditerranéens tels que l'Espagne, l'Italie, le Liban, la Tunisie, l'Algérie et le Maroc. Il est de couleur orangée à nuance ocre jaune ambré dont les arômes pénétrants sont très faciles à identifier. Sa saveur est tout à fait caractéristique. (Moujanni, 2017)

Le miel d'eucalyptus est un miel mono floral commercialisé dans le monde entier et très recherché par les consommateurs en raison de ses fonctions biologiques, principalement attribuées à son origine végétale. Il a été décrit comme un miel avec des effets bénéfiques appropriés, tels que les propriétés antibactériennes. En effet, le pouvoir antibactérien et antibiofilm du miel d'eucalyptus a été largement signalé. Les scientifiques ont testé son efficacité contre plusieurs micro-organismes (Gram-positif, Gram-négatif et levure (Proano et al., 2021).

### II.7.1. Production

Produit à partir du nectar d'*Eucalyptus globulus*, trouvé en Australie, Californie, Brésil et Afrique du Sud. Il est largement disponible (Rabia et al, 2020).



***Figure4. Feuilles d'eucalyptus globulus***

**(<https://www.lepeupledacote.com/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/>)**

### II.7.2. Composition

Ce Miel se cristallise moins vite car la concentration de fructose est un peu plus élevée que la glycémie. Il possède une saveur herbacée caractéristique et un léger arrière-goût de menthol et cette saveur peut être due aux hydroxyacétone, composés aliphatiques, composés soufrés, isoprénoides, cétones, alcanes et monoterpènes. Il est riche en vitamine C et vitamine B9 par rapport aux autres types. Encore minéral le contenu est moindre. Il contient de l'enzyme diastase mais moins que le miel de sarrasin. Il est riche en protéines (0,91 à 1,24 /g de miel) et riche en acides gentisiques et en acide protocatéchique. ( **Rabia et al, 2020**).

### II.7.3. Caractéristiques

Le miel d'Eucalyptus est de couleur ocre jaune foncé. Sa consistance est assez épaisse à cristallisation assez fine. Le miel marque une odeur forte et piquante, sa saveur est très relevée, peu agréable avec une certaine âcreté et un arrière-goût légèrement amer (**Patricia, 2011**). Considérés comme des miels foncés, par rapport aux productions européennes, les miels d'eucalyptus ont une couleur beige à brun. Ils présentent une cristallisation rapide à grains fins, très dense. Du point de vue sensoriel, ils sont à odeurs complexes de type végétal (champignon sec) à caramel doux, moyennement à assez persistantes les miels d'eucalyptus sont en général, riches en pollen (**Ramaro manana, 2012**).

**Tableau 1** : Propriétés physicochimiques du miels de Eucalyptus des régions Subhumides et zones semi-arides en Algérie (**Makhloufi et al.,2021**)

Paramètres	<i>Eucalyptus sp.</i>
Teneur en eau (%)	17,24 ± 1,8
Fructose (%)	39,58 ± 2
Glucose (%)	32,34 ± 0,96
Saccharose (%)	1,82 ± 0,8
pH	3,97 ± 0,13
Conductivité électrique (mS/cm)	0,35 ± 0,08
Acidité libre (meq/Kg)	16,85 ± 4,7
Teneur en HMF (mg/Kg)	7,84 ± 2,5

## Chapitre 2 : Huiles essentielles

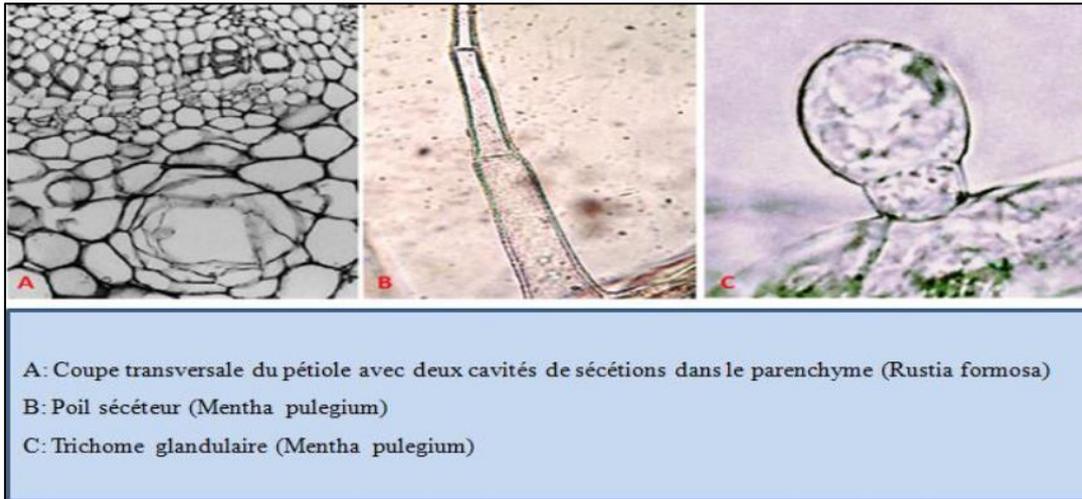
Les huiles essentielles (HE) sont des substances aromatiques, volatiles, non grasses qui sont extraites de plantes sous forme liquide (**Couic-Marinier et Lobstein, 2013**). Les plantes aromatiques sont synthétisées sous forme de métabolites secondaires (**Bakkali et al., 2008**). La plupart des plantes contiennent des huiles essentielles, mais généralement en très petites quantités. Seules les plantes dites "aromatiques" en produisent des quantités suffisantes (**Haberkorn, 2007**). Ces dernières fabriquent des huiles essentielles pour se protéger, se soigner, Auto cicatrisantes : elles leur servent à attirer les insectes pollinisateurs, à se protéger des brûlures Soleil ou froid, prédateurs et maladies, guérissent enfin (blessure, maladie, Attaques diverses, etc.) (**Festy, 2011**).

De nombreux procédés sont utilisés pour extraire ces substances : la distillation à la vapeur est le processus le plus courant dans l'industrie des arômes. Le choix de la technologie dépend principalement de la matière première. Cette condition de sélection dépend des propriétés des HE, notamment : viscosité, couleur, solubilité, volatilité, enrichissement ou appauvrissement de certains composants (**Haddouchi et Benmansour, 2008 ; AFSSAPS, 2008**).

### III.1. Répartition et localisation d'HE dans la plante

L'HE peut s'accumuler dans tous les types d'organes végétaux, tels que Fleurs (orange, rose, lavande) et feuilles (citronnelle, eucalyptus, laurier) noble) bien qu'il soit moins commun, on le trouve dans l'écorce (cannelle), le bois (bois rose, camphre, bois de santal), racine (vétiver), rhizome (curcuma, gingembre), fruit Graines (fenouil, badiane, persil), graines (noix de muscade) (**AFSSAPS, 2008**).

La biosynthèse et l'accumulation des molécules aromatiques sont généralement Associées à la présence de structures histologiques spécifiques. Ces structures sont généralement Sur ou à proximité des surfaces végétales, elles varient d'une maison à l'autre Plantes, poils exocrines des familles Lamiaceae et Pelargonium, cellules Sécritions de Lauracées, Magnoliacées et Pipéracées, poches sécrétoires Dans le cas des Myrtacées et Aurantacées, ainsi que les canaux sécrétoires des Ombellifères et Conifères (**Haddouchi et Benmansour, 2008**).



***Figure 5 : Diversité des structures de sécrétion des huiles essentielles par les plantes aromatiques (Vieira et al.,2001; Karray-Bouraoui et al.,2009).***

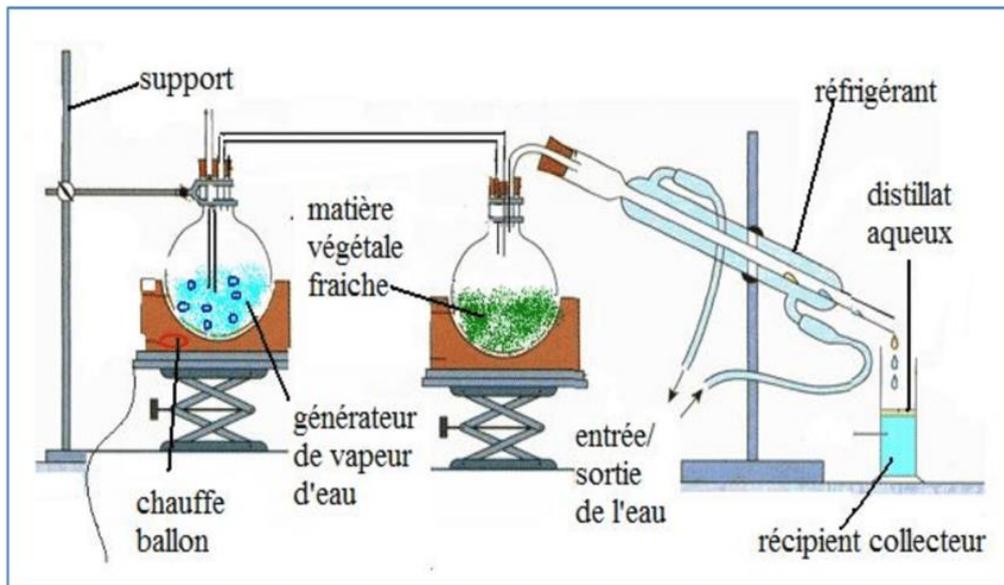
### III.2. Obtention des HE

L'extraction des huiles essentielles est un processus complexe et délicat dont le but est d'obtenir le produit le plus volatil produit par la plante sans altérer sa qualité. Selon le matériel végétal primaire, différentes méthodes peuvent être utilisées pour extraire les huiles essentielles (Boukhatem et al., 2019).

#### III.2.1. Entraînement à la vapeur

La distillation à la vapeur ou hydrodistillation fait partie des méthodes recommandées par la Pharmacopée Européenne, car il n'y a pas de contact direct entre l'eau et les molécules aromatiques, ce qui minimise les phénomènes de dégradation et d'hydrolyse pouvant affecter la qualité de l'huile essentielle (Boukhatem et al., 2019).

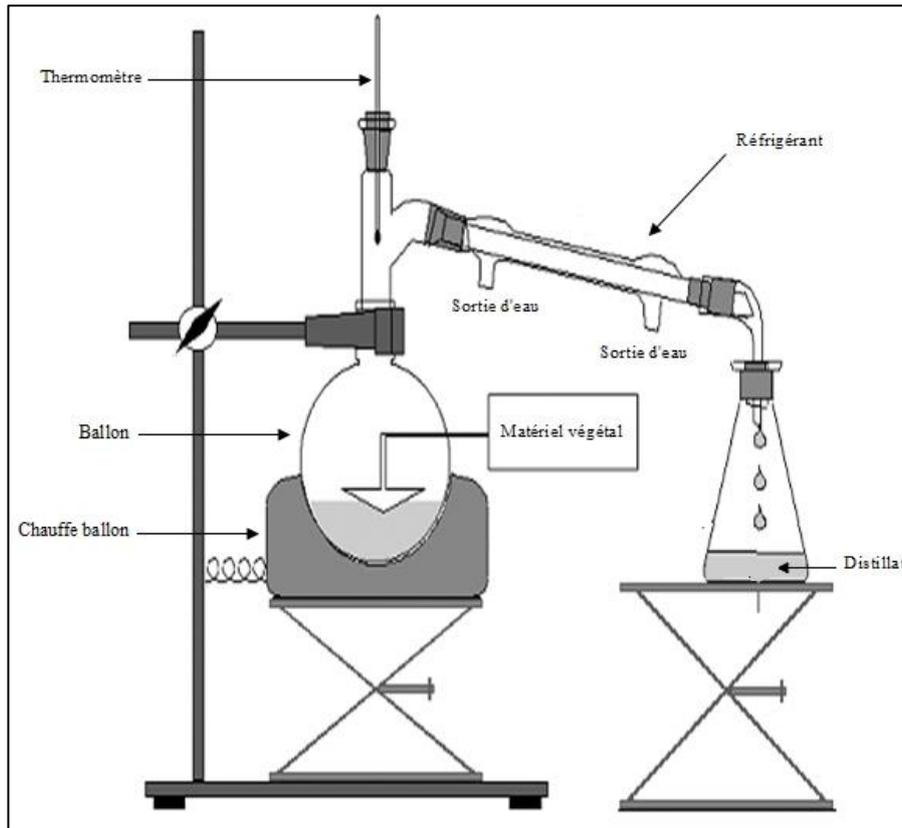
Sous l'action de la chaleur, l'eau se transforme en vapeur et traverse la matière végétale sans imprégnation préalable. La vapeur d'eau dissout les composés volatils, qui sont ensuite acheminés vers le système de refroidissement. L'échange de chaleur entre l'eau froide et la vapeur d'eau chargée d'huiles essentielles rend cette dernière au niveau de l'essencier. Ainsi, au niveau du parfum, le produit de la distillation se divise en deux phases distinctes : hydrolat ou eau florale et HE. L'HE la moins dense flotte dans l'eau florale, tandis que cette dernière est plus dense et tombe au fond.



**Figure 6 :** Montage d'entraînement à la vapeur ( Mohamed 2010 )

### III.2.2. Hydrodistillation

L'hydrodistillation consiste à immerger la matière végétale broyée ou entière dans un flacon d'eau distillée puis à faire bouillir le mélange. Les vapeurs hétérogènes des ballons se condensent sur les surfaces froides, les huiles essentielles sont séparées de l'eau florale par des différences de densité (Bruneton, 2009). Ce procédé présente certaines limites : cette technique n'est pas adaptée à la distillation des fleurs, les fleurs sont fragiles, et ne supporte pas l'hydrodistillation ni l'entraînement à la vapeur. Un chauffage puissant et prolongé peut endommager certaines plantes et altérer certaines molécules aromatiques. Contact direct avec l'eau ainsi que les stimuli d'acidité et de haute température dégénérer comme l'hydrolyse des esters, isomérisation, racémisation, oxydations, etc. Ce qui fait que le produit final de la distillation est, le plus souvent, différent de l'essence contenue dans le végétal (Boukhatem et al., 2019).



**Figure 7 :** *Appareil d'extraction des huiles essentielles type Clevenger (Azzeddine, 2010)*

### III.2.3. Expression à froid

Le pressage à froid est destiné à extraire les arômes volatils contenus dans les fruits, notamment les agrumes. Ce processus peut se faire de plusieurs manières, le principe commun étant que la surface du fruit est soumise à une action mécanique, qui peut déchirer la peau et perturber les poches sécrétoires, puis restituer l'essence libérée par un mécanisme physique. L'une de ces techniques consiste à appliquer une action abrasive à la surface du fruit, l'ensemble étant affecté par l'écoulement de l'eau. Après élimination des déchets solides, l'essence est séparée de l'eau florale par centrifugation (**Bruneton, 2009**) Actuellement, le pressage à froid est presque effectué par des machines hautes performances telles que les entreprises de machines alimentaires de la série FMC, ce qui permet d'extraire le jus et l'essence presque simultanément sans qu'il soit nécessaire que les deux entrent en contact (**Boukhatem et al., 2019**).



***Figure 8 : Machine à expression à froid (a) grattage des épicarpes d'agrumes (b): machine à extraction par expression à froid des huiles essentielles d'agrumes (Meissa et anfel, 2020)***

### III.3. Propriétés physico-chimiques

Les HEs sont des composés d'odeur forte, différentes des huiles fixes à cause de leur volatilité. Elles sont liquides à température ambiante, très peu solubles dans l'eau, solubles dans l'alcool et les solvants organiques (chloroforme, le benzène, l'éther de pétrole, etc.). (Deschepper, 2017).

#### III.3.1. Densité

La densité ou la masse volumique est une grandeur physique qui caractérise la masse d'un matériau par unité de volume, donc c'est le rapport du poids d'un certain volume d'un corps et le poids du même volume d'un corps de référence (eau).

#### III.3.2. Indice de réfraction

L'indice de réfraction d'une HE est le rapport entre le sinus de l'angle d'incidence et le sinus de l'angle de réfraction d'un rayon lumineux de longueur d'onde déterminée, passant de l'air dans l'huile essentielle maintenue à une température constante (AFNOR, 2000).

#### III.3.3. Potentiel d'hydrogène

Le pH mesure l'activité chimique des ions hydrogènes  $H^+$  (appelés aussi protons) en solution, le pH mesure l'acidité ou la basicité d'une solution. Il s'agit d'un coefficient permettant de savoir si une solution est acide, basique ou neutre.

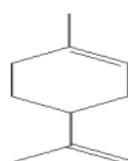
### III.3.4. Indice d'acide

C'est le nombre de mg de KOH nécessaire pour la neutralisation des acides libres contenus dans 1 g d'huile essentielle. La teneur en acides libres des corps gras augmente avec le temps, l'indice d'acide permet donc de juger de l'état de détérioration d'une huile essentielle (Mohamdi et al., 2005).

### III.4. Composition des HEs

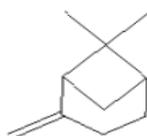
Les HE sont des mélanges complexes et divers composés de Structure chimique et fonction très diverses. Généralement, ces composés sont divisés en Deux groupes : les hydrocarbures terpéniques et les composés oxygénés. Les terpénoïdes sont largement présents dans l'HE, ils sont composés de Multiples impairs ou pairs d'unités 2-méthylbut-1,3-diène, également appelées isoprène. Par conséquent, une distinction peut être faite en fonction du nombre de carbones qui composent le groupe de molécules : les monoterpènes (C 10), les sesquiterpènes (C 15) et plus rarement les diterpènes (C 20), Triterpènes (C 30) et Tétraterpènes (C 40). C'est parce que les terpènes Issu de l'isoprène, ils sont également appelés isoprénoïdes ou terpénoïdes. Suite Strictement parlant, le terme "terpénoïde" définit tous les terpènes oxygénés et non oxygénés, donc le terme « terpène » ne tient pas compte de la présence d'oxygène. Les terpènes que l'on retrouve le plus souvent dans les huiles essentielles sont les terpènes les plus volatils, c'est-à-dire ceux à faible poids moléculaire comme les mono et les sesquiterpènes.

#### Monoterpènes

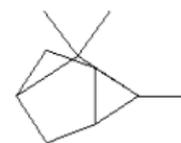


**Limonène**  
Odeur fraîche  
rappelant l'orange

#### Hydrocarbures

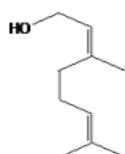


**α-pinène**  
Odeur de pin

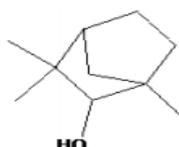


**Tricyclène**  
Présent dans beaucoup  
d'huiles essentielles

#### Alcools

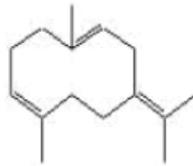


**Nérol**  
Odeur agréable de rose



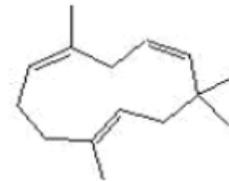
**Endo-fenchol**

**Sesquiterpènes**



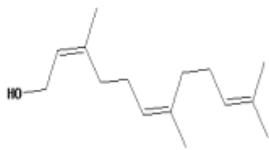
**Germacrène B**

**Hydrocarbures**

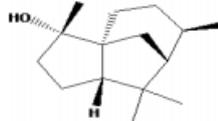


**α-Humulène**

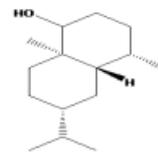
**Alcools**



**Cis-Cis-Farnésol**

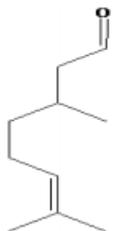


**Cédranol**

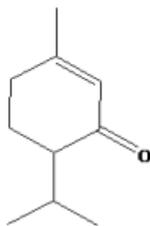


**Eudesmol**

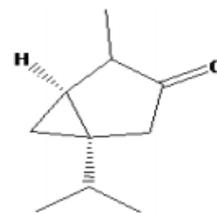
**Aldéhydes et cétones**



**Citronellal**  
Odeur fraîche  
de citronnelle

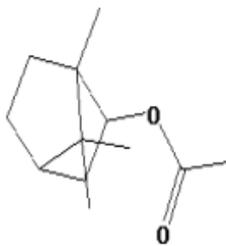


**Pipéritone**  
Odeur de menthe  
poivrée



**Cis-Thujone**

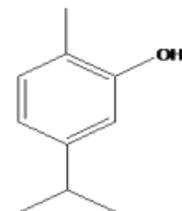
**Esters, éthers et phénols**



**Acétate de Bornyle**



**1,8-cinéole**  
Odeur typique de  
*Eucalyptus globulus*



**Carvacrol**  
odeur de thymol présent  
dans certains origans

**Figure 9 : Exemples de structures de terpènes**

### III.5. Huile essentiel d'Eucalyptus

La famille des Myrtacées regroupe des plantes dicotylédones. Ce sont des arbres et des arbustes producteurs d'huile aromatiques poussant principalement en Australie. Le genre *Eucalyptus* appartient à cette famille (**Bruneton, 1999**). Originaire d'Australie, l'*Eucalyptus* est l'un des principaux genres forestiers plantés dans le monde, il compte environ 600 à 700 espèces et variétés (**Warot, 2006**). Possédant une exceptionnelle capacité d'absorber l'eau du sol sur lequel il croît, l'*Eucalyptus* assèche rapidement les marais qu'il colonise. Il élimine ainsi les milieux de reproduction des insectes qui transmettent la malaria, d'où le nom « d'arbre à la fièvre » ou « Australian Fever tree ». Il est également connu sous le nom de : gommier bleu ; arbre au Koala et huile de respiration.

Le nombre d'espèces d'*Eucalyptus* introduites dans différents pays est supérieur à 150, moins d'une trentaine sont exploitées de façon significative en plantation et quatre espèces (*E. camaldulensis*, *E. globulus*, *E. tereticornis* et *E. grandis*) occupaient, à la fin des années quatre-vingt, plus de la moitié des surfaces plantées (**Eldridge et al., 1993**).

La répartition de la plante compose plus de 90% de forêts naturelles. On trouve ce genre également en Tasmanie (île d'Océanie au sud-est du continent australien) et dans les îles indonésiennes. Le genre est très vaste puisqu'on en dénombre plus de 600 espèces (**Melun, et al., 2011**).

**Etymologie** « Eu » est un préfixe d'origine grecque et signifiant « bien » et «*Kalyptos*» veut dire «couverture». Le nom générique signifie donc : « bien couvert », car les pétales et sépales sont soudés

#### **Nom commun**

- Gommier bleu fait allusion à la gomme résineuse qu'ils exsudent quand ils sont blessés.
- Arbre à fièvre dans les régions où ils sont plantés en prévention du paludisme (**Mekelleche, 2015**).

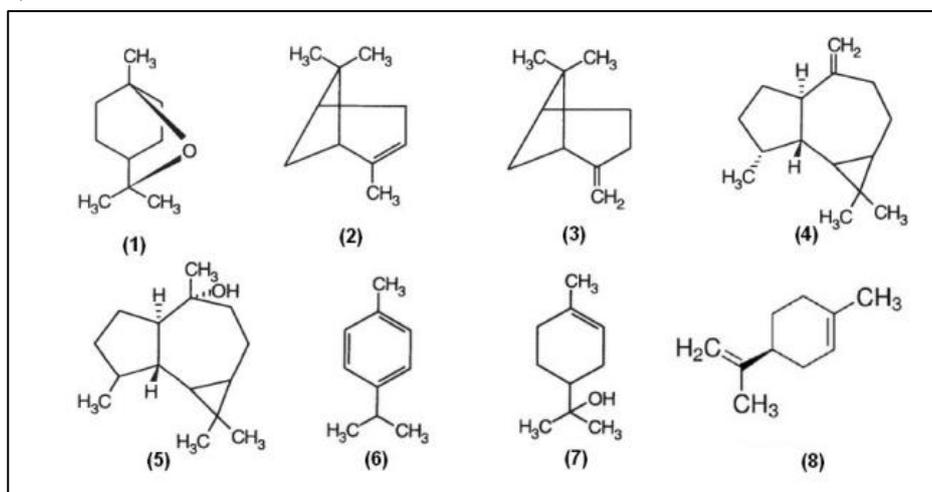
### III.6. Genre *Eucalyptus* en Algérie

Son introduction en Algérie fut par les français en 1860. L'espèce pionnière semble être *E. camaldulensis*, mais d'autres espèces furent introduites dans des placettes d'essais notamment dans la région d'Alger. Cette zone d'introduction a été tellement favorable qu'on a assisté à des croisements naturels qui ont donnés des hybrides dont l'*Eucalyptus algériensis*. Dans les années 40 et 50 les Eucalyptus furent introduits dans 18 arboretums couvrant les étapes bioclimatiques humides et semi-arides. Pendant les années 60 à 70, les reboisements à base d'Eucalyptus ont concerné notamment l'Est (El-Kala, Annaba, Skikda), le centre (Tizi-Ouzou, Baïnem ) et l'Ouest (Mostaganem) et ceci afin de répondre aux besoins nationaux en produits ligneux et papetiers (Nait Achour, 2012).

**Noms vernaculaires :** Calitouss « le nom le plus connue en Algérie », on a aussi : *Calibtus* et *Kafor*, ces noms sont utilisés dans différentes régions d'Algérie.

#### III.6.1. Composition chimique de l'HEE

La composition chimique varie en fonction de différents facteurs biotiques et abiotiques. Or, certains constituants restent quasiment toujours présents, mais à des taux variables. Les constituants majoritaires les plus caractéristiques sont : Le 1,8-cinéole ou Eucalyptol (1),  $\alpha$ -pinène (2),  $\beta$ -pinène (3), aromadendrène (4), globulol (5), p-cymène (6),  $\alpha$ -terpinéol (7) et parfois le limonène (8) (Curir et al., 1995 ; Goldbeck et al., 2014 ; Luis et al., 2015 ; Boukhatem et al., 2017). Leurs structures chimiques sont montrées dans la figure (10), ci-dessous :



**Figure 10 :** Structures chimiques des composants majoritaires de l'HEE

### Chapitre III : Activité antibactérienne des produits naturels (HEE et ME)

La résistance aux antimicrobiens est un problème mondial de santé publique qui s'aggrave avec le temps, comme les infections causées par des micro-organismes résistants, dans de nombreux cas, ne répondent aux traitements, ce qui peut augmenter les coûts hospitaliers et augmenter le risque de décès. Les produits naturels ont servi de puissants agents thérapeutiques contre les bactéries pathogènes et sont toujours les piliers de la découverte de nouveaux antibiotiques (**Dai et al., 2020**).

Dès la naissance, l'homme est exposé à des microbes qui vont peu à peu coloniser le mucus qui recouvre sa peau. Il existe de nombreuses façons de lutter contre ces micro-organismes et on peut distinguer grossièrement 3 groupes : les barrières anatomiques, les mécanismes de résistance naturelle et l'immunité acquise (**García-Ruiz et al., 2008**).

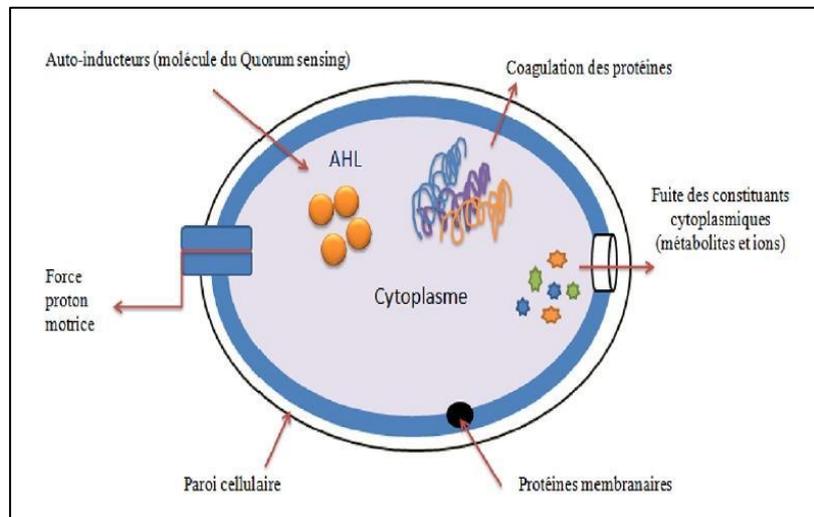
Le traitement des infections bactériennes repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques. La prescription massive et parfois inappropriée de ces agents conduit à sélectionner des souches multirésistantes, orientant ainsi la recherche vers l'importance de découvrir de nouvelles voies qui constituent des sources d'inspiration pour de nouveaux médicaments à base de plantes (**Jürgen et al., 2009**).

#### IV.1. Mode d'action des antibiotiques

Éliminer les micro-organismes pathogènes à l'aide de substances appelées : antibiotiques. Ceux-ci sont synthétisés par des micro-organismes. Ils ont la capacité de détruire les bactéries (effet bactéricide) ou d'inhiber leur croissance (effet bactériostatique) (**Elghozi, 1992**). Le traitement des infections bactériennes repose principalement sur l'utilisation d'antibiotiques qui détruisent les bactéries en s'attaquant directement à leurs structures de base (paroi cellulaire et membrane plasmique), en inhibant la synthèse des protéines et des acides nucléiques, en inhibant certaines voies des processus métaboliques bactériens, et en perturbant ainsi leur fonction (**Tenover, 1999**).

#### IV.2. Activité antibactérienne d'HEE

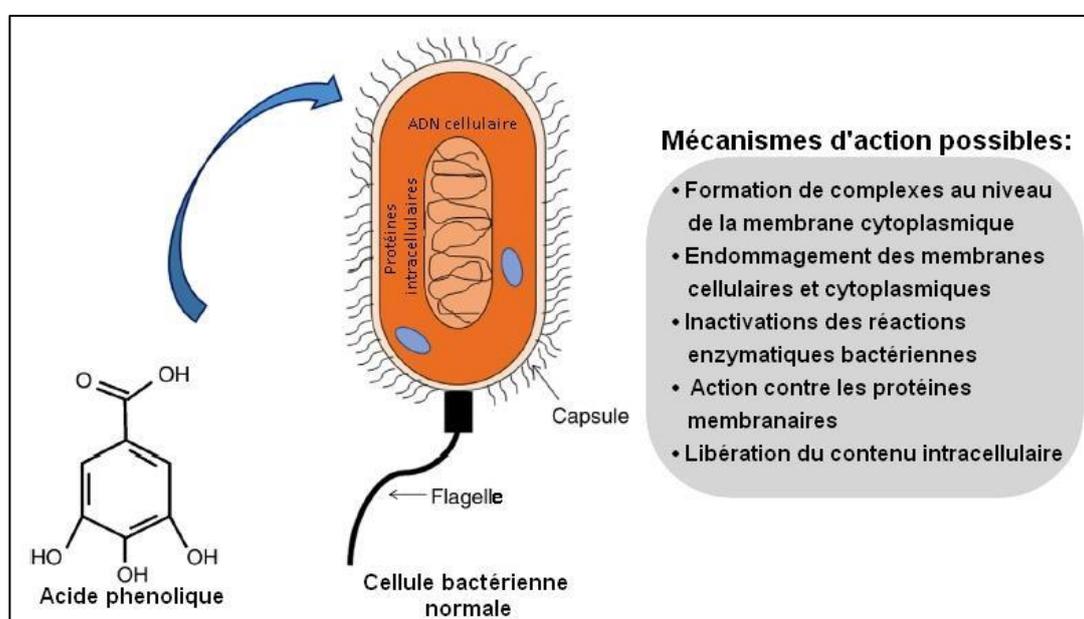
L'HE agit non seulement localement sur les bactéries mais également sur différents sites cellulaires (**Bajpai et al., 2013**). Ils peuvent affecter la morphologie bactérienne, les mécanismes de régulation et certaines de ses structures spécifiques (**Bouyahya et al., 2017**). Cet effet antibactérien peut dépendre de la composition chimique des HEs (**Swamy et al., 2016**) et est attribué à la présence de la plupart des composés phénoliques et des terpènes (**Saad et al., 2013**). L'HE agit principalement au niveau de la paroi cellulaire bactérienne, mais peut également affecter les protéines, les acides gras membranaires, affecter la détection du quorum (la capacité des bactéries à détecter et à répondre aux molécules de signalisation) et la production d'ATP (**Bouyahya et al., 2017**).



***Figure 11 : schéma représentant les différents sites d'action des huiles essentielles au niveau d'une cellule bactérienne (Bouyahya et al., 2017)***

En effet, la décomposition et la dégradation de la membrane cellulaire des bactéries par les composés phénoliques perturbent la membrane cytoplasmique, entraînant la libération de molécules intracellulaires, l'épuisement de la force motrice forte, la réduction de la production d'ATP et la coagulation du cytoplasme (**Wong-Paz et al., 2017**).

Quant aux terpènes, leur lipophile leur permet d'incorporer la membrane cellulaire, changeant sa structure, augmentant sa fluidité et sa perméabilité, qui conduit à un dysfonctionnement des membranes, telles que la rupture de la chaîne respiratoire (**Paduch et al. et al., 2007**). Les HE peuvent également affecter la biosynthèse des lipides en attaquant Augmente la quantité d'acides gras pour les enzymes responsables de leur production Acides gras saturés en C16 et C18 et acides gras insaturés en C18 réduits (**Di Pasqua et al., 2007**). En termes de protéines, l'HE contenant du cinnamaldéhyde peut bloquer la division cellulaire en inhibant l'assemblage du complexe FtsZ L'anneau Z chez *Bacillus cereus* (**Bouyahya et al., 2017**). Les quelques composés des huiles essentielles jouent également un rôle dans l'activité antibactérienne et, dans certains cas, se synergisent même avec les principaux composants et amplifient leurs effets (**Bajpai et al., 2013**).



**Figure 12** : Schéma représentant le mécanisme antibactérien des composés phénoliques (**Wong-Paz et al., 2017**)

L'HE d'Eucalyptus renferme une grande quantité de terpènes, accumulés et distribués sur la totalité du parenchyme foliaire et de l'écorce (**Ghalem et Benali, 2008**). Le monoterpène 1,8-cinéole, est sans doute le composé le plus présent et le mieux mis en évidence. Or, l' $\alpha$ -terpinol a montré une activité huit fois supérieure à ce dernier contre *Staphylococcus aureus* (**Ghalem et Benali, 2008**). L'huile d'Eucalyptus, en particulier, s'est avérée efficace sur plusieurs bactéries, notamment : *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Streptococcus pneumoniae* (**Cermelli et al., 2007**). Dans une autre étude, l'HE a inhibé significativement la croissance de *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* (**Mohd, 2019**), *Escherichia coli*,

*Bacillus subtilis*, *Listeria innocua* (Bey-ould si said et al., 2016). Pour ce qui est des BMRs, l'huile d'Eucalyptus a exercé une inhibition marquée contre les *Staphylococcus aureus* résistants à la Méthicilline (SARM) et *Enterococcus faecalis* résistant à la Vancomycine (ERV) (Mulyaningsih et al., 2010). Cette activité microbienne est attribuée à l'aromadendrene, composé ayant un groupement méthyle exocyclique et un cycle cyclopropane qui peut alkyler les protéines et donc, détruire leur conformation. De plus, comme le composé est hautement lipophile, il peut perturber la fluidité et la perméabilité des biomembranes (Mulyaningsih et al., 2011).

### IV.3. Activité antibactérienne du Miel

Le miel obtenu à partir de plusieurs sources végétales montre une action antimicrobienne intense, l'activité antimicrobienne du miel a été considérée comme l'une de ses propriétés biologiques les plus pertinentes (Bobis et al., 2020), il peut agir comme agent bactériostatique ou bactéricide selon la concentration utilisée.

Plusieurs agents pathogènes ont été prouvés sensibles aux miels. Nous citerons par exemple : *Bacillus anthracis*, *Escherichia coli*, (diarrhées, septicémie, infections urinaires, infection des brûlures), *Proteus spp.* (Tuberculose), (brûlure).

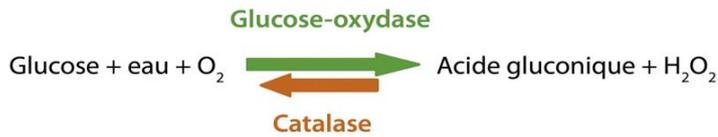
L'action sur ces microorganismes peut être directe par l'élimination directe des pathogènes par le miel principalement les bacilles gram positifs, soit par action indirecte avec l'activation de la réponse immunitaire du sujet par le miel. D'autre part, dans le mécanisme direct on différencie les composés à activité peroxyde des composés à activité non peroxyde (HADERBACHE, 2021).

#### IV.3.1. Composés à activité peroxyde

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

La production de peroxyde d'hydrogène et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose par la glucose oxydase. Cette production d'eau oxygénée est influencée par la chaleur et la lumière, la glucose oxydase étant thermolabile et photolabile. Le peroxyde d'hydrogène n'est pas antibactérien en lui-même. L'action antibactérienne est due aux radicaux hydroxyles libres générés par l'action catalytique d'ions métalliques provenant des cellules bactériennes (Balas, 2015).

La production du H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> permet la détersion par un effet mécanique, active l'angiogenèse, favorise la prolifération des fibroblastes et diminue la prolifération bactérienne (**Khouider Djelloul et Noumeri, 2020**).



## b. Composés à activité non peroxyde

### b.1 pH

Le pH du miel est acide, il varie entre 3,2 et 4,5. Cette acidité est principalement due à sa teneur en acide gluconique et en gluconolactone. Le pH du miel semble être suffisamment bas pour ralentir ou éviter la croissance de nombreuses espèces de bactéries pathogènes (**Balas, 2015**).

### b.2 Osmolarité

La faible concentration hydrique inhibe la croissance bactérienne et la forte teneur en sucres (solution hypertonique) provoque une déshydratation osmotique, ce qui laisse très peu de molécules d'eau disponibles pour les micro-organismes. Ce qui rend difficile pour elle de survivre (**Balas, 2015**).

### b.3 Autres substances

Les composés phénoliques provenant du nectar de la plante ont été proposés comme de facteurs importants de l'activité antibactérienne non peroxyde du miel. Plusieurs composés phénoliques antibactériens ont été identifiés dans les miels, mais leur contribution à l'activité globale du miel reste incertaine (**Khouider et Noumeri., 2020**). La capacité antibactérienne du miel d'eucalyptus a été largement rapportés dans des échantillons de différentes régions géographiques (Bobis et al.,2020), il contient divers flavonoïdes qui rendent ce miel comme antibactérien, et montré du peroxyde d'hydrogène action antibactérienne dépendante. Cette activité a été testée contre plusieurs types de micro-organismes (gram positif, gram négatif et levure), les plus courants étant *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* (**Rabia et al.,2020**).

**PARTIE V. MATERIEL ET  
METHODES**

---

## Chapitre 4 : Matériel et Méthodes

### V.1. Rappel sur les Objectifs

L'objectif de ce travail est de tester l'activité antibactérienne des deux produits naturels (ME et HEE) et l'effet combinée de ces deux produits naturels (50% / 50%) sur la croissance des trois souches bactérienne pathogènes : *E. coli*, *staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*.

Les analyses effectués dans cette étude sont réparties dans deux laboratoires : le laboratoire pédagogique de département de biologie de faculté des sciences (Université de Saida-Dr. Tahar Moulay) et le laboratoire d'Hygiène et de Santé de wilaya de saida.

### V.2. Matériel biologique

#### V.2.1. Produits naturels

##### V.2.1.1. Huile essentielle d'eucalyptus

Nous avons obtenu de l'huile essentielle d'eucalyptus sur commande auprès d'une société de production d'huile naturelle « Mesk El Yaman » situé dans le Quartier Bousshaqi, parcelle n°3, Bab Ezzouar, Algérie, Par email « [info@meskelyamen.healthcare](mailto:info@meskelyamen.healthcare) » en une quantité de 15 ml.



**Figure 13 : Huile d'eucalyptus**

### **V.2.1.2. Miel d'eucalyptus**

Quant au miel d'eucalyptus, nous l'avons obtenu de Mansoura pour les Matériaux Naturels, de l'état de Tlemcen, quantité 250 ml.



***Figure 14 : Miel d'eucalyptus***

### **V.2.1.3. Bactéries testées**

Les bactéries étudiées ont été choisies pour leur pathogénicité et leur résistance. Elles nous ont été fournies par le laboratoire pédagogique de microbiologie de notre département.

## **V.2.2. Analyse Physico-Chimiques d'HEE**

### **V.2.2.1. pH**

Le pH mesure l'activité chimique des ions Hydrogènes  $H^+$  en solution. Cette méthode décrit l'acidité ionique du produit à analyser, son principe consiste à introduire l'électrode du pH-mètre dans le produit après le réglage de la température d'étalonnage (**Mahboub et al, 2019**).

#### **a. Mode opératoire**

Régler la température du pH mètre, et rincer toujours la sonde à l'aide d'eau distillée, puis prendre 1ml d'HEE à analyser dans un bécher, en suite plonger la sonde dans la solution et lire le pH (**Boukedjar et Bouhalfaya, 2021**).

### V.2.2.2. Indice d'acide

L'indice d'acide ( $I_a$ ) est le nombre de mg de potasse (KOH) nécessaire pour neutraliser les acides libres renfermés dans un 1g d'(HEE).

#### a. Mode opératoire

Elle consiste à mettre 1g d'HEE dans un erlenmeyer dans lequel 5 ml d'éthanol à 95% et 5 gouttes de phénolphthaléine sont ajoutés. Le mélange est réchauffé dans un bain marie jusqu'à environ 65°C pendant 10 minutes. Après refroidissement, celui-ci est titré par une solution d'hydroxyde de potassium (KOH) de concentration 0,1N à l'aide d'une burette, jusqu'à ce que la solution vire au rose (Belline Ndzeli Likibi et al., 2019)

#### b. Calcul

L'indice d'acide ( $I_a$ ) est déterminé par la formule suivante (1):

$$I_a = 0,56 \times \frac{V}{m} \dots\dots\dots (1)$$

Où:

**v**: volume de la solution de KOH.

**m**: masse d'(HEE) en g

### V.2.2.3. Densité relative

Densité relative ( $d_{He}$ ) à 20°C, C'est le rapport entre la masse d'un certain volume d'(HEE) et la masse d'un volume égal d'eau à 20°C (AMARA et al, 2019).

#### a. Mode opératoire

Le poids d'une seringue de 5 ml stérile est taré sur une balance électrique en premier temps, ensuite nous avons rempli cette seringue par  $v_{He} = 1$  ml (HEE) et remettre dans la balance ( $m_{He}$ )

#### b. Calcul

La  $d_{He}$  est donné par la formule suivante (2) :

$$d_{He} = \frac{m_{He}}{v_{He}} \dots\dots\dots (2)$$

**Où :**

$d_{He}$  : densité de l'huile essentielle

$m_{He}$  : masse de l'huile essentielle

$V_{He}$  : volume de l'huile essentielle

### **V.2.3. Analyse physico-Chimiques du ME**

#### **V.2.3.1. Humidité**

La teneur en eau ou en humidité déterminée par la méthode réfractométrique est basée sur le fait que la réfraction dans le miel. L'indice de réfraction peut être converti en teneur en humidité en utilisant le tableau de Chataway (**Bogdanov et coll., 1997**). (**Tableau 1**). (**Annexe1**).

#### **a. Mode opératoire**

Pour l'humidité elle se mesure à l'aide d'un réfractomètre dans lequel un rayon lumineux traverse une goutte de miel, puis il éclaire une échelle graduée, plus le miel est riche en matière sèches, plus le rayon lumineux est dévié et donc l'indice de réfraction est fort (**JeanProst, 2005**)

#### **V.2.3.2. Sucres réducteurs**

Peser 0.5g puis ajouter l'eau distillé après on agite le mélange, on dilue la solution à un  $V=100\text{ml}$  jusqu'à l'homogénéisation de la solution. On prélève 10ml de la dilution préparée + 10ml de Fehling A + 10ml de Fehling B. On chauffe la solution sur une plaque chauffante jusqu'à ébullition pendant 3 min on obtient un précipité rouge brique. Lavage avec l'eau distillé chaude (pour récupérer le précipité en utilisant un filtre avec 10 ml de la solution ferrique qui va dissoudre le précipité) On obtient une solution vert claire. A la fin on titre la solution avec  $\text{KMnO}_4$  (0.02N) jusqu'à coloration rose. Le résultat est calculé comme suit À partir de la table de conversion de glucose (en utilise la  $m(\text{Cu})$  pour déterminer les sucres réducteurs en P%)

$$m(\text{cu}) = 5 \times V_{\text{KMnO}_4} \times N_{\text{KMnO}_4} \times M_{\text{Cu}}$$

$$P(\text{SR}) = m_{\text{SI}} \times 10^{-3} \times 10 \times \frac{100}{m_e} \%$$

#### **V.2.3.3. pH et Acidité**

La détermination du pH et de l'acidité du miel est réalisée selon la méthode du Journal Officielle Français (1977). Le pH est mesuré à l'aide d'un pH- mètre sur une solution de miel

dans l'eau distillée à 10 %, la valeur du pH de la solution est déterminée après l'immersion de la cellule du pH-mètre dans celle-ci

#### **a. Mode opératoire**

10g de miel sont dissous dans un volume V (75ml) d'eau distillée, après on mesure le pH de la solution et on titre cette dernière jusqu'à l'augmentation de pH à 8.5, ajoutant 10 ml de NaOH (0.05N) dans la solution, ensuite on fait titrer la solution par le HCl pour la diminution du pH à 8.3.

#### **b. Calcul**

Le résultat de l'acidité libre et de lactone sont calculés selon les formules suivantes :

$$\text{Acidité libre (meq/kg de miel)} = (\text{VNaOH (échantillon)}) * \text{CNaOH} * 1000 / m$$

m : Prise d'essai (g).

VNaOH (échantillon) : Volume de NaOH nécessaire pour atteindre le point équivalent.

CNaOH : Normalité de NaOH (0.05N).

#### **V.2.3.4. Conductivité électrique**

La conductivité électrique est la mesure de la capacité de l'échantillon de miel à transmettre un flux électrique ou conductance.

#### **a. Mode opératoire**

La détermination de celle-ci est réalisée sur une solution de miel contenant 20 % de la matière sèche à 20 °C. Une quantité de miel M, avec  $M = (5 \times 100) / MS$ , dont MS est la teneur en matière sèche de l'échantillon de miel, est dissoute dans 25ml d'eau distillée de très faible conductivité électrique (4  $\mu\text{S} / \text{cm}$ ).

#### **c. Calcul**

La lecture des résultats est faite directement après l'immersion de la cellule du conductimètre et les résultats sont exprimés en mS / cm

$$\text{CE (milli – Siemens / cm)} = \text{valeur mesurée} - A$$

CE : Conductivité électrique.

A : (la valeur mesuré  $\times 0,032$ )  $\times (T^\circ = 20^\circ\text{C})$ .

T° : Température ambiante de la mesure (dans notre cas elle varie entre 16 et 18 °C).

0,032 : Facteur de correction

#### **V.2.4. Activité antibactérienne**

##### **V.2.4.1. Identification des souches collectées**

Les (03) souches bactériennes testées sont prélevées aux lieux hospitalier un d'entre eux est à Gram positif : *Staphylococcus aureus*, les autres sont à Gram négatif : *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*. Tous les bactéries ont subi une coloration de Gram et une identification biochimique.

##### **V.2.4.2. Antibiogramme**

1. Préparer la gélose de Muller Hinton selon les indications du fabricant en ajoutant, l'épaisseur de la gélose doit être de 4 mm  $\pm$  0,5 mm, La surface de la gélose doit être séchée avant emploi.
2. Préparation suspension inoculum.

À partir d'une culture pure (18-24 heures sur milieu non sélectif adapté aux exigences de la souche), préparer une suspension inoculum en 5 ml eau physiologique , prélever plusieurs colonies de même morphologie (si possible) afin d'éviter de sélectionner un variant atypique. Mettre ces colonies en suspension en milieu salé avec une öse stérile ou un écouvillon en coton. La suspension bactérienne est standardisée à l'aide du témoin 0,5 McFarland. Un inoculum lourd engendre des diamètres plus petits et inversement.

3. L'inoculum bactérien doit idéalement être employé dans les 15 min. qui suivent sa préparation.
4. Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne et ensemercer toute la surface du milieu en stries serrées (successivement 3 orientations décalées de 60°)
5. Déposer les disques (maximum 6 pour une boîte de 90 mm) à la surface de la gélose en les appliquant délicatement à la pince stérile
6. Incuber les boîtes dans les 15 min à 35-37° C pendant 18-24 h

- a. Lecture

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C, Mesurer les diamètres des zones d'inhibition au millimètre le plus proche avec une règle.

Interpréter les diamètres des zones d'inhibition par référence aux tableaux où figurent les concentrations critiques.

### **V.2.1. Activité antibactérienne des produits naturels**

Les échantillons d'HEE et le ME, ont été utilisés sans dilution. L'activité antimicrobienne de l'HEE et le ME, a été déterminé par la méthode de diffusion des puits a été adoptée pour l'estimation de l'effet inhibiteur.

#### a- Milieu de culture

La gélose Mueller-Hinton (MH) est le seul milieu de culture solide pour l'étude de sensibilité Il est recommandé de toujours utiliser pour les épreuves de diffusion en gélose (en dissoudre 38 grammes dans 1 litre d'eau avec pH  $7,3 \pm 0,2$  à 25°C, Chauffer sous agitation fréquente jusqu'à obtention une suspension homogène. Ensuite, distribuer en flacon et autoclave à 121°C sous une pression de 15 psi pendant 15 minutes. Et Conserver au réfrigérateur à 2 - 8°C. Avant utilisation la gélose Mueller Hinton est fondu dans bain marie à 95C° Dans des boîtes de Pétri stériles, 20 ml de gélose (Mueller-Hinton) sont coulés et laissés pendant 20 minutes pour se solidifier.

#### b- Préparation de l'inoculum

L'activité antibactérienne doit être réalisée sur des souches bactériennes jeunes. La réactivation des cultures est effectuée par repiquage sur gélose nutritive pré-coulée dans des boîtes de Pétri, puis incubée à 37 °C pendant 18 à 24 heures. Pour préparer l'inoculum, trois à cinq colonies similaires bien isolées sont déchargées dans 5 ml de l'eau physiologique stérile. La suspension bactérienne est ensuite homogénéisée à l'aide d'un vortex ; son opacité doit être équivalente à 0,5 McFarland (**Fertout-Mouri et al., 2017**).

#### a. Ensemencement

Plonger un écouvillon en coton stérile dans la suspension bactérienne. Puis en fait flotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélose, en stries serrées, et l'opération a été répétée

encore deux fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois (trois directions) (**Kezzouna Radja,2015**).

a. Creuser des puits

Des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose solidifiée et séchée à l'aide d'emporte-pièce stérile. Le fond des puits est colmaté par une goutte de gélose TSA pour limiter la diffusion des huiles sous la gélose. Chaque puits est rempli sans débordement par la même aliquote d'HEE et le ME à tester l'aide d'une seringue graduée Les boîtes sont incubées 24 h à 37C°.

b. Lecture

L'évaluation de l'activité antibactérienne du ME et d'HEE est basée sur les mesures des diamètres en (mm) des halos d'inhibition autour de chaque puit à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle décimale. Vu l'absence d'une référence de lecture qui détermine le seuil de sensibilité nous avons considérés que si le diamètre de la zone d'inhibition est :

- Inférieure à 10mm : y a une résistance.
- Égale à 10mm : y a une sensibilité intermédiaire.
- Supérieure à 10mm : y a une sensibilité remarquable.

# **PARTIE VI. RESULTATS ET DISCUSSION**

## Chapitre V. Résultats et discussion

### VI.1. Caractéristiques physico-chimiques d'HEE

L'ensemble des résultats des analyses physico-chimiques de l'HEE est résumé dans le (Tableau 2).

**Tableau 2** : Les résultats des analyses physico-chimiques d'huile essentielle *d'Eucalyptus globulus*

Propriété	Notre étude	KRAIFFI et BOUALAM, 2021)	(AFNOR NFT7, 2000)
<b>pH</b>	5.8	5.5	4-6
<b>Indice d'acide</b>	0.8	5.65	0,84-3,74
<b>Densité</b>	1.03	1.008	0,905 à 0,921

#### VI.1.1. pH

L'HEE, présente un pH de 5.8, cette valeur est parue normale par rapport à la Référence AFNOR NFT7, 2000 (et une étude antérieure de **KRAIFFI et BOUALAM (2021)**, A noter que le pH joue un rôle décisif dans les réactions chimiques et biochimiques et peut influencer les propriétés stabilisantes des HE (effets antioxydants et antibactériens). Par conséquent, ce Le résultat peut conduire à de bonnes propriétés de stabilité contre les micro-organismes ; permettrait à ce HE d'agir comme antibactérienne.

#### VI.1.2. Indice d'acide

L'indice d'acide indique le comportement et la quantité d'acide libre présent dans notre huile. Cela peut également nous dire que l'huile est sujette aux changements, en particulier à l'oxydation. D'après nos résultats, l'HE de *Eucalyptus globulus* présente un indice d'acide de l'ordre de (0.8), cette valeur est une valeur peu faible par rapport à Référence AFNOR, Le valeur de ce indice comparé à celle de étude antérieure montrent une très grande de différence (5.65), Cette différence est due aux facteurs de conservation, notamment la lumière qu'est favorise l'altération de la structure des huiles essentielles et le développement des acides, Un  $I_a$  faible pour l'HEE peut être bénéfique, pour garder sur ses propriétés et ses effets ( antibactériens et antioxydants).



**Figure 15 : résultats du test d'indice d'acide**

### VI.1.3. Densité

La densité est l'un des paramètres de pureté de l'HE. Selon nos résultats, la valeur de la densité relative de l'huile essentielle d'eucalyptus (1,03) était supérieure à la gamme de la norme AFNOR et de l'étude précédente (1,008). Selon (Tenscher et al., 2005), ce paramètre est lié à la composition chimique de cette huile et est affecté par le phénotype, le moment de la récolte, le type de sol, la conservation, le processus et les conditions d'extraction.

### VI.2. Caractéristiques physico-chimiques de ME

Le (Tableau 3) recapitalise les valeurs obtenus suite à l'analyse physico-chimiques de ME.

**Tableau 3 : Résultats des analyses physico-chimiques de ME**

Paramètre	Valeur pratique
Acidité libre	20 meq /Kg
Conductivité électrique	0.728 ms/cm
Humidité	15.9%
Sucres réducteur	62%
pH	3,9

La valeur de l'acidité libre de miel analysé est = **20 meq /Kg**. Le Comité du *Codex Alimentarius* sur les sucres (2001) a fixé une valeur maximale de 50,00 meq/ kg pour l'acidité

libre. Des valeurs plus élevées peuvent être indicatives de la fermentation des sucres en acides organiques.

Selon **Ajlouni et al. (2010)**, une acidité libre élevée peut être un indice d'une fermentation par des levures osmotiques. En effet, au cours de la fermentation, le glucose et le fructose sont convertis en alcool. Ce dernier est à son tour hydrolysé en présence d'oxygène et converti en acide acétique, ce qui contribue à l'augmentation de l'acidité libre.

L'acidité libre est un paramètre important lié à la détérioration du miel. Il est caractérisé par la présence d'acides organiques en équilibre avec les lactones, les esters internes et certains ions inorganiques tels que les phosphates, les sulfates et les chlorures (**Gomes et al., 2010**).

#### **VI.2.1. Conductivité électrique**

Le miel d'Eucalyptus a enregistré la valeur de 0.728 ms/cm. Cela est en accord avec les normes du *Codex Alimentarius* (2001) qui indique une conductivité électrique qui varie fortement pour le miel d'eucalyptus. À ce sujet, (**Talpay ,1985**) propose des valeurs allant de 0,40 à 0,90 mS/cm pour les miels d'Eucalyptus. Cependant, les miels de miellat peuvent avoir des valeurs supérieures à 0,8 mS/cm, à l'exception de quelques miels (*eucalyptus, erica*) pour lesquels la conductivité varie fortement (*Codex Alimentarius, 2001*).

La conductivité électrique est un indicateur souvent utilisé dans le contrôle de la qualité du miel qui peut être utilisée pour distinguer entre les miels de nectar et ceux de miellat. (**Karabagias et al., 2014**). Elle dépend de la teneur en éléments minéraux et de l'acidité du miel ; plus ces dernières sont élevées plus la conductivité correspondante est élevée (**Piazza et al., 1991 ;Yücel et Sultanoglu, 2013**).

#### **VI.2.2. Teneur en eau**

Le résultat de la teneur en eau de miel étudié est de 15.9%. Ce résultat obtenu est inférieur à 20%, la limite mentionnée par la Commission Européenne, (2002) et le *Codex Alimentarius*, (2001). D'après **Ouchemoukh, (2016)**, la teneur en eau du miel dépend des conditions environnementales, l'origine florale et de la période de récolte. Elle peut varier d'une année à une autre. La teneur en eau est un élément important dans l'évaluation du degré de maturité

du miel et de sa durée de vie. Généralement une quantité d'eau élevée provoque la fermentation du miel, la perte de sa saveur et de sa qualité (**Fahim et al., 2014**).

### **VI.2.3. Sucres réducteurs**

L'examen des résultats montre que la teneur en sucre réducteur d'échantillons de miel est : 62% D'après **Küçük et al. (2007)**. Les sucres représentent les principaux composants de tous les types de miel. Les réducteurs (sucre inverti) ; principalement le fructose et le glucose ont été jugés comme constituants majeurs du miel

Les valeurs des sucres réducteurs varient entre 62%. Ces valeurs répondent aux normes exigées par le *Codex Alimentarius* (**2001**) qui soit supérieurs à 45 %.

Ces valeurs sont inférieures de celles trouvées par **Ouchemoukh et al. (2007)** et **Doukani et al. (2014)**, qui ont rapporté un taux de sucres réducteurs variant successivement de 61,4 à 79,9%.

La composition en sucres permet dans certains cas d'identifier l'origine botanique de quelques miels monofloraux et la proportion des différents sucres présents dans un miel est très variable. Elle dépend, en effet, directement du type de fleurs butinées par les abeilles (**Louveaux, 1968**).

### **VI.2.4. pH**

La valeur du pH du miel analysé est de : 3,9. Lequel est une valeur extrême, en dehors de ces valeurs, cela révèle une dégradation biochimique, possible en raison de mauvaises conditions de récolte ou de stockage (**Yaiche et al., 2014**). Le pH est un critère de qualité, il est en fonction de la quantité d'acides ionisables qu'il renferme (ions H<sup>+</sup>) ainsi que de sa composition minérale. Les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (4,2 à 5,5) (**Bogdanov et al., 1995**).

### VI.2.5. Identification des souches collectées

**Tableau 4 :** Les bactéries dans leur milieu sélectif préféré (a) *Staphylococcus aureus* dans le milieu Chapman ; (b) *Pseudomonas aeruginosa* dans le milieu Hektoën ; (c) *Escherichia coli* dans le gélose nutritif.

Bactérie	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
Milieu de culture			

### VI.2.6. Antibiogramme

**Tableau 5 :** Diamètres des zones d'inhibition de l'antibiogramme des trois souches utilisées

Antibiotiques	Diamètre d'inhibition (mm)	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Escherichia coli</i>
Ampicilline	15-20	0 (R)	0(R)	10 (R)
Amikacine	18-23	25 (S)	20 (I)	22 (I)
Néomycine	19-25	15(R)	15(R)	15 (R)
Pénicilline G	12-18	0(R)	0(R)	0(R)
Streptomycine	12-14	34(S)	20(S)	25(S)
Tétracycline	17-19	22(S)	13(R)	17(I)


L'analyse comparative des effets de l'extrait et des antibiotiques a révélé la : résistance (R) des trois souches à l'ampicilline, pénicilline G et la néomycine, et une résistance des *Pseudomonas* à la tétracycline.

Une sensibilité (S) de tous les bactéries étudiées ont été marqué à la streptomycine. Les diamètres des zones d'inhibition variaient entre 20 et 34 mm. Cette sensibilité a été prouvé par l'étude de **Rather et al. (2012)** qui ont montré que la sensibilité presque similaire entre *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli* à la streptomycine pourrait être due au même mode d'action de la streptomycine sur les bactéries Gram-. La variation de l'activité antimicrobienne des agents antibactériens pourrait s'expliquer par des différences structurelles entre les bactéries.

### VI.2.7. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne a été évaluée in vitro par l'action de l'HE et ME sur 3 souches bactériennes (deux à Gram négatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* et 1 à Gram positive *Staphylococcus aureus*) par la méthode de diffusion des disques sur un milieu GN (méthode de puits).

#### VI.2.7.1. Activité antibactérienne d'HE

**Tableau 6 :** Diamètre en (mm) de la zone d'inhibition de l'effet d'HE sur les trois souches de la bactéries

Bactéries	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
Diamètre des zones d'inhibition (mm)	19 mm	14 mm	13 mm	22 mm	19 mm	20 mm	14 mm	14 mm	12 mm
Moyenne	15,3			20,3			13,3		
									

Les résultats sont observés le lendemain des expériences, en mesurant les diamètres des zones d'inhibition. Si le diamètre des zones d'inhibition est :

- Inférieure à 10 mm : y a une résistance.
- Égale à 10 mm : y a une sensibilité intermédiaire.
- Supérieure à 10mm : y a une sensibilité remarquable.

Les résultats d'activité antimicrobienne d'huile essentiels d'eucalyptus ont été reporté dans le tableau au-dessus, montre que la fraction, chez la bactérie *Staphylococcus aureus* présent une activité antibactérienne plus élevées et forte que les autres bactéries avec la zone d'inhibition d'ordre : 20,3 mm. Le pouvoir d'inhibition bactérienne sur la bactérie *Escherichia coli* était 15,3 mm, et pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* était 13,3 mm.

Les interprétations sont faites en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne donnée par **Ponce et al., (2003)**. À partir de cette échelle on peut classer les bactéries de la plus sensible à la plus résistante comme suivant: *S. aureus* > *E. coli* > *P. aeruginosa*.

Ces résultats, s'accordent avec ceux de **Raho et benali, (2008)** sur la sensibilité de *S. aureus* et la résistance de *P. aeruginosa* vis à vis de l'extrait des feuilles d'*E.globulus*. La méthode de diffusion des puits a révélé que l'effet antibactérien d'extraits de la plante médicinale d'*E.globulus* diffère d'une souche à une autre. Les bactéries *E. coli* et *P.aeruginosa* sont avérées les plus résistantes alors que *S. aureus* est le plus sensible. Ces résultats sont en accord avec plusieurs publications concernant les extraits de plantes médicinales où les bactéries à Gram négatif dévoilent une forte résistance aux extraits de plantes que les bactéries à Gram positif (**Arias et al., 2004; Khan et al., 2009; Oliveira et al., 2008**).

En vue des résultats obtenus pour l'antibiogramme et tenant compte des concentrations des disques d'antibiotiques, le pouvoir inhibiteur d'*E.globulus* sur *Staphylococcus aureus* est très satisfaisant en comparaison à la pénicilline ce qui est très encourageant pour développer des préparations médicamenteuses à base d'*E.globulus*.

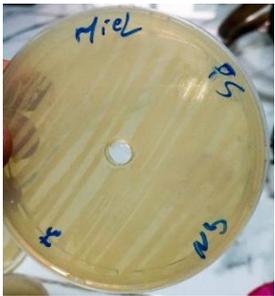
Cela est interprété par le fait que les plantes produisent une variété énorme de petites molécules antibiotiques ayant un large spectre de structures telles que les flavonoïdes et les

polyphénols. Cependant, la plupart de ces petites molécules ont une faible activité antibiotique par rapport aux antibiotiques communs produits par les bactéries.

### VI.2.7.2. Activité antibactérienne de ME

D'après les résultats de la Méthode de diffusion en puits précédemment cités : Pour *Escherichia coli*, n'ont pas présenté un grand effet antibactérien, les diamètres d'inhibition oscillent entre 9 et 10 mm. En revanche, *Staphylococcus aureus*, ne présenté pas une activité antibactérienne pour le miel non dilué mai il était le plus sensible. Les diamètres d'inhibition oscillent entre 10 et 12 mm. *Pseudomonas aeruginosa*, n'a pas présenté un effet antibactérien, il avait le diamètre d'inhibition le plus faible soit 6 mm.

**Tableau 7 :** Diamètre en (mm) de la zone d'inhibition de l'effet de ME sur les trois souches de la bactéries.

	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Diamètre des zones d'inhibition (mm)</b>	10 mm	09 mm	10 mm	12 mm	11 mm	10 mm	06 mm
<b>Moyenne</b>	9,6			11			06
<b>Images de résultats</b>							

La technique de diffusion sur MH, l'échantillons du miel a montré un extrême effet inhibiteur sur *Staphylococcus aureus* et un peu moins sur *Escherichia coli*, alors que l'activité inhibitrice est encore moindre sur *Pseudomonas aeruginosa*. Il apparait donc que *Staphylococcus aureus* (Gram +) présente une grande sensibilité vis-à-vis de miel analysé, avec un diamètre d'inhibition assez grand pouvant aller jusqu'à 12 mm de diamètre, ce qui est plus élevé que les diamètres obtenus avec les antibiotiques testés par l'antibiogramme (AM et S).

Des résultats contrastés ont été rapportés dans l'étude de **Sib A., (2007)** où l'activité antibactérienne du miel a été testé sur *Staphylococcus aureus*, les zones d'inhibitions trouvées oscillent entre 29.34 mm et 34 mm.

Les travaux de **ATAMNA et al (2017)** montrent une inhibition de *Staphylococcus aureus* à partir d'une concentration de miel de 25% pour des diamètres allant de 20 à 28 mm, résultats qui confirment la sensibilité de cette bactérie au miel. Plusieurs autres études vont également dans ce sens montrant des zones d'inhibitions importantes (**Allen et al., 1991; Molam et al.,1998**).

Pour *Pseudomonas aeruginosa*, le miel était inactif avec diamètres d'inhibition de 6 mm, ce qui correspond aux résultats trouvés par **Kerdouci et al (2013)** qui donner des diamètres allant de 8 à 23 mm, les travaux de **Hafsaoui et al (2019)** montrent également des diamètres d'inhibition moyen de 20 mm.

*Escherichia coli* a une sensibilité intermédiaire avec des zones d'inhibition ne dépassant pas 11 mm, ces résultats ne sont pas loin de ceux obtenus par **Bouchama et al (2015)** avec des diamètres d'inhibitions moyens de 13 mm.

L'étude de **Tifouti et al (2018)** sur l'activité antibactérienne du miel testé sur *Escherichia coli* montre des résultats comparables aux nôtres: le miel possède un effet inhibiteur à l'état pur sur la croissance bactérienne avec des diamètres allant de 10 à 23 mm.

Les résultats de la présente étude ont montré que *Staphylococcus aureus* qui est une bactérie à Gram positif était plus sensible qu'*Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa* qui sont des bactéries à Gram négatif.

Cette sensibilité plus marquée des Gram (+) par rapport aux Gram (-) vis-à-vis du miel a déjà été observée dans plusieurs études antérieures, elle peut être attribuée à la différence de structure membranaire des trois souches. En effet, la paroi cellulaire des bactéries à Gram+ est constituée d'une seule couche alors que celle des Gram- est plus complexe car possédant une structure multicouche laissant difficilement pénétrés les substances actives.

Les résultats obtenus montrent que toutes les souches bactériennes testées ne sont pas sensibles à l'action inhibitrice d'échantillon de miel, d'une souche à une autre, ce qui montre

le large spectre d'action du miel. Cet effet antibactérien est plus important avec l'échantillon non dilués. Cette activité antibactérienne est sujette à controverse. Plusieurs hypothèses ont été avancées pour expliquer ce phénomène :

- Grâce à sa composition, le miel est un milieu défavorable aux microorganismes. Cette solution concentrée de glucides retire, après absorption, l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes.

- De plus, son degré d'acidité, et la valeur de pH le plus souvent faible inhibe la multiplication des bactéries.

- En outre, le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibine du miel.

- Le miel contient la défensine-1, un peptide antimicrobien qui a été déjà isolée de la gelée royale produite par les jeunes ouvrières. Ce peptide contribue de manière significative à l'activité antibactérienne du miel.

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

D'autres facteurs influent également sur la composition et la nature du miel, donc sur ses effets thérapeutiques, tels que :

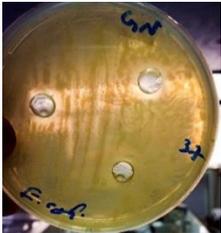
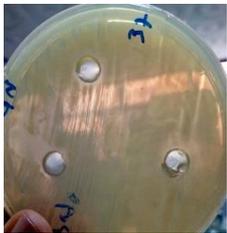
- L'âge de l'abeille (le miel de l'abeille jeune est particulièrement clair et moins concentré par apport à celui de l'abeille la plus âgée)
- La nature des fleurs de nutrition de l'abeille et l'origine florale de l'alimentation
- Le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et le mode d'extraction de miel
- La durée et les conditions de conservation, telles que la température et la lumière qui conditionnent l'activité des enzymes de miel et leur efficacité

Dans le cadre de la présente étude, des contraintes et difficultés peuvent être soulevées:

- La principale contrainte est la nature visqueuse du miel qui engendre des difficultés de diffusion et d'homogénéité des dilutions et préparations, afin d'optimiser la solubilité du miel un solvant organique le DMSO aurait pu être utilisé mais celui-ci présente une activité antibactérienne susceptible de fausser les résultats obtenus.
- Chaque miel étant unique de par son origine botanique et florale, ses propriétés thérapeutiques et donc antibactériennes le sont également et diffèrent d'un miel à l'autre d'où la divergence de nos résultats avec certaines études.

### VI.2.7.3. Activité antibactérienne d'une combinaison de ME et HE

**Tableau 8 :** Diamètres en (mm) de la zone d'inhibition de l'effet combiné d'HE et ME sur les trois souches des bactéries

	<i>Escherichia coli</i>			<i>Staphylococcus aureus</i>			<i>Pseudomonas aeruginosa</i>		
<b>Diamètre des zones d'inhibition (mm)</b>	11 mm	10 mm	13 mm	22 mm	15 mm	13 mm	11 mm	15 mm	12 mm
									

L'activité antibactérienne d'une combinaison de ME et HE par la méthode de diffusion en puits a montré une activité remarquable contre les bactéries testées, avec des zones d'inhibition allant de 11 mm à 22 mm. La plus grande zone d'inhibition bactérienne pour cette combinaison a été plus observée contre les bactéries Gram-positives.

Ainsi, *Staphylococcus aureus* était la souche bactérienne la plus sensible avec une zone d'inhibition de moyenne de 16,6 mm. Tandis que *Escherichia coli* était la plus résistante par rapport aux autres espèces avec une zone d'inhibition de moyenne de 11,3 mm.

Pour *Pseudomonas aeruginosa* avec des diamètres d'inhibition de 12,6 mm. Cela signifie que le mélange entre le miel et l'huile d'eucalyptus a un effet antibactérien plus efficace,

d'une part, et d'autre part il est plus efficace que les antibiotiques observés dans les résultats de l'antibiogramme (AM, N, P) (**Tableau 8**).

Ces résultats sont proches du travail de **Hamza M. Assaggaf et al.,2022** sur les effets singuliers et combinés de l'huile essentielle et du miel *d'Eucalyptus Globulus* sur les propriétés antimicrobiennes, les bactéries a gram positive sont sensibles aux combinaison de ME et HE.

**Comparison générale d'activité antibactérienne de HEE et de ME et de l'effet combiné :**

	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<b>Moyenne de diamètre des zones d'inhibition D'activité antibactérienne d'HEE</b>	<b>15,3 mm</b>	<b>20,3 mm</b>	<b>13,3 mm</b>
<b>Moyenne de diamètre des zones d'inhibition D'activité antibactérienne de ME</b>	<b>9,6 mm</b>	<b>11 mm</b>	<b>06 mm</b>
<b>Moyenne de diamètre des zones d'inhibition D'activité antibactérienne d'effet combiné</b>	<b>11,3 mm</b>	<b>16,6 mm</b>	<b>12,6 mm</b>

Grâce à cette comparaison, nous constatons que :

Pour tous les bactéries , l'huile essentiel d'eucalyptus a le plus activité antibacterienne contre ces 3 souches : *E.coli* ; *stapylococcus aureus* ; *Pseudomonas aeruginosa* , avec des diamètres d'inhibitions allant à 15,3 mm ; 20,3 mm et 13,3 mm successivement .

Nous avons également remarqué l'effet combiné du ME et HEE contre les bactéries, qu'il augmente l'efficacité de l'effet du miel, en particulier pour la bactérie *Pseudomonas aeruginosa* , Où le diamètre de la zone d'inhibition a augmenté à 12,6 mm après avoir été de 6 mm en présence de miel seul.

Et nous en concluons Les maladies infectieuses provoquées par différents micro-organismes tels que les bactéries et les champignons contribuent principalement comme

facteurs de risque dans la genèse de certaines pathologies complexes, telles que le cancer, l'inflammation chronique et le diabète. En outre, l'identification de composés bioactifs composés bioactifs ayant des effets antimicrobiens est considérée comme une voie prometteuse pour réduire et prévenir les pathologies complexes et systémiques. Ainsi, l'HE et le ME, ont été testés pour leurs propriétés antimicrobiennes contre certaines souches bactériennes. Des résultats significatifs ont été révélés à d'une action synergique a également été trouvée entre l'HE et le ME. Plusieurs rapports ont évalué et confirmé les propriétés antibactériennes, (Valdés-Silverio et al., 2018) aussi (Boukhatem et al., 2020 ; Al-Hisnawi et al 2019). Ces études ont rapporté que l'activité antibactérienne du miel est liée aux polyphénols, à la teneur en peroxyde d'hydrogène, au peptide Bee defensin-1, et méthylglyoxal (MGO), ainsi qu'à ses propriétés osmotiques, son acidité, HMF, faible pH, et d'autres paramètres physico-chimiques. De plus, les auteurs ont démontré que cette activité varie selon l'origine botanique et géographique ainsi que les conditions climatiques.

D'autre part, un certain nombre de chercheurs ont montré que l'activité antimicrobienne de l'HE d'Eucalyptus est attribuée aux monoterpènes oxygénés, tels que 1,8-cinéole, l' $\alpha$ -pinène et le  $\beta$ -pinène, qui sont des constituants bien connus avec des activités antimicrobiennes prononcées. (Damjanović-Vratnica. et al 2011) Il a été démontré que ces composés désintègrent la membrane externe des bactéries, libérant les lipopolymères. externe des bactéries, libérant les lipopolysaccharides et augmentant la perméabilité de la membrane cytoplasmique à l'ATP.

# **C- CONCLUSION ET PERSPECTIVES**

---

## Conclusion

De nos jours, il y a un déclin constant des antibactériens nouvellement homologués sur le marché. De l'autre côté, de nombreux médicaments antibactériens actuellement disponibles n'ont pas agi sur le site cible dans les cellules bactériennes, exposant ainsi les patients à l'échec du résultat thérapeutique. Et de l'autre côté, nous trouvons que plusieurs composés naturels et composants intégraux appartenant à la bibliothèque pharmaceutique habituelle ont été testés pour lutter contre les bactéries résistantes.

La multirésistance aux médicaments est une cause préoccupante d'échec thérapeutique dans les infections bactériennes, favoriser la sélection de bactéries résistantes à de multiples antibactériens agents, plusieurs composés naturels et composants intégraux appartenant à la bibliothèque pharmaceutique habituelle ont été testés pour lutter contre les bactéries résistantes.

Grâce à cette étude, nous pouvons conclure que le miel d'eucalyptus et l'huile essentielle d'eucalyptus ont un effet antibactérien contre les bactéries pathogènes. Les résultats obtenus des centaines propriétés physico-chimiques (pH, Indice d'acide, Densité relative, Humidité, Acidité libre, Sucres réducteur, Conductivité électrique). Indiquent que les échantillons étaient de bonne qualité.

Les résultats de l'antibiogramme ont montré que les trois bactéries étaient résistantes aux antibiotiques (Ampicilline, pénicilline G, néomycine), et *Pseudomonas* a vis-à-vis de tétracycline, et la sensibilité des bactéries à la streptomycine. L'activité antibactérienne a été déterminée sur trois souches bactériennes, selon la méthode de diffusion des puits, Les résultats indiquent que HEE et le ME possède une activité antimicrobienne à des degrés divers sur les souches testées à Gram positif tandis que les souches à Gram négative manifestent une résistance. Mais l'effet combiné entre HEE et ME était plus efficace et a une grande activité antibactérienne, Cet effet antibactérien, évalué par une zone d'inhibition.

L'ensemble de ces résultats obtenus in vitro représente seulement la première étape pour trouver des substances bioactives d'origine naturelle. Il est souhaitable d'encourager une étude en direct pour obtenir une vue plus approfondie des activités antimicrobiennes des extraits de ces produits naturels, surtout la situation actuelle qui est devenue la situation est plus préoccupante à cause de l'apparition des souches bactériennes antibiorésistants et l'émergence des infections non communes.

**D- REFERENCES**  
**BIBLIOGRAPHIQUES**

---

**Références bibliographiques**

**Abid M.** 2017. Évaluation de l'activité antifongique des miels Algériens vis-à-vis deux souches de *Candida albicans*. Mémoire de Master, MICROBIOLOGIE. UNIVERSITE ABOU BEKR BELKAID TLEMCEN. 11.

**AICHOUBA A, BOUDOUMI S.** 2018. Analyses physico-chimiques des miels de quelques régions de la Wilaya D'Ain-Defla. Mémoire pour de Master. Productions Animales, Djilali Bounaama, Khemis Miliana. 13.

**AHLEM, T., & MAROUA, M.** (2020). Etude des caractéristiques physiques et chimiques des huiles essentielles du clou de girofle et de l'eucalyptus. ,Guelma, mémoire du projet de fin d'étude Master 2

**AProano, D Coello , I Villacrés-Granda , I Ballesteros , A Debut , K Vizuet**  
**A Brenciani , Jos'e M. Alvarez-Suarez.** 2021. The osmotic action of sugar combined with hydrogen peroxide and bee-derived antibacterial peptide Defensin-1 is crucial for the antibiofilm activity of eucalyptus honey. LWT. 136.1

**Aminetou et Aicha m,** 2008, Manuel de Travaux pratiques de Microbiologie, 23

**AMoujanni, A Essamadi, A Terrab.** 2017. L'apiculture au Maroc: focus sur la production de miel. Innovation and Applied Studies. 20, 65.

**Belline N L, Gouollaly T, Aimé B M, Arnaud W, Samuel N, and | Jean-Maurille O.** 2019. PROFILS CHIMIQUES COMMUNS DES HUILES ESSENTIELLES D'EUCALYPTUS CITRIODORA HOOK. (MYRTACEAE) ET DE CYMBOPOGON NARDUS (L.) RENDLE (POACEAE) DU CONGO-BRAZZAVILLE. Innovative Research and Applied Sciences. 2429, 366.

**Benbareka, Oussama ,Hafsaoui, Ibtissem** 2019, ETUDE DE L'ACTIVITE ANTIBACTERIENNE DE MIEL RECOLTE DU TERRITOIRE ALGERIEN Université de Blida 1, Diplôme de Docteur en pharmacie

**BEN NADJI S, BOUZGAG Ch.** 2018. Extraction et Caractérisation des huiles essentielles à partir de *Cymbopogon schoenanthus* dans la région de Ghardaïa. Mémoire de Master. Biochimie appliquée. Université Echahid Hamma Lakhdar -El OUED. 38

**Boukedjar R, Bouhalfaya I. 2021.** Extraction et caractérisation physico-chimique de l'huile essentielle de la plante *Peganum harmala*. Mémoire de Master. Biochimie. Université Mohamed El Bachir El Ibrahimi - B.B.A. 15.

**Benkhaddra H, Ghadbane R. 2014.** Les paramètres physicochimiques du miel et l'effet de l'humidité sur le développement des micro-organismes. Mémoire de Master. Analyse et contrôle de qualité des denrées alimentaires. Université Mohamed El Bachir El-Ibrahimi –Bordj Bou Arreridj. 3

**BALAS F. 2016.** LES PROPRIETES THERAPEUTIQUES DU MIEL ET LEURS DOMAINES D'APPLICATION EN MEDECINE GENERALE REVUE DE LA LITTERATURE. Thèse de doctorat MEDECINE DE NICE ,UNIVERSITE DE NICE SOPHIA-ANTIPOLIS. 21-23.

**BOUKNANI S , LANGUEURE N. 2020.** Etude bibliographique de la qualité des miels «Mitidja". Mémoire de Master, production et nutrition animale. Université SAAD DAHLAB-BLIDA 1. 4.

**ChMakhloufi, Leila A. 2021.** Characterization of Some Algerian Honeys Belonging to Different Botanical Origins Based on their Physicochemical Properties. Iran J Sci Technol Trans Sci. 45. 193.

**Chougar, T., & Kebdi, T. (2018).** Étude comparative des caractéristiques physico-chimiques et pouvoirs antioxydant et antimicrobien des miels algériens de régions diverses (Doctoral dissertation, Université Mouloud Mammeri).

**Djoubar B, Zatout M. 2019.** Différents types du miel dans les régions de M'sila et Batna. Mémoire de Master. ECOLOGIE DES MILIEUX NATURELS. UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF - M'SILA.

**DAROU-MOKADDEM H. 2012.** ETUDE PHYTOCHIMIQUE ET BIOLOGIQUE DES ESPECES *Eucalyptus globulus* (Myrtaceae), *Smyrniololus atratum* (Apiaceae), *Asteriscus maritimus* ET *Chrysanthemum trifurcatum* (Asteraceae). Thèse de doctorat, BIOCHIMIE APPLIQUEE. UNIVERSITE - MOKHTAR BADJI-ANNABA. 1.

**D.** Mezouar, F.B. Lahfa , D.E. Abdelouahid , H. Adida , N.M. Rahmoun , Z. Boucherit-Otmani. 2014. Activité antimicrobienne d'extraits d'écorce de racines de *Berberis vulgaris*. *Pharmacognosie*. 12, 2.

**Denis** François Denis et al., P. Lanotte, C. Isnard et al., 2016, *Bactériologie médicale Techniques usuelles, Technologies générales*, 24, 3e.

**Delarras** Camille, 2014, *Pratique en microbiologie de laboratoire Recherche de bactéries et de levures-moisissures, staphylococcus, Micrococcus, et ex-Micrococcus*, 623

**Delarras**. 2007. *Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyse ou de contrôle sanitaire*, Tec & Doc. Paris. P : 109-110.128

**Ettore** B. 2018. *The Industry of Honey. An Introduction, in Chemistry and Technology of Honey Production*. Salvatore Parisi, Industrial Consultant, Palermo, Italy. 9-11.

**ELENGA** W S P. 2017. *CONTRIBUTION A LA STRATEGIE D'IDENTIFICATION MOLECULAIRE DES BACTERIES DU GENRE BACILLUS*. Mémoire de Master , Microbiologie et Biochimie. UNIVERSITE MARIEN NGOUABI. 17.

**FBOUET** KOUANOU, A B LATIFOU, C ADDA1, L EDAH, C VISSIENON, Z VISSIENON et Virgile A. 2020. *Le Miel : Facteurs Influençant sa Qualité*. *Sciences and High Technologies*. Vol. 21, 95.

**Feddaoui** C, Kerdouci S .2013. *Effet antibactérien du miel*. Mémoire de Master. *Microbiologie de l'environnement*. UNIVERSITE 8MAI 1945. 2.

**François** Denis et al., P. Lanotte, C. Isnard et al., 2016, *Bactériologie médicale Techniques usuelles, Technologies générales*, 24, 3e.

**HAMOUMANE** H, **ACHITE** A. 2018. *Analyses physico-chimiques et activité antibactérienne de quelques échantillons du miel Algérien*. Mémoire de Master. *Microbiologie Appliquée*. Université de Djilali Bounaama de Khemis Miliana. 8-10.

**H**amitouche D, Landri M.2020. Miel : Propriétés, composition et qualité. Mémoire de Master. Agro-alimentaire et contrôle de qualité.. Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou. 10-11.

**H**ADERBACHE L. 2021. CARACTERISATION DES MIELS ALGERIENS ET RECHERCHE DES POLLUANTS. Thèse de Doctorat. Technologie alimentaire. UNIVERSITE M'HAMED BOUGARA-BOUMERDES. 46.

**I**MTARA, et al.2018. Honey antibacterial effect boosting using *Origanum vulgare* L. essential oil. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine* .14.

**I**ssaad, K Bouhedjar, A Ikhlef, H Lachlah, D Hadj Smain, K Boutaghane, C Bensouici. 2021. Multivariate analysis of physico-chemical, bioactive, microbial and spectral data characterisation of Algerian honey. *Food Measurement and Characterization*. 15, 1.

**J**iangkun D ., Rui H, Yujie X, Junr W, Wenjia D, 2020 . Recent progress of antibacterial natural products: Future antibiotics candidates . *Bioorganic Chemistry*. 101, 1

**K**RICHEN S, GUETATLIA I. 2019. Evaluation de l'activité antibactérienne de sept échantillons de miel issus de la région de Guelma et Tipaza. Mémoire de Master. Microbiologie Appliquée. Université 8 Mai 1945 Guelma. 14.

**K**houider Djelloul M, Noumeri H. 2020. Propriétés antibactériennes du miel contre les staphylocoques. Mémoire de Master . Microbiologie appliquée. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana. 26-28.

**L**AMARA, A., BOUAFIA, W., & BENALIA, M. A. (2022). *Caractérisation et utilisation des produits essentiels d'Eucalyptus globulus* (Doctoral dissertation, UNIVERSITE MOHAMED BOUDIAF-M'SILA).

**L**ESHAF H, ALAHOUM A.2018. L'effet cicatrisant et antibiotique du miel d'Eucalyptus Etude prospective au niveau du service de Chirurgie générale « B »CHU TLEMCEN. Thèse de doctorat. PHARMACIE. UNI VERSIT E AB OU B EK R B ELK AÎD. TLEM CEN. 9.

**MBourkhiss**, A. Chaouch, M. Ouhssine, B. Bourkhisset A. Rassam. 2015. ÉTUDE PHYSICOCHIMIQUE DE L'HUILE ESSENTIELLE DE TETRACLINIS ARTICULATA (VAHL) MASTERS DU PLATEAU CENTRAL MAROCAIN PHYSICO-CHEMICAL STUDY OF THE ESSENTIAL OIL OF TETRACLINIS ARTICULATA (VAHL) MASTERS FROM MOROCCAN CENTRAL PLATEAU. LES TECHNOLOGIES DE LABORATOIRE. Volume 9, N°37. 3.

**MCheurfa**, R. Allem, M. Sebahia, S. Belhireche. 2013. Effet de l'huile essentielle de *Thymus vulgaris* sur les bactéries pathogènes responsables de gastroentérites. *Aromathérapie*. 11, 1.

**Mohamed**, B. O. U. R. B. I. A., HAMITOUCHE, L., & LITAMINE, L. (2020). étude de l'activité antibactérienne du miel, université TIZI-OUZOU . diplôme d'état de Docteur en Pharmacie .

**NAmara**, Y Boughérara. 2017. Activité Antimicrobienne de l'Huile Essentielle du Cyprès Vert (*Cupressus Sempervirens L.*). *Natural Products*. 5, 456.

**NAIR S.** 2014. Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels algériens. Thèse de doctorat, Biochimie. Université D'oran. 16-17.

**OBobis**, A R M, I Ballesteros, E Sánchez R , S Sánchez D , J Sánchez-Sánchez, S Cruz-Quintana, F Giampieri , M Battino , M. Alvarez-Suarez. 2020. Eucalyptus honey: Quality parameters, chemical composition and health-promoting properties. *Food Chemistry*. 325. 1-9.

**O. BELHAJ**, J. OUMATO, S. ZRIRA1O. BELHAJ, J. OUMATO, S. ZRIRA. 2015. Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev. Mar. Sci. Agron. Vét.* 3. 1.

**Patrícia A**, J S, Felipe P, Pedro V, Teresinha J, Joaquim S, Nerilson , and Chistiane M. 2022. Natural Products from Plants with Antimicrobial Action, In Mahendra Rai, Ivan Kosalec. Promising Antimicrobials from Natural Products. Switzerland. Springer Nature Switzerland AG. 183.

**RABEHARIFARA Z P.**2011. CARACTERISATION ALIMENTAIRE DES MIELS MALGACHES EN VUE D'UNE AUTHENTIFICATION : CAS DES MIELS D'EUCALYPTUS. Mémoire D'ETUDES APPROFONDIES. BIOCHIMIE. UNIVERSITE D'AANTANANARIVO.13.

**Rabia F, Sabhiya M, Aamir H, Ahila A, and Andleeb K.** 2020. Different Types of Honey and Their Properties, in Therapeutic Applications of Honey and its Phytochemicals. Muneeb U. Rehman. 268.

**Rabia et al.,**2020, Different Types of Honey and Their Properties, Therapeutic Applications of Honey and its Phytochemicals, Muneeb U et al., Vol.1, 268

**RAMAROMANANA S B.** 2012. Analyses polliniques en vue de la création des référentiels commerciaux des miels malgaches : cas des miels d'eucalyptus et des miels de niaouli. Mémoire d'Etudes Approfondies en Biologie et Ecologie Végétales. UNIVERSITE D'ANTANANARIVO. 5.

**RABIAI Mohammed.** 2014. Étude physicochimique et évaluation de l'activité biologique d'une huile essentielle et l'extrait aqueux d'Eucalyptus globulus de la région M'SILA. Mémoire de Master, Chimie. UNIVERSITE DE M'SILA. 42.

**R M Elbargisy.** 2020. Pharmaceutical Applications of Honey, in Therapeutic Applications of Honey and its Phytochemicals. Muneeb U. R , Sabhiya M.Vol.1, 280.

**Salgarolo P.** Pratique des manipulation de chimie ; Paris : Salgarolo Edition.2003

**Site1**//[www.memoireonline.com/03/10/3229/m\\_Etude-comparative-entre-quelques-miels-locaux-et-autres-importes2.html](http://www.memoireonline.com/03/10/3229/m_Etude-comparative-entre-quelques-miels-locaux-et-autres-importes2.html)

**Site 2** <https://be-keeper.com/blog/maturation-miel/:maturation du miel>

**Site3**<https://www.lepeupledacotecom/plante/eucalyptus-globulus-gommier-bleu-de-tasmanie/>

**Site4**[https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/54386\\_2014\\_04\\_FR.pdf&ved=2ahUKEwiHy6KS1oz6AhV](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/54386_2014_04_FR.pdf&ved=2ahUKEwiHy6KS1oz6AhV)

**S** Mulyaningsih, Frank S, Jürgen R & Michael W. 2011. Antibacterial activity of essential oils from Eucalyptus and of selected components against multidrug-resistant bacterial pathogens. *Pharmaceutical Biology*. 9, 893.

**Soraya B.** 2017. *Bacillus subtilis*. Thèse de doctorat. MEDECINE ET DE PHARMACIE. UNIVERSITE MOHAMMED V DE RABAT.24. 11-15.

**SAADI M, FETHALLAH O.** 2018. Etude de l'effet de la durée et de la température d'entreposage sur la qualité du miel dans la région de Tébessa. Mémoire de Master, Biochimie appliquée. Université Larbi Tébessi-Tebessa. 3.

**THORMAR, Halldor (ed.)**. *Lipids and essential oils as antimicrobial agents*. 2010.

**YAHIA MAHAMMED S, YAHIA MAHAMMED W,** 2015. Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla , Djendel, Bathia , Bourached et Miliana. Mémoire de Master. Sciences et techniques des productions animales. Djilali Bounaama, Khemis Miliana. 3

**YOUNES CHAOUCHE L & BOUNSIAR N.** 2018. *CONTRÔLE QUALITÉ DES MIELS LOCAUX ET IMPORTÉS*. Thèse de doctorat, Pharmacie. Université Mammeri Mouloud, TIZI-OUZOU. 18.

# **E- ANNEXES**

---

---

**Annexe 1 : préparation du milieux de culture.****1. Gélose nutritive (Denis et al .2016 )**Composition

Pour un litre de milieu :

- Extrait de viande de bœuf 1 g/l
- Extrait de levure 2 g/l
- Peptone 5 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Agar 15 g/l
- pH 7,4 ± 0,2

Préparation

Mettre les ingrédients dans un litre d'eau distillée stérile. Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes. Répartir en boîtes de Pétri ou en flacons

**2. Milieu Chapman (DELARRAS 2014)**Composition

Pour un litre d'eau distillée

- Extrait de viande (bovin ou porcin) 1 g/l
- Peptone de caséine et de viande 10 g/l
- Rouge de phénol 0.025 g/l
- Chlorure de sodium 75 g/l
- D-Mannitol 20 g/l
- Agar 15 g/l
- PH. 7.4

### Préparation

Mettre les ingrédients dans un litre d'eau distillée stérile. Mélanger jusqu'à obtention d'une suspension homogène. Chauffer lentement en agitant fréquemment, puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Stériliser à l'autoclave à 121° C pendant 15 minutes. Répartir en boîtes de Petri ou en flacons

### **3. Milieu hektoen**

([https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/54386\\_2014\\_04\\_FR.pdf&ved=2ahUKEwiHy6KS1oz6AhVQwYUKHZL4ChMQFnoECDEQAQ&usg=AOvVaw20-ZZEIDxMMYznLeRerShK](https://www.google.com/url?sa=t&source=web&rct=j&url=https://www.biorad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/fr/54386_2014_04_FR.pdf&ved=2ahUKEwiHy6KS1oz6AhVQwYUKHZL4ChMQFnoECDEQAQ&usg=AOvVaw20-ZZEIDxMMYznLeRerShK))

### Composition

Pour un litre d'eau distillée

- Protéose peptone 12 g/l
- Extrait de levure 3 g/l
- Chlorure de sodium 5 g/l
- Thiosulfate de sodium 5 g/l
- Sels biliaires 9 g/l
- Citrate de fer ammoniacal 1,5 g/l
- Salicine 2 g/l
- Lactose 12 g/l
- Saccharose 12 g/l
- Fuchsine acide 0,1 g/l
- Bleu de bromothymol 0,065 g/l
- Agar 14 g/l
- pH final 7,5 ± 0,2

### Préparation

Mettre 75 grammes de milieu déshydraté dans un litre d'eau distillée. Chauffer lentement, en agitant fréquemment,

puis porter à ébullition jusqu'à dissolution complète. Laisser refroidir à 50°C avant répartition en flacon , ne pas autoclaver.

#### **4. Eau physiologique stérile à 0,9% :**

- 9 g de NaCl
- 1000 ml d'eau distillée

##### Préparation

Mélanger 9 g de NaCl dans 1000 ml d'eau distillée stérile Distribuer en flacon et autoclavez à 121°C sous une pression de 15 psi pendant 15 minutes.

#### **Annexe 2 : Test catalase (Delarras, . 2007)**

##### a- Principe

Le test de catalase facilite la détection de l'enzyme catalase dans la bactérie qui décompose le peroxyde d'hydrogène (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) en H<sub>2</sub>O et O<sub>2</sub>. bouillonnement observé est dû à le dégagement de gaz O<sub>2</sub>.

##### b- Mode opératoire

Ajouter 4 à 5 gouttes de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 3% sur la lame et ajouter une petite quantité d'organisme d'une colonie et observer

##### c- Lecture

- ✓ Si une bulle instantanée apparaît , signifie que le test de catalase positif
- ✓ Si les bulles n'apparaissent pas , signifie que le test de catalase négatif

**Annexe 3 :****Coloration de gram (Delarras. (2007)).**a. Principe

C'est une double coloration qui nous permet de connaître la forme, l'arrangement (mode d'assemblage), la pureté ainsi que la nature biochimique de la paroi des cellules purifiées.

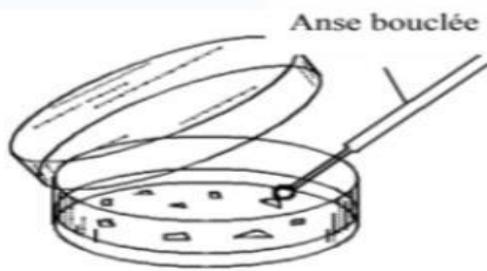
b. Mode opératoire

Prendre une lame stérile , Et Déposer une goutte d'eau distillée sur la lame. Pour préparer un frottis d'une culture bactérienne pure après Laisser sécher à l'air. Passer 3 fois la lame dans la petite flamme (veilleuse) du bec Bunsen pour fixer l'échantillon à la chaleur. en suit Déposer quelques gouttes de solution de violet de gentiane sur le frottis fixé. Pendant 1min. rincer à l'eau distillée 2 ,verser du Lugol et le laisser agir pendant 1min, rincer à l'eau distillée ; 3, décolorer à l'alcool 95° , pendant quelques secondes (15-30 secondes), puis rincer à l'eau distillée ; 4 Recolorer à la Fuschine (safranine) pendant 1 minute , rincer à l'eau distillée ; et finalement , Sécher Sur papier buvard Ou au-dessus sur la flamme d'un bec Bunsen .

c. Observation Microscopique

L'observation se fait en ajoutant de l'huile à immersion et au plus fort grossissement (grossissement : objectif x 100) en lumière blanche (lumière maximale).

- Les bactéries Gram positif se colorent en violet alors que les Gram négatif se colorent en rose.



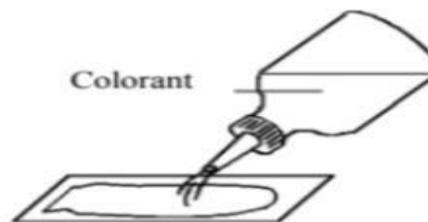
1. Prélever une partie d'une colonie isolée



2. Réaliser un étalement sur lame



3. Fixer à la chaleur



4. Réaliser les étapes de coloration

***Figure 16 : les étapes pour faire la coloration de gram ( Aminetou et Aicha , 2008).***

**Annexe 3 : Tableau de chataway**

**Tableau9** : Tableau de chataway de duscusion – indice de réfraction et teneur en humidité (%) 20 C. (**Commission internationale du miel, 2009**).

<b>WATER CONTENT (G /100G)</b>	<b>REFRACTIVE INDEX(20°)</b>	<b>WATER CONTENT (G/100G)</b>	<b>REFRACTIVE INDEX(20°)</b>
13.0	1.5044	19.2	1.4890
13.2	1.5038	19.4	1.4885
13.4	1.5033	19.6	1.4880
13.6	1.5028	19.8	1.4875
13.8	1.5018	20.0	1.4870
14.0	1.5012	20.2	1.4865
14.2	1.5007	20.4	1.4860
14.4	1.5002	20.6	1.4855
14.6	1.4997	20.8	1.4845
14.8	1.4992	21.0	1.4840
15.0	1.4987	21.2	1.4835
15.2	1.4982	21.4	1.4830
15.6	1.4976	21.6	1.4825
15.8	1.4971	21.8	1.4820
16.0	1.4966	22.0	1.4815
16.2	1.4961	22.2	1.4810
16.4	1.4956	22.4	1.4805
16.6	1.4951	22.6	1.4800
16.8	1.4946	22.8	1.4795
17.0	1.4940	23.0	1.4790
17.2	1.4935	23.2	1.4785
17.4	1.4930	23.4	1.4780
17.6	1.4925	23.6	1.4775
17.8	1.4920	23.8	1.4770
18.0	1.4915	24.0	1.4765
18.2	1.4910	24.2	1.4760
18.4	1.4905	24.4	1.4755
18.6	1.4900	24.6	1.4750
18.8	1.4895	24.8	1.4745
19.0	14.0	25.0	1.4740

**Tableau 10 :** tableau de correspondance des sucres invertis (Salgarolo 2003)

sucre en mg	cuivre en mg	sucre en mg	cuivre en mg	sucre en mg	cuivre en mg
10	20,6	40	77,7	70	129,2
11	22,6	41	79,5	71	130,8
12	24,6	42	81,2	72	132,4
13	26,5	43	83,0	73	134,0
14	28,5	44	84,8	74	135,6
15	30,5	45	86,5	75	137,2
16	32,5	46	88,3	76	138,9
17	34,5	47	90,1	77	140,5
18	36,4	48	91,9	78	142,5
19	38,4	49	93,6	79	143,7
20	40,4	50	95,4	80	145,3
21	42,3	51	97,1	81	146,9
22	44,2	52	98,8	82	148,5
23	46,1	53	100,6	83	150,0
24	48,0	54	102,5	84	151,6
25	49,8	55	104,0	85	153,2
26	51,7	56	105,7	86	154,8
27	53,6	57	107,4	87	156,4
28	55,5	58	109,2	88	157,9
29	57,4	59	110,9	89	159,5
30	59,3	60	112,6	90	161,1
31	61,1	61	114,3	91	162,6
32	63,0	62	115,9	92	164,2
33	64,8	63	117,6	93	165,7
34	66,7	64	119,2	94	167,3
35	68,5	65	120,9	95	168,8
36	70,3	66	122,6	96	170,3
37	72,2	67	124,2	97	171,9
38	74,0	68	125,9	98	173,4
39	75,0	69	127,5	99	175,0
				100	176,5

a. Annexe 4 : des images de notre travail pratique.

