



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



Université de Larbi Tébessi - Tébessa –  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Biologie Appliquée

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

Etude comparative de l'effet du miel et de la propolis vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif isolées à partir du lait de mammites cliniques bovines

Présenté par :

**KHEDIRI KHAOULA**

**BOURAS CHAFIA**

Devant le jury :

Mme M. DEBABZA	MCB	Université de Larbi Tébessi	Présidente
Mme H. CHADI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Mme N. AZIZI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance : 29 – 05 – 2018

Note : ..... / Mention : .....



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



**Université de Larbi Tébessi - Tébessa -**  
**Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie**

**Département : Biologie Appliquée**

**MEMOIRE DE MASTER**

**Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie**

**Filière : Microbiologie**

**Option : Microbiologie appliquée**

**Thème :**

Etude comparative de l'effet du miel et de la propolis vis-à-vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif isolées à partir du lait de mammites cliniques bovines

Présenté par :

**KHEDIRI KHAOULA**

**BOURAS CHAFIA**

Devant le jury :

Mme M. DEBABZA	MCB	Université de Larbi Tébessi	Présidente
Mme H. CHADI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Mme N. AZIZI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance : **29 – 05 – 2018**

Note : ..... / Mention : .....



بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



# Résumé

La présente étude est une comparaison de l'effet antibactérien entre 03 variétés de miel et de leurs propolis correspondantes, récoltés en Algérie (Batna, Tizi-Ouzou et Tébessa) vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus*, isolés de lait de mammites cliniques bovines et de tester leur efficacité par rapport aux antibiotiques.

Ce travail a été réalisé en utilisant la méthode de diffusion en milieu solide préconisé par Eucast et CLSI et pour la détermination de la CMI, la technique d'inhibition en milieu liquide.

A la lumière des résultats obtenus, l'étude de l'antibiorésistance de ces germes isolés a révélé des taux de résistance élevé par rapport à *Staphylococcus aureus*, avec un pourcentage de : 100 % à la Pénicilline ,80 % à la Tétracycline ,60 % à la Spiramycine et à la Pristinamycine.

De même, *E.coli* a montré des résistances non négligeables, avec 40% : à l'Ampicilline, au Thrimethoprim-sulfamethoxazole, à la Tétracycline et à l'association Amoxicilline-Acide clavulanique, et 20% , seulement, pour la Céphalotine. L'effet inhibiteur du miel et de la propolis par rapport à ces antibiotiques s'est avéré très proche ( $P>0,05$ ).

Par ailleurs, les différentes comparaisons faites sur les 2 échantillons de la ruche vis-à-vis de ces bactéries ont montré :

Que l'effet miel et celui de la propolis provenant de la même ruche est non significatif sur *S.aureus*, par contre cette signification est différente sur *E.coli* ( $P>0,05$ ). Celle-ci a mis en valeur que cette bactérie est plus sensible au miel. En parallèle, l'effet anti bactérien de la plupart des échantillons, en fonction des régions, est sans signification sur les 2 germes ( $P>0,05$ ).

Ainsi, Les différents extraits des propolis ont présenté des activités antibactériennes semblables pour les 02 types d'isolats ( $P>0,05$ ).

Par ailleurs, La CMI et la CMB varient en fonction de la variété de miel et de la souche testée, mais le miel à l'état pur reste le meilleur choix pour détruire complètement les souches.

**Mots clés:** Miel, mammites cliniques, propolis, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* .

# Abstract

The present study is a comparison of the antibacterial effect between 03 varieties of honey and their corresponding propolis, harvested in Algeria (Batna, Tizi-Ouzou and Tébessa) with respect to *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*, isolated from milk of clinical mastitis and testing their efficacy against antibiotics.

This work was carried out using the solid medium diffusion method recommended by Eucast and CLSI and for the determination of the MIC, the inhibition technique in a liquid medium.

In the light of the results obtained, the study of the antimicrobial resistance of these isolated organisms revealed high levels of resistance compared to *Staphylococcus aureus*, with a percentage of: 100% with Penicillin, 80% with Tetracycline, 60% with Spiramycin and Pristinamycin.

Similarly, *E. coli* showed significant resistance, with 40%: Ampicillin, Thrimethoprim-sulfamethoxazole, Tetracycline and Amoxicillin-clavulanic acid combination, and 20% only for Cephalotin. The inhibitory effect of honey and propolis on these antibiotics was very close ( $P > 0.05$ ).

In addition, the different comparisons made on the 2 samples of the hive with respect to these bacteria showed:

The effect honey and that of propolis from the same hive is not significant on *S.aureus*, however this meaning is different on *E. coli* ( $P > 0.05$ ). It has highlighted that this bacterium is more sensitive to honey. In parallel, the anti-bacterial effect of the samples, depending on the regions, is meaningless on the 2 seeds ( $P > 0.05$ ).

Thus, the different extracts of propolis showed similar antibacterial activities for the 02 types of isolates ( $P > 0.05$ ).

In addition, the MIC and MBC vary depending on the variety of honey and strain tested, but pure honey remains the best choice to completely destroy the strains.

**Key words:** Honey, clinical mastitis, propolis, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*.

# ملخص

الهدف من هذه الدراسة المقارنة بين تأثير 03 أنواع من العسل والعكبر المرافق لها ، والتي تم جمعها من مناطق مختلفة من التراب الجزائري (باتنة، تيزي وزو وتبسة) ضد كل من *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus* المعزولة من حليب أبقار مصابة بالتهاب الضرع واختبار فعاليتها ضد المضادات الحيوية. تم تنفيذ هذا العمل باستخدام طريقة انتشار الوسط الزراعي الاجار الموصى بها من طرف Eucast و CLSI ولتحديد التركيز التثبيطي الأصغري ، استعملت تقنية التثبيط في وسط سائل. في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، كشفت دراسة مقاومة المضادات الحيوية لهذه الكائنات المعزولة معدل مقاومة عالية مقارنة مع *Staphylococcus aureus*، بنسبة 100% مع البنسلين، 80% التيتراسكلين إلى 60% مع السيبراميسين والبريستيناميسين . وبالمثل، أظهرت *Escherichia coli* مقاومة بنسبة معتبرة ، 40%: للأمبيسلين، تريموثريم- السلفاميثوكسازول ، التيتراسيكلين وحمض أموكسيسيلين كلافلانيك، و 20% فقط لسيفالوتين. و كان التأثير المثبط للعسل و العكبر مقارنة مع هذه المضادات الحيوية قريبا جدا. ( $P > 0.05$ ) بالإضافة إلى ذلك ، أظهرت المقارنات المختلفة التي أجريت بواسطة العينتين ( العسل والعكبر) من نفس الخلية فيما يتعلق بهذه البكتيريا: تأثير العسل والعكبر من نفس الخلية ليست كبيرة على *S.aureus* ، وهذا مختلف بالنسبة ل *E coli* . ( $P > 0.05$ ) و حيث أبرزت أنها أكثر حساسية للعسل. في موازاة ذلك ، فإن التأثير المضاد للبكتيريا للعينات ، اعتمادا على اختلاف المناطق الجغرافية، لا معنى له على الجراثيم 2. ( $P > 0.05$ ) وهكذا ، أظهرت مستخلصات العكبر المختلفة أنشطة مضادة للجراثيم مماثلة للسلاطين . ( $P > 0.05$ ) وعلاوة على ذلك، و لاحظنا ان التركيز التثبيطي الأصغري و التركيز المبيد الأصغري، يختلفان اعتمادا على اختلاف العسل و على سلاسة البكتيريا ، ولكن يبقى العسل النقي هو أفضل خيار للقضاء عليها.

الكلمات الرئيسية: العسل ، التهاب الضرع ، العكبر ، *Escherichia coli* و *Staphylococcus aureus*

# Dédicace

*A* l'homme de ma vie, mon exemple éternel,  
mon soutien moral et source de joie et de bonheur,  
celui qui s'est toujours sacrifié pour me voir réussir,  
que dieu te garde dans son vaste paradis,

à toi **mon père.**

*A* la lumière de mes jours, la source de mes efforts,  
la flamme de mon cœur, ma vie et mon bonheur ;  
**maman** que j'adore.

*A*ux personnes dont j'ai bien aimé la présence dans ce jour,  
**Ma famille , mes amies,**  
je dédie ce travail dont le grand plaisir  
leurs revient en premier lieu pour leurs conseils, aides.

*A*ux personnes qui m'ont toujours encouragé,  
qui étaient toujours à mes côtés,  
et qui m'ont accompagnaient durant mon chemin d'études supérieures,  
**mes professeurs, collègues d'étude.....**

*Khaoula ....*

# *Dédicace*

**A** mes chères parents, ma mère et mon père .

Pour leurs patiences, leurs soutiens et leurs encouragements.

Sans leurs aides, je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui.

**A** mes frères.

*Adel* et leur fils *Salasabil* , *Nadhir* .

Je te remercie également Pour leurs soutiens moral.

**A** mes sœurs.

*Warda* et *Iman* .

**A** mes amies et mes camarades .

Sans oublié tous les professeurs que ce soit du primaire, du moyen, du secondaire ou de l'enseignement supérieur.

*Chafia ....*

# *Remerciements*

Nous remercions le dieu tout puissant de nous avoir donné le savoir, la volonté, le courage et la patience de pouvoir poursuivre nos études.

Nous tenons à remercier :

Profondément notre encadreur *Madame Chadi. H* pour sa disponibilité, son aide, sa patience, ainsi que pour ses précieux conseils.

Egalement un grand remerciement pour notre jury *Mme Debabza .M* et *Mme Azizi . N* pour nous avoir fait l'honneur d'accepter la présidence et examinez notre mémoire.

Infiniment et avec beaucoup de reconnaissance pour tout l'ensemble des professeurs d'institutdes sciences de la nature et de la vie de Tébessa.

Enfin nous remercions toutes les personnes qui ont contribué d'une façon ou d'une autre à l'aboutissement de ce travail.

*Un grand merci à tous..*

## Table des matières

Titre	Page
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Liste des annexes	
Liste des abréviations	
Introduction	<b>1</b>
<b>Synthèse Bibliographique</b>	
<b>Chapitre I : Les mammites cliniques</b>	
I.1. Définition des mammites	<b>3</b>
I.2. Classification des mammites bovines	<b>3</b>
I.2.1. Mammites cliniques	<b>3</b>
I.2.2. Mammites sub-cliniques	<b>3</b>
I.3. Importance des mammites bovines	<b>3</b>
I.3.1. Impact économique	<b>3</b>
I.3.2. Impact sanitaire	<b>3</b>
I.4. Agents étiologiques des mammites cliniques	<b>4</b>
I.4.1. Bactéries	<b>4</b>
I.4.1.1. Bactéries majeures	<b>4</b>
I.4.1.2. Les bactéries mineures	<b>7</b>
I.4.2. Autres agents responsables des mammites	<b>8</b>
I.5. Pathogénie des infections mammaires	<b>8</b>
I.5.1. Pénétration des germes dans la mamelle	<b>8</b>
I.5.2. Infection de la glande	<b>8</b>
I.5.3. Devenir de l'infection	<b>9</b>
I.6. Traitement des mammites cliniques	<b>9</b>
I.6.1. La fluidothérapie	<b>9</b>
I.6.2. Anti-inflammatoire (AI)	<b>10</b>
I.6.3. Traitement à base d'Antibiotiques	<b>10</b>
I.6.3.1. Voie d'administration	<b>10</b>
I.6.3.2. Traitement des mammites colibacillaires	<b>10</b>
I.6.3.3. Traitement des mammites cliniques à Staphylococcus aureus	<b>11</b>
I.6.4. La résistance aux antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites	<b>11</b>
I.6.4.1. Résistance d' E. coli	<b>11</b>
I.6.4.2. Résistance des Staphylocoques aux pénicillines	<b>11</b>
I.6.5. Autres traitements	<b>11</b>
<b>Chapitre II : Le miel et la propolis</b>	
II.1. Le miel	<b>12</b>
II.1.1. Définition de miel	<b>12</b>
II.1.2. Les différents types de miel	<b>12</b>
II.1.2.1 Selon l'origine florale	<b>12</b>
II.1.2.1.1. Les miels monofloraux	<b>12</b>
II.1.2.1.2. Les miels polyfloraux	<b>12</b>
II.1.2.2. Selon l'origine sécrétoire	<b>12</b>
II.1.2.2.1. Le miel de nectar	<b>12</b>
II.1.2.2.2. Le miel de miellat	<b>13</b>
II.1.3. Processus d'élaboration du miel	<b>13</b>
II.1.3.1. Le butinage	<b>13</b>
II.1.3.2. La trophallaxie et enrichissement	<b>13</b>

II.1.3.3.L'évaporation	13
II.1.3.4.La conservation	13
II.1.4. Composition chimique du miel	14
II.1.5. Propriétés thérapeutique du miel	15
II.1.5.1. Propriétés antibactériennes	15
II.1.5.1.1.Les facteurs physiques	15
II.1.5.1.2. Les facteurs chimiques	15
II.1.5.2.Propriétés cicatrisantes	17
II.2. La propolis	17
II.2.1. Définition de la propolis	17
II.2.2. Origine de la propolis algérienne	18
II.2.3. La récolte de la propolis	18
II.2.3.1. La récolte de la propolis par les abeilles	18
II.2.3.1.1.Les conditions de la récolte	18
II.2.3.2. La récolte de la propolis par l'apiculteur	18
II.2.4.Utilisation de la propolis	19
II.2.4.1.Utilisation de la propolis par les abeilles	19
II.2.4.2.Utilisation de la propolis par l'homme	19
II.2.5. Composition chimique de la propolis	20
II.2.6.Composition physique de la propolis	21
II.2.7.Propriétés thérapeutique	21
II.2.7.1.L'activité antimicrobienne	21
II.2.7.2.L'activité antifongique	21
II.2.7.3.L'activité antivirale	21
II.2.7.4.L'activité antiparasitaire	22
II.2.8.Toxicité	22
<b>Partie Expérimentale</b>	
<b>Chapitre I : Matériel et Méthodes</b>	
I.1.Objectifs	23
I.2.Cadre de l'étude	23
I. 3. Matériel et methods	23
I.3.1.Matériel	23
I.3.1.1. Echantillons du miel et de la propolis	23
I.3.1.2. Les souches bactériennes	24
I.3.1.3.Les antibiotiques	24
I.3.1.4. Matériel nécessaire	25
I.3.2. Méthodes	25
I.3.2.1. Prélèvements	25
I.3.2.2.Recherche des <i>Staphylococcus aureus</i> et des coliformes thermo-tolérants dans les échantillons du miel	25
I.3.2.3. Antibiogramme	26
I.3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne du miel et de la propolis	29
a1. Préparation des échantillons	29
a2.Préparation des disques	32
1.3.2.5. Détermination de la CMI et de la CMB	33
<b>Chapitre II :Résultats</b>	
II.1. Recherche de <i>Staphylococcus aureus</i> et des coliformes thermo-tolérants dans les échantillons du miel	35
II.2. Résultats de test de sensibilité aux antibiotiques et aux échantillons utilisés	35
II.2.1.Effet sur <i>Staphylococcus aureus</i>	35

II.2.2.Effet sur <i>Escherichia coli</i>	<b>41</b>
II.2.3. Etude comparative entre la sensibilité de <i>S.aureus</i> et <i>d'E.coli</i> en fonction des échantillons utilisés	<b>46</b>
II.2.4.Détermination de la CMI et de la CMB	<b>48</b>
<b>Chapitre III :Discussion</b>	
III.Discussion	<b>50</b>
Conclusion	
Référence bibliographiques	
Annexe	

## Liste des figures

Figure N°	Titre de figure	Page
<b><i>Synthèse Bibliographique</i></b>		
<b>01</b>	La pénétration et le développement de la mammite dans une mamelle infectée .	<b>09</b>
<b>02</b>	Le processus de fabrication naturel du miel .	<b>14</b>
<b>03</b>	La propolis brute .	<b>17</b>
<b><i>Matériels et Méthodes</i></b>		
<b>04</b>	Les échantillons de miel et leurs propolis correspondantes.	<b>23</b>
<b>05</b>	Souches conservées sur gélose nutritive inclinée.	<b>24</b>
<b>06</b>	Ensemencement du miel sur milieu VRBL.	<b>26</b>
<b>07</b>	Préparation de l'inoculum.	<b>27</b>
<b>08</b>	Ensemencement sur gélose Muller Hinton.	<b>28</b>
<b>09</b>	Application des disques d'antibiotiques.	<b>29</b>
<b>10</b>	Stérilisation des mélanges préparés.	<b>31</b>
<b>11</b>	Filtration du mélange (propolis+ huile) .	<b>31</b>
<b>12</b>	Les différents extraits des propolis.	<b>32</b>
<b>13</b>	Préparation des disques.	<b>32</b>
<b>14</b>	Application des disques à base du miel et de la propolis.	<b>33</b>
<b>15</b>	Ensemencement de la GN par les tubes déclarés négatifs.	<b>34</b>
<b><i>Résultats et discussion</i></b>		
<b>16</b>	Pourcentage de sensibilité et de résistance des souches de <i>Staphylococcus</i> aux antibiotiques.	<b>36</b>
<b>17</b>	Diamètre d'inhibition en fonction des antibiotiques et de la propolis 3.	<b>41</b>
<b>18</b>	Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>E. coli</i> aux antibiotiques.	<b>42</b>
<b>19</b>	Diamètre d'inhibition en fonction des antibiotiques et du miel 2.	<b>47</b>
<b>20</b>	CMI du miel 2 pour <i>E.coli 1</i> .	<b>50</b>

## Liste des tableaux

Tableau N°	Titre des tableaux	Page
<b>Synthèse Bibliographique</b>		
<b>01</b>	Les conditions de la récolte de la propolis.	<b>18</b>
<b>02</b>	Des exemples d'utilisation de propolis dans le domaine de médecine.	<b>20</b>
<b>03</b>	La composition chimique de la propolis.	<b>20</b>
<b>04</b>	Les propriétés physiques de la propolis.	<b>21</b>
<b>Matériels et Méthodes</b>		
<b>05</b>	Les renseignements sur les échantillons du miel.	<b>23</b>
<b>06</b>	Les souches bactériennes.	<b>24</b>
<b>07</b>	Liste des antibiotiques testés sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>24</b>
<b>08</b>	Liste des antibiotiques testés sur <i>Escherichia coli</i>	<b>25</b>
<b>09</b>	Liste des extraits des propolis préparées.	<b>31</b>
<b>Résultats et discussion</b>		
<b>10</b>	Résultat de la recherche des coliformes thermo-tolérants et de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>31</b>
<b>11</b>	Pourcentage de sensibilité des souches de <i>Staphylococcus</i> isolées des mammites cliniques vis-à-vis de 5 antibiotiques.	<b>31</b>
<b>12</b>	Effet du miel <sup>1</sup> et de la propolis <sup>1</sup> sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>36</b>
<b>13</b>	Effet du miel <sup>3</sup> et de la propolis <sup>3</sup> sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>37</b>
<b>14</b>	Effet du miel <sup>3</sup> et de la propolis <sup>3</sup> sur <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>37</b>
<b>15</b>	Effet antibactérien du miel sur des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>38</b>
<b>16</b>	Effet antibactérien de la propolis sur des souches de <i>Staphylococcus aureus</i> .	<b>38</b>
<b>17</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>1</sup> , de l'EAP <sup>1</sup> et de l'EHP <sup>1</sup> vis-à-vis de <i>S.aureus</i> .	<b>39</b>
<b>18</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>2</sup> , de l'EAP <sup>2</sup> et de l'EHP <sup>2</sup> vis-à-vis de <i>S.aureus</i> .	<b>39</b>
<b>19</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>3</sup> , de l'EAP <sup>3</sup> et de l'EHP <sup>3</sup> vis-à-vis de <i>S.aureus</i> .	<b>39</b>
<b>20</b>	Pourcentage de sensibilité des <i>Echirichia coli</i> isolées à partir des mammites cliniques vis-à-vis de 6 antibiotiques.	<b>41</b>
<b>21</b>	Effet du miel <sup>1</sup> et de la propolis <sup>1</sup> vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i> isolées à partir de mammites cliniques.	<b>42</b>
<b>22</b>	Effet du miel <sup>2</sup> et de la propolis <sup>2</sup> vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i> isolées à partir de mammites cliniques.	<b>43</b>
<b>23</b>	Effet du miel <sup>3</sup> et de la propolis <sup>3</sup> vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i> isolées à partir de mammites cliniques.	<b>43</b>
<b>24</b>	Effet du miel sur des souches d' <i>E.coli</i> .	<b>44</b>
<b>25</b>	Effet de la propolis sur des souches d' <i>E.coli</i> .	<b>44</b>
<b>26</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>1</sup> , de l'EAP <sup>1</sup> et de l'EHP <sup>1</sup> vis-à-vis d' <i>E.coli</i> .	<b>45</b>
<b>27</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>2</sup> , de l'EAP <sup>2</sup> et de l'EHP <sup>2</sup> vis-à-vis d' <i>E.coli</i> .	<b>45</b>
<b>28</b>	Effet antibactérien de l'EEP <sup>3</sup> , de l'EAP <sup>3</sup> et de l'EHP <sup>3</sup> vis-à-vis d' <i>E.coli</i> .	<b>45</b>

<b>29</b>	Résultats de la sensibilité d' <i>E.coli</i> et de <i>S.aureus</i> au miel.	<b>47</b>
<b>30</b>	Résultats de la sensibilité d' <i>E.coli</i> et de <i>S.aureus</i> à la propolis.	<b>48</b>
<b>31</b>	Détermination de la CMI des miels pour <i>S.aureus</i> 1 et <i>E.coli</i> 1.	<b>49</b>
<b>32</b>	Détermination de la CMB des miels pour <i>S.aureus</i> 1 et <i>E.coli</i> 1.	<b>50</b>

## *Liste des annexes*

- Annexe 01 :** L'anatomie de la mamelle.
- Annexe 02 :** Problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques.
- Annexe 03 :** Analyse comparative des oligoéléments de deux miels en ppm.
- Annexe 04 :** Quelques plantes sources de la propolis en Algérie.
- Annexe 05 :** Matériels utilisés au laboratoire (Appareillages et Verreries).
- Annexe 06 :** Milieux de culture utilisés et Produits chimiques.
- Annexe 07 :** Préparation de l'inoculum.
- Annexe08 :** Analyses statistiques (variance et test de Newman-Keuls) des différentes comparaisons.
- Annexe09 :** Antibiogramme comparative du Miel et des extractions de propolis et les antibiotiques utilisés.

## *Liste des abréviations*

**AI** : Anti-inflammatoire .

**AINS** : Les anti-inflammatoires non-stéroïdiens .

**AIS** : Anti-inflammatoires stéroïdiens .

**Amoxy-clav** : Amoxicilline - Acide clavulanique.

**AMP**: Ampicilline.

**ATB** : Antibiotique.

**ATCC**: American Type Collection Culture.

**CEP** : Céphalotine .

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute.

**CMB** : Concentration minimal bactéricide.

**CMI** : Concentration minimale inhibitrice.

**E** : *Escherichia*.

**E.coli** : *Escherichia coli*.

**EAP**: Extraction Aqueux de propolis.

**EEP**: Extraction Ethanolique de propolis.

**EHP** : Extraction Huileux de la propolis.

**FAO** : Organisation des Nations unies pour l'alimentation et l'agriculture.

**GC** : Glucocorticoïdes.

**GN** : Gélose nutritive.

**H** : Heure.

**HSV** : Le virus de l'herpès simplex.

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

**I** : Intermédiaire.

**LPS** : Lipopolysaccharide.

**M** : Miel.

**MGO** : Le méthylglyoxal.

**MH** : Gélose Muller Hinton.

**MI** : Millilitre.

**MM** : Millimètre.

**N** : Numéro.

**OF** : Ofloxacin.

**P** : Propolis.

**PEN** : Pénicilline.

**Ppm** : Partie par million.

**RP** : Pristinamycine.

**R** : Résistant.

**S** : Sensible.

**SCN** : Les staphylocoques à coagulase négative.

**SP** : Spiramycine.

**SXT** : Thrimethoprim-sulfamethoxazole.

**TE** : Tétracycline.

**UI** : Unité international.

**VRBL** : Gélose bilié au vert brillant et au rouge neutre.



# *Introduction*

# Introduction

En Algérie, comme dans la plupart des pays, les mammites bovines constituent une pathologie dominante dans les élevages bovins laitiers (Sanders et *al.*, 2011). Elle est définie par une inflammation de la glande mammaire. Elle est provoquée, dans la plupart du temps, par une infection bactérienne (Rémy, 2010 et Angoujard, 2015).

En fait, les mammites représentent la première cause d'utilisation et de consommation d'antibiotiques dans les élevages (Berkama et *al.*, 2006). Ceci a pu entraîner une problématique relativement majeure par l'apparition de bactéries résistantes ou multi résistantes aux antibiotiques et la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait qui peuvent causer des problèmes à deux niveaux : sanitaires et technologiques (Bagré et *al.*, 2015).

Les producteurs laitiers sont de plus en plus conscients des conséquences de la présence de ces résidus, ce qui a poussé les médecins vétérinaires et les producteurs à essayer d'autres alternatives thérapeutiques. Parfois, ces dernières ont données d'excellentes efficacités antibactériennes par rapport aux antibiotiques.

De ce fait, le recours au développement de nouveaux agents thérapeutiques d'origine naturelle ; présentant moins de danger pour la santé et palliant aux effets secondaires des antibiotiques ; est devenu indispensable.

Parmi ses produits, on a la propolis et le miel qui sont caractérisés par leurs propriétés inhibitrices et thérapeutiques intéressantes. Celles-ci sont probablement liées aux mécanismes qui sont impliqués dans les propriétés antibactériennes et qui agissent en synergie (Belhaj et *al.*, 2016)

Par ailleurs, afin de minimiser l'utilisation abusive et anarchique des ATB en pathologie mammaire, nous sommes intéressés à réaliser cette étude, tout en visant les objectifs suivants :

- ✓ de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E. coli* et de *S. aureus* isolées à partir du lait de mammites cliniques bovines ;
- ✓ de faire une étude comparative de l'effet antibactérien du miel et celui de la propolis vis-à-vis de ces mêmes germes ;

- ✓ de comparer l'activité antibactérienne entre le produit qui a présenté le plus d'effet et les antibiotiques, et de déterminer leur CMI et leur CMB.

Enfin, ce travail est subdivisé en deux grandes parties : La partie bibliographique qui englobe : des généralités sur les mammites et l'étude de l'agent étiologique. Nous aborderons ensuite la pathogénie et nous montrerons successivement le traitement envisagé à ce propos et la synthèse des connaissances actuelles sur les propriétés générales et spécifiques du miel et de la propolis et notamment sur son pouvoir antibactérien.

La partie expérimentale comprendra : les matériels et méthodes mis en œuvre pour la réalisation de cette étude, ainsi que les résultats obtenus. Enfin, nous terminerons par une discussion générale qui permettra de faire une synthèse des résultats et de ressortir une conclusion avec quelques perspectives.

# *Synthèse Bibliographique*

### **I.1. Définition des mammites :**

C'est une inflammation d'un ou de plusieurs quartiers de la mamelle de la vache (Annexe 01). Elle est généralement septique et provoquée dans la plupart du temps par une infection bactérienne (Rémy, 2010 et Angoujard, 2015).

### **I.2. Classification des mammites bovines :**

#### **I.2.1. Mammites cliniques :**

Les mammites cliniques sont définies par la présence de symptômes fonctionnels. Elles entraînent systématiquement des modifications macroscopiquement visibles de la qualité du lait dans son aspect, sa texture et dans la quantité produite (grumeaux, pus, caillots sanguins, etc.).

Les mammites cliniques peuvent être associées à des signes locaux (douleur, chaleur, œdème, rougeur, etc.) et/ou généraux (hyperthermie, abattement, anorexie, etc.) (Rémy, 2010). Les mammites sans signes généraux sont plutôt d'évolution subaiguë, alors que les mammites avec signes généraux sont plutôt d'évolution aiguë à suraiguë (Jamali, 2017).

#### **I.2.2. Mammites sub-cliniques :**

Les mammites subcliniques sont asymptomatiques ; les animaux atteints ne présentent pas de symptômes fonctionnels (pas de modification du lait), de symptômes locaux (pas de signes externes d'inflammation), et de symptômes généraux. Ces mammites se traduisent uniquement par une réaction immunitaire (augmentation de la concentration en cellules somatiques du lait) (Rémy, 2010 et Bosquet *et al.*, 2013).

### **I.3. Importance des mammites bovines :**

#### **I.3.1. Impact économique :**

La mammité tient son importance du fait qu'elle représente la pathologie la plus fréquente et la plus coûteuse pour l'industrie laitière à cause de la chute de la production laitière, la réforme précoce des vaches, les frais de traitement, les problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques dans le lait (Annexe 02). (Debreil, 2008).

#### **I.3.2. Impact sanitaire :**

Le lait des mammites clinique n'est pas commercialisé, mais celui des infections subcliniques peut entrer dans la production des fromages et autres produits laitiers (Debreil, 2008).

La contamination de ceux-ci par certains germes ( *Staphylococcus aureus* , *Listeria monocytogenes* et *Salmonella* ) peut être responsable de toxi-infections alimentaires en l'absence de pasteurisation (Debreil , 2008 et Hamiroune et *al.* ,2017 ) .

#### **I.4. Agents étiologiques des mammites cliniques :**

Les mammites sont dans la majorité des cas d'origine bactérienne .Cependant, quelques cas d'origine virale et mycosique ont été décrits.

##### **I.4.1.Bactéries :**

La classification des germes responsable des mammites est souvent répartie en deux groupes : les germes majeurs et les germes mineurs .Cette dichotomie repose sur la fréquence d'isolement et l'impact économique de ces germes (Durel et *al.* , 2011) .

##### **I.4.1.1.Bactéries majeures :**

Les bactéries majeures regroupent des coques à Gram positif tels que les Streptocoques (*Streptococcus uberis* , *Streptococcus dysgalactiae* ,*Streptococcus agalactiae* ,etc.) ,les Staphylocoques (*Saphylococcus aureus* ) , encore quelques entérocoques (*Enterococcus faecalis* ) et des bacilles à Gram négatif tels que les entérobactéries (*E.coli* et *Klebsiella pneumonie* ). Ces germes majeurs peuvent être à l'origine de près de 70 % des mammites cliniques ou subcliniques (Asnoune et *al.* , 2012).

##### **a. *Escherichia coli***

###### **\*Définition :**

*Escherichia coli* est un bacille à Gram négatif , de la famille des entérobactéries. Les infections mammaires à entérobactéries (*E. coli*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Citrobacter spp*, etc.) ont la même pathogénie. Il est impossible de les différencier cliniquement sans examens complémentaires, c'est pourquoi le terme de « mammite à entérobactéries » est souvent employé à côté du terme de « mammite colibacillaire ».

*E. coli* est isolé plus fréquemment lors de mammite clinique que lors de mammite subclinique (Benhamed et *al.* , 2014).Elle peut aboutir à une forte dégradation de l'état général de l'animal et à une importante mortalité (Rémy, 2010).

###### **\*Source et contamination :**

*E. coli* est une bactérie peu contagieuse. Son réservoir principal est la litière des animaux

contaminée par les bouses (Benhamed *et al.*, 2014).

Elles contaminent la mamelle pendant le tarissement et entraînent des mammites cliniques subaiguës ou subcliniques, intervenant souvent dans les trois mois post-vêlage (Rémy, 2010).

De même, les souches « mammaires » d'*E. coli* persistent dans la mamelle et peuvent être transmises d'un quartier à un autre lors de la traite (Bradley et Green, 2000).

**\*Pouvoir pathogène :**

*E. coli* et certaines entérobactéries peuvent échapper à la réponse immunitaire grâce à leur capsule polysidique située autour de la paroi bactérienne. Elles sont moins sensibles aux immunoglobulines, aux neutrophiles et au complément (Sérieys *et al.*, 2005).

*E.coli* possède une forte capacité d'adhésion qui facilite leur invasion dans les cellules épithéliales mammaires .Aussi , elles dirigent leur internalisation dans une vacuole d'endocytose, ce qui empêche l'action des lysosomes et leur multiplication (Passey *et al.*, 2008).

Le pouvoir pathogène des entérobactéries est en partie associée au lipopolysaccharide (LPS), élément de la paroi de la bactérie qui se libère à la mort de celle-ci. Le lipide A constituant du LPS et également appelé endotoxine, est à l'origine de l'endotoxémie et du choc correspondant. On parle ainsi de « mammite toxique » (Sérieys *et al.*, 2005).

**b. *Staphylococcus aureus***

**\*Définition :**

*Staphylococcus aureus* est une coque à Gram +, hémolytique, aéro-anaérobie facultatif. Il forme des colonies rondes, lisses, leur diamètre est égale à 4-6 mm , de couleur blanche, jaune ou orangée sur gélose d'où son nom de staphylocoque doré. C'est une bactérie résistante dans le milieu extérieur.

*Staphylococcus aureus* est à l'origine d'infections persistantes présentant surtout une forme subclinique, mais pouvant parfois également s'exprimer par de courts épisodes cliniques.

*Staphylococcus aureus* est une bactérie contagieuse entre bovins. Généralement, seules quelques souches sont présentes dans un élevage (mode mono-clonal). La plupart du temps, une à deux souches seulement sont responsables de plus de 80 % des infections sévissant dans un élevage donné (Boss *et al.*, 2016).

**\*Source et transmission :**

*Staphylococcus aureus* est présent naturellement sur l'ensemble de la peau, des trayons et des muqueuses des bovins. Des lésions de la peau favorisent sa multiplication.

Son réservoir principal est la mamelle infectée des vaches laitières en production.

La contamination se fait lors de la traite par la machine à traire, les mains du trayeur ou son matériel. (Asperger et Zangerl, 2011).

Après pénétration dans le canal du trayon, *Staphylococcus aureus* envahit les canaux galactophores. Il colonise les cellules épithéliales dès 24h après la pénétration dans le canal du trayon. Sa multiplication est plutôt lente dans l'épithélium, le pic étant atteint entre 2 et 11 jours suivant l'animal (Aydin et al., 2011), puis assez rapide dans le parenchyme mammaire. La détection dans le parenchyme mammaire peut se faire dès 4 jours post-inoculation (Boss et al., 2016).

Par conséquent, *Staphylococcus aureus* est une bactérie contagieuse entre bovins. Elle a plus rarement une origine environnementale. Celle-ci est suspectée lors de l'identification d'une grande variété de souches (Boss et al., 2016).

#### **\*Pouvoir pathogène :**

*Staphylococcus aureus* possède de nombreux facteurs de virulence lui permettant une meilleure adhésion aux épithéliums (adhésines), une invasion facilitée des cellules, etc. Lui confère aussi une résistance aux attaques du système immunitaire avec, par exemple, la leucocidine qui détruit la membrane des leucocytes ou avec la protéine A qui bloque la phagocytose (Bouchiat et al., 2015). *S. aureus* a également la capacité de constituer des biofilms.

*Staphylococcus aureus* peut également pénétrer dans les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les cellules épithéliales et s'y multiplier. Devenu intracellulaire, il n'est plus en contact avec les éventuels antibiotiques extracellulaires circulant dans le sang (Bogoslowski et al., 2018).

Certaines souches produisent des  $\beta$ -lactamases qui les rendent résistantes à certains membres de la famille d'antibiotique des  $\beta$ -lactamines. (Morgenstern, 2016).

#### **c. Staphylocoques à coagulase négative :**

Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) (*Staphylococcus intermedius*, *S. epidermidis*, *S. hyicus*, *S. xylosus*, etc.) sont des coques Gram + dépourvus de coagulase qui est le point de différenciation avec *Staphylococcus aureus*. Les staphylocoques à coagulase négative génèrent majoritairement des mammites subcliniques, le plus souvent chroniques, une mammite à SCN entraîne une perte de production laitière de 8 à 10 %.

Les staphylocoques à coagulase négative ont longtemps été considérés comme des pathogènes mineurs. Suite à la découverte de leur importance sanitaire et économique, ils sont

devenus des pathogènes majeurs (Bresler et al., 2018).

#### **d. *Streptococcus uberis* :**

C'est une coque Gram +, non hémolytique, contagieuse. C'est une bactérie ubiquitaire ; on la trouve sur la peau, les trayons, le pelage et dans la cavité buccale, dans l'environnement. Tout comme *E. coli*, son origine est les fèces (Durel et al., 2011).

*Streptococcus uberis* est responsable de mammites cliniques et de mammites subcliniques (Durel et al., 2011).

#### **I.4.1.2. Les bactéries mineures :**

Les bactéries mineures responsables de mammites sont moins fréquemment rencontrées lors de mammites cliniques tels que : les mycoplasmes, Streptocoques (*S. agalactiae*), les entérobactéries autres qu'*E. coli* (*Klebsiella spp*, etc), certains *Pseudomonas* (Asnoune et al., 2012).

##### **a. Les mycoplasmes :**

Le germe majoritairement isolé est *Mycoplasma bovis*, le réservoir de ce germe est représenté par les quartiers déjà infectés. Sa transmission est très facile d'une vache à l'autre.

Les mammites cliniques à mycoplasmes peuvent être associées à d'autres pathologies (maladie respiratoire) (Maunsell et al., 2011).

##### **b. *Arcanobacterium pyogenes* :**

*Arcanobacterium pyogenes* est à l'origine des mammites dites « mammites d'été ». Ces mammites touchent majoritairement les vaches tarées. Il est à l'origine des mammites très sévères. Dans la majorité des cas, le quartier est définitivement perdu (Zastempowska et Lassa, 2012).

##### **c. *Listeria monocytogenes* et *Salmonella spp* :**

Ces deux bactéries importantes, en terme de sécurité sanitaire des aliments, provoquent rarement des mammites. Ces dernières sont le plus souvent subcliniques.

Les autres bactéries responsables des mammites environnementales sont essentiellement représentées par *Streptococcus dysgalactiae*, *Enterococcus spp*, *Trueperella pyogenes*, *Klebsiella spp*, *Enterobacter spp*, *Serratia spp* et *Pseudomonas spp* (Khan et al., 2017).

#### **I.4.2. Autres agents responsables des mammites :**

##### **a. Virus :**

Le coût important du diagnostic au niveau de laboratoire, les nombreux signes cliniques lors d'infection virale, le caractère subclinique des mammites virales, sont des facteurs qui affectent la recherche du rôle des virus dans les mammites.

Le virus de l'herpès simplex (HSV) peut être une cause rare d'infection mammaire et provoque des lésions le plus souvent sur les zones orales et génitales (Quattrocchi et al., 2017).

##### **b. Levures, champignons et algues :**

Les levures (*Candida albicans*, *Cryptococcus neoformans*), les champignons (*Aspergillus fumigatus*) et les algues (*Prototheca zopfii*) responsables des mammites sont des agents pathogènes mineurs. Ils représentent moins de 2% des isolats (Bidaud et al., 2010). Ce sont des agents naturellement présents dans l'environnement. Les sources de contamination sont souvent des litières humides et/ou des moisies (Rémy, 2010 et Edmondson, 2010).

Les levures et les champignons entraînent des mammites cliniques de sévérité moyenne avec des quartiers durs, chauds, la présence de caillots de lait lors des premiers jets (Mendes et al., 2017)

Les algues (*Prototheca zopfii*) provoquent des mammites subcliniques ou cliniques aiguës avec une forte augmentation des taux cellulaires et une importante baisse de la production laitière (Shahid et al., 2017).

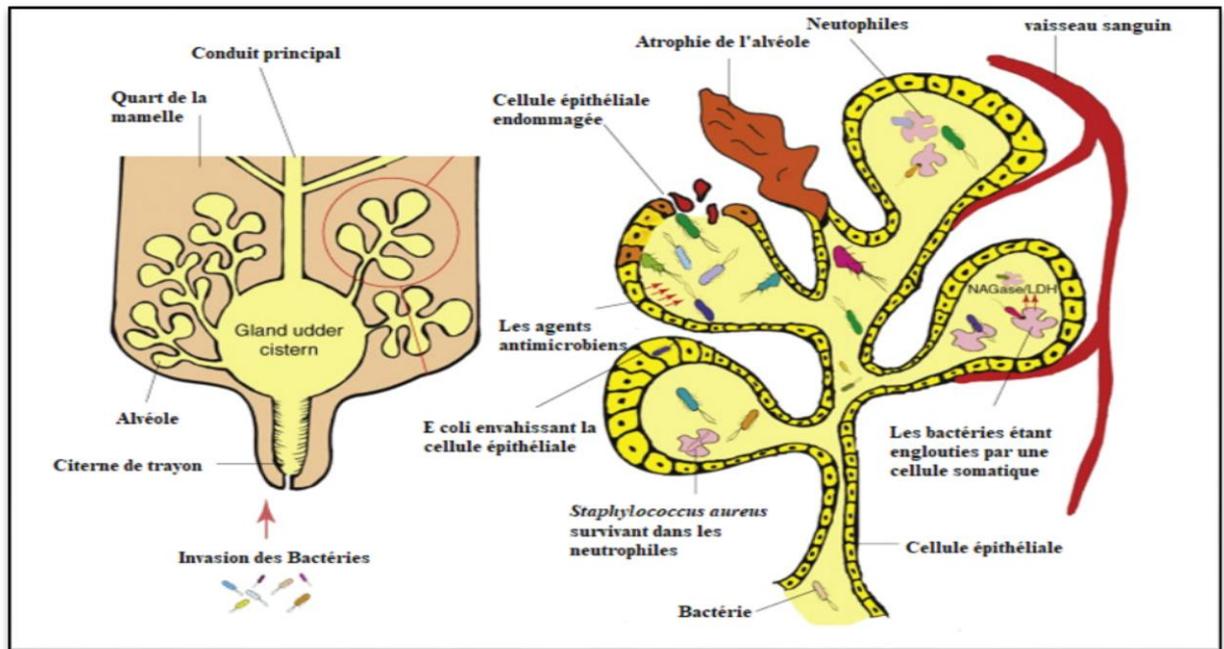
#### **I.5. Pathogénie des infections mammaires :**

##### **I.5.1. Pénétration des germes dans la mamelle :**

Hormis le cas des mammites d'origine hématogène (mammites brucellique ou tuberculeuse), les germes pathogènes pénètrent dans la glande par la voie galactogène (Figure 01).

##### **I.5.2. Infection de la glande :**

Les germes qui provoquent l'infection s'adhèrent du sinus lactifère. Ensuite, ils se multiplient rapidement et envahissent le tissu mammaire. Cette prolifération s'accompagne de la production d'enzymes et de toxines qui vont léser le tissu sécrétoire.



**Figure 01 :** La pénétration et le développement de la mammite dans une mamelle infectée (Viguiier et al., 2009)

### I.5.3. Devenir de l'infection :

L'évolution peut se faire :

- vers la guérison spontanée, lorsque la réponse cellulaire est de bonne qualité ;
- vers l'extension de l'inflammation et de l'infection, lorsque le micro-organisme est très pathogène. On observe alors des manifestations cliniques de mammite ;
- vers la persistance de l'infection dans la glande, on parle de mammite sub-clinique. Un équilibre s'installe entre l'infection et la réponse inflammatoire de la glande. Lorsque l'équilibre se rompt l'expression clinique reprend (Angoujard,2015 ).

### I.6.Traitement des mammites cliniques :

#### 1.6.1. La fluidothérapie :

Lors de déshydratation et surtout de choc, la fluidothérapie est la base du traitement de réanimation. L'état de choc est provoqué lors de mammites par la libération d'endotoxines par les agents pathogènes comme les entérobactéries ou par des exotoxines produites par les staphylocoques, les streptocoques, les clostridies et *Trueperella pyogenes* (Angoujard,2015 ).

Les mammites dues à des entérobactéries comme *E. coli* induisent une hypocalcémie. Une complémentation calcique est à réaliser par voie orale (Angoujard,2015).

### **1.6.2. Anti-inflammatoire (AI) :**

Les agents anti-inflammatoires sont fréquemment utilisés chez les vaches atteintes de mammites cliniques aiguës sévères. Ils permettent de contrôler l'enflure, la douleur et la souffrance de la vache infectée. Ils sont souvent utilisés en complément d'une antibiothérapie et pour des raisons d'éthique. Il existe deux classes d'anti-inflammatoires soit les glucocorticoïdes (GC) (anti-inflammatoires stéroïdiens AIS) et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS)(Angoujard,2015).

### **1.6.3. Traitement à base d'Antibiotiques :**

#### **1.6.3.1.Voie d'administration :**

Dans le cas des mammites cliniques accompagnées de signes généraux, le traitement antibiotique se fait par voie diathélique (intramammaire) avec un spectre large Gram<sup>-</sup> et Gram<sup>+</sup> et générale pour lutter contre les infections secondaires à la bactériémie .

Les mammites cliniques avec signes généraux nécessitent un traitement de première intention le plus efficace possible afin d'éviter l'évolution vers la septicémie et la mort de l'animal.

Alors que, les mammites cliniques non accompagnées de signes généraux , sont souvent des infections récentes et de localisation parenchymateuse superficielle (Sinha et *al.*,2018). recommandent l'utilisation de la voie diathélique en première intention. La voie générale est justifiée seulement lors de congestion importante du quartier, qui restreint la bonne diffusion de l'antibiotique intramammaire ou lors de mammite sub-clinique qui devient clinique (Angoujard , 2015).

#### **1.6.3.2. Traitement des mammites colibacillaires :**

Lors de mammites colibacillaires, la thérapeutique visera d'avantage à traiter l'inflammation que l'infection. Le choix d'un antibiotique approprié supposera bien souvent la réalisation d'un antibiogramme. Un antibiotique bactéricide est souhaitable compte tenu que les vaches sont souvent immunodéprimées. Néanmoins, l'administration d'antibiotique peut aggraver la situation clinique par la libération d'endotoxines lors de la lyse des bactéries. L'utilisation d'anti-inflammatoires devrait minimiser cette conséquence néfaste.

Les Fluoroquinolones, les Céphalosporines et la Gentamycine sont les molécules de choix contre les infections aux coliformes. Cependant, ces derniers présentent une résistance aux Tétracyclines (15 à 35 % des souches), à l'Ampicilline (10 à 40 % des souches) et à la Dihydrostreptomycine (10 à 15 % des souches) et ce sont les principales résistances rencontrées en pathologie mammaire (Roca et *al.* , 2010).

**I.6.3.3. Traitement des mammites cliniques à *Staphylococcus aureus* :**

La pénicilline, l'érythromycine et les céphalosporines sont des antibiotiques fréquemment utilisés dans le traitement de la mammite à *Staphylococcus aureus*. L'érythromycine appartient au groupe des macrolides qui agit dans la cellule bactérienne différemment de la pénicilline et présente une bonne distribution dans la glande mammaire (Selvabai et al., 2017).

**I.6.4. La résistance aux antibiotiques utilisés dans le traitement des mammites :****I.6.4.1. Résistance d' *E. coli* :**

La plupart des *E. coli* isolées de mammite bovine (98,73%) étaient résistants à la sulfamonométhoxine et au sulfaméthoxazole et plusieurs étaient résistants à la gentamicine (6,33%), au ciprofloxacine (10,13%) et à tétracyclines (24,80%) (Zhang et al., 2018).

*E. coli* aussi, résistant à l'ampicilline (Srinivasan et al., 2007) et l'oflaxacine ; cela est due à l'utilisation extensive des  $\beta$ -lactamines et des quinolones dans la guérison et la prévention de cette infection.

**I.6.4.2. Résistance des *Staphylocoques* aux pénicillines :**

Les isolats de *Staphylococcus aureus* à partir du lait de vache atteint de mammite ont une forte résistance à la pénicilline G (80,95%), la prévalence élevée de cette résistance, est démontrée aussi dans les travaux en Malaisie (86% et 76,6%) (Jamali et al., 2014) et en Chine de (90,4% et 74,4%) (Wang et al., 2015) ; Cette résistance résulte de l'acquisition d'un gène de  $\beta$  lactamase et une pénicillinase plasmidique suite à l'administration étendue de cet antibiotique dans les fermes laitières (Jamali et al., 2015).

**I.6.5. Autres traitements :**

Beaucoup d'autres traitements sont utilisés lors de mammites cliniques. Le massage du quartier avec ou sans onguent, l'hydrothérapie, les injections de vitamines et les traitements homéopathiques font partie de cette catégorie. Dans la plupart des cas, leur efficacité n'a pas été démontrée par des études cliniques contrôlées et aléatoires (Rémy, 2010).

## **II.1.Le miel :**

### **II.1.1.Définition de miel :**

Le miel est défini 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. Cette denrée peut-être fluide, épaisse ou cristallisée (Amir et *al.*, 2010).

### **II.1.2.Les différents types de miel :**

Il existe une variété de miels, correspondant aux fleurs et aux plantes visitées par les abeilles ,ainsi qu'à la source récoltée (nectar ou miellat) (Amir et *al.*, 2010).

#### **II.1.2.1 Selon l'origine florale :**

On peut citer :

##### **II.1.2.1.1.Les miels monofloraux :**

Les miels "monofloraux" 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 (Bonté et Desmoulière, 2013).

##### **II.1.2.1.2.Les miels polyfloraux :**

Ces miels sont élaborés à partir du nectar et/ou du miellat provenant de plusieurs espèces végétales (Bonté et Desmoulière, 2013).

#### **II.1.2.2.Selon l'origine sécrétoire :**

##### **II.1.2.2.1.Le miel de nectar :**

Le nectar, exsudation sucrée plus ou moins visqueuse, contient environ 90 % des sucres. Il contient également des acides organiques (acides fumarique, succinique, malique, oxalique, etc.), des protéines, notamment des enzymes, des acides aminés libres (acides glutamique et aspartique, méthionine, sérine, tyrosine, etc.), et des composés inorganiques (comme les phosphates).

Chaque espèce végétale fournit un nectar aux caractéristiques propres qui confèrent au miel sa saveur et son parfum (Sarah et Wissam , 2015).

##### **II.1.2.2.2.Le miel de miellat :**

Il s'agit d'un liquide sucré produit par plusieurs espèces d'insectes parasites vivant sur la plante, tels que des pucerons. Lorsque les conditions climatiques deviennent défavorables, le miellat peut représenter une source nutritive intéressante pour l'abeille (Sarah et Wissam, 2015).

### **II.1.3.Processus d'élaboration du miel :**

Le miel est une substance naturelle sucrée dont l'élaboration résulte d'un procédé complexe qui comporte les étapes suivantes (Figure 02) .

#### **II.1.3.1.Le butinage :**

L'abeille butineuse plonge dans la fleur afin de puiser son nectar et le conserve dans son jabot ,où ferments ou enzymes de son tube digestif entrent en action pour transformer le nectar en miel, le saccharose du nectar, sous l'action de l'invertase, se transforme en glucose, fructose, maltose et autres sucres. Cette étape fournit aux abeilles les élément indispensable à leurs survie (Tourneret, 2015).

#### **II.1.3.2.La trophallaxie et enrichissement :**

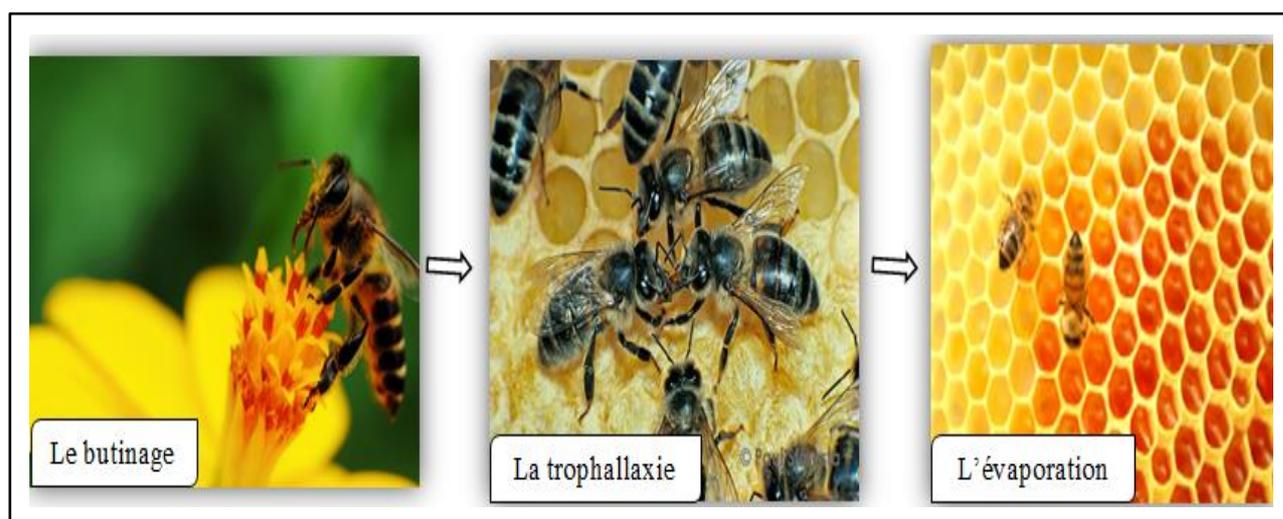
Les modifications physicochimiques se poursuivent dès l'arrivée dans la ruche où la butineuse transfère sa récolte à des abeilles ouvrières d'intérieur qui, par régurgitations successives d'une abeille à une autre compléteront et termineront la transformation commencée, avant d'aller dégorger ce liquide dans les alvéoles de cire disponibles (Bonté et Desmoulière,2013).

#### **II.1.3.3.L'évaporation :**

La solution va alors subir une nouvelle concentration par évaporation qui s'effectue sous la double influence de la chaleur régnant dans la ruche et de la ventilation assurée par les abeilles "ventileuses" qui créent, par un mouvement rapide de leurs ailes, un puissant courant d'air ascendant dans la ruche (Tourneret, 2015) .

#### **II.1.3.4.La conservation :**

Une fois l'alvéole remplie de miel, elle est obturée par un opercule de cire qui permet de le conserver dans de bonnes conditions (Tourneret, 2015).



**Figure 02** : Le processus de fabrication naturel du miel (Anicet et Anne-Virginie , 2013).

#### **II.1.4. Composition chimique du miel :**

##### **II.1.4.1. Les glucides :**

Le miel est principalement composé des sucres (monosaccharides), plus précisément d'un mélange de glucose (31%) et de fructose (38%) . Ils proviennent en grande partie de l'hydrolyse du saccharose (présent dans le nectar ou le miellat) ( Boussaid, A et *al.*, 2014).

##### **II.1.4.2. Les acides organiques :**

C'est l'acide gluconique, dérivé du glucose, qui prédomine dans le miel (Da Silva, 2016).

##### **II.1.4.3. Les acides aminés et les protéines :**

Les acides aminés et les protéines sont présents en faible quantité dans le miel (0,26 %) (Werner et Laccourreye, 2011).

##### **II.1.4.4. Les lipides :**

La proportion des lipides est infime, sous forme des glycérides et des acides gras (acide palmitique, oléique et linoléique ) (Werner et Laccourreye, 2011).

##### **II.1.4.5. Les sels minéraux :**

Les matières minérales ne sont présentes qu'à un taux d'environ 0,1 % , leurs teneur dépend des plantes visitées par les abeilles ainsi que du type de sol sur lequel les végétaux poussent (Annexe 03) (Bonté et Desmoulière, 2013).

**II.1.4.6. Les enzymes :**

Les enzymes proviennent soit des nectars, soit des sécrétions salivaires de l'abeille qui est responsable de l'hydrolyse des disaccharides (Werner et Laccourreye, 2011).

**II.1.4.7. Les vitamines :**

Le miel ne contient que très peu des vitamines, essentiellement des vitamines du groupe B provenant des grains de pollen en suspension, tels que la thiamine B1, la riboflavine B2 (Kim et Brudzynski, 2018).

**II.1.4.8. Les pigments :**

Les caroténoïdes et les flavonoïdes sont principalement responsables de la coloration du miel (Werner et Laccourreye, 2011).

**II.1.5. Propriétés thérapeutique du miel :****II.1.5.1. Propriétés antibactériennes :**

La puissante activité in vitro du miel est démontré vis-à-vis des bactéries résistantes aux antibiotiques qui est due aux différents facteurs physiques et chimiques (Kwakman et *al.*, 2010).

**II.1.5.1.1. Les facteurs physiques :****a. L'osmolarité :**

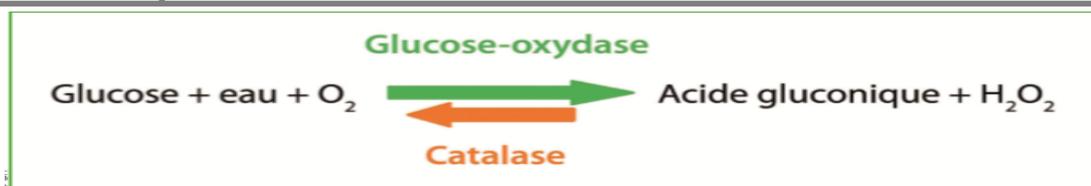
L'osmolarité est la conséquence de la forte teneur en sucre du miel qui présente un effet bactéricide. Il agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont alors plus suffisamment d'eau pour survivre (Soltani et *al.*, 2015).

**b. Le pH acide :**

Le pH du miel est relativement acide, situé entre 3,5 et 6. Il permet de ralentir ou éviter la croissance de certaines espèces de bactéries pathogènes (Chakir et *al.*, 2016).

**II.1.5.1.2. Les facteurs chimiques :****a. Le système peroxyde d'hydrogène :**

C'est la glucose-oxydase sécrétée par les glandes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet l'oxydation de l'eau et du glucose en eau oxygénée et d'acide gluconique.



L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement des colonies bactériennes (Khan et *al.*,2017).

#### **b. Les facteurs phytochimiques :**

Parmi les facteurs phytochimiques se retrouve les huiles essentielles des nectars des fleurs dont le pouvoir antibactérien est déjà connu comme les flavonoïde (Khan et *al.*,2017).

#### **c. La Défensine-1 :**

Est une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles disponibles dans le miel et la gelée royale. Ce sont des petits peptides, de masse moléculaire variant de 3,5 à 6 k Da, qui possèdent un large spectre d'activité antimicrobienne contre les bactéries gram positif (Bonté et Desmoulière, 2013).

#### **d. Le méthylglyoxal (MGO) :**

Certains miels sont doués d'une activité qualifiée le « non peroxydasique » , c'est-à-dire qu'ils conservent un fort pouvoir antibactérien même quand leur activité peroxydasique est neutralisée par la catalase ou par chauffage ( miel de Manuka ) .

Cette activité est attribuées à une molécule : le méthylglyoxal (MGO).Le MGO est synthétisé lors du stockage du miel par conversion du dihydroxyacétone (Mavric et *al.*.,2008).

#### **II.1.5.2. Propriétés cicatrisantes :**

La propriété cicatrisante de miel fait l'objet de nombreuses études cliniques à travers le monde quel que soit leur origine: plaies post-opératoires, brûlures, ulcères et escarres, du fait de sa capacité à stimuler toutes les étapes de la cicatrisation (Chaudhary et *al.*, 2015).

Le miel libère de manière progressive et inoffensive du peroxyde d'hydrogène ( $\text{H}_2\text{O}_2$  ) et permet d'accélérer la réparation tissulaire (Koenig et *al.*.,2016).

En effet, le  $\text{H}_2\text{O}_2$  au contact des tissus et du sang, se décompose en eau et en oxygène qui permet de nettoyer la plaie. De plus, l'eau oxygénée favorise l'angiogenèse, la prolifération des fibroblastes et des cellules épithéliales qui participeront à la réparation tissulaire (Chaudhary et *al.*, 2015).

Le fait de son hyper-osmolarité au niveau des plaies, le miel draine la lymphe et le plasma des tissus sous-adjacent et périphériques, ce qui contribue à maintenir un milieu humide (Koenig et *al.*, 2016).

Ce milieu humide est responsable de:

- L'élimination des agents pathogènes ;
- le débridement mécanique par les mouvements des fluides, ainsi un nettoyage de la plaie (détorsion);
- la résorption de l'œdème lésionnel.

La défensine-1 et la méthylglyoxal sont efficaces pour la détersion, la formation des tissus de granulation et l'élimination des exsudats et permettent souvent une bonne cicatrisation (Chaudhary et *al.*, 2015).

## II.2. La propolis :

### II.2.1. Définition de la propolis :

La propolis, également appelée colle d'abeille, est une matrice complexe naturelle synthétisée par les abeilles à partir des produits collectés dans les bourgeons des arbres, les sucs et les raisins (Figures 03).

Le mot propolis est dérivé du grec, dans lequel « pro » signifie (devant) et « polis » signifié (cité) veut dire « devant la cité » indiquant que ce produit naturel est utilisé dans la défense de la ruche. En raison de sa nature cireuse et mécanique, la propolis est utilisée par les abeilles comme ciment pour garder l'humidité et la température stable dans la ruche toute l'année, et sceller les fissures ou les espaces ouverts (Zabaiou et *al.*, 2017).



**Figure 03 :** La propolis brute (Donadieu, 2008)

### II.2.2. Origine de la propolis algérienne :

Selon la flore botanique disponible en Algérie, la propolis prend différents origines : Pin (*Pinus ssp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne lige et chêne zeen) qu'on trouve au Nord-Est du pays, Châtaigniers, Cyprès (*cupressus spp*), casuarina et le peuplier (*populu ssp*) (Annexe 04) (Moudir, 2004).

### II.2.3. La récolte de la propolis :

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par les abeilles et ensuite par l'homme

#### II.2.3.1. La récolte de la propolis par les abeilles :

La récolte de propolis est faite par un nombre relativement restreinte d'abeilles ouvrières butineuses, Cette opération assez lente qui peut durer d'une à plusieurs heures de la façon suivante :

- à l'aide de ses antennes, l'abeille repère un morceau de propolis, puis avec ses mandibules, elle en détache un fragment en s'aidant parfois de ses pattes antérieures ;
- le morceau de propolis modelé par les mandibules est pris avec les pattes antérieures ;
- celui-ci est alors transféré aux pattes du milieu ;
- par un mouvement rapide la propolis est finalement déposée dans la corbeille des pattes postérieures, où elle est transportée jusqu' à la ruche (Simone-Finstrom et Spivak, 2010).

#### II.2.3.1.1. Les conditions de la récolte :

La récolte de la propolis dépend de nombreux facteurs cités dans le tableau 01.

**Tableau 01 : Les conditions de la récolte de la propolis (Ferhoum,2010).**

Le critère	Les conditions
<b>L'âge de l'abeille</b>	l'âge minimale est de dix-huit jours .
<b>La saison</b>	en début de printemps, ou à la proche d'automne .
<b>La temperature</b>	température supérieure à 20°C .
<b>La race</b>	les caucasiennes et certaines autres races d'Asie mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent, en général d'avantage que les autres.
<b>La géographie</b>	Il a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées propolisent plus que les ruches de plaines .

#### II.2.3.2. La récolte de la propolis par l'apiculteur :

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence à une température

assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux ;

- par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité, qui permet l'élimination des déchets les plus grossiers. Ils est ensuite dissoute à froid dans l'alcool éthylique à 70 % ce afin d'éliminer la cire (Angoujard,2015) .

#### **II.2.4.Utilisation de la propolis :**

##### **II.2.4.1.Utilisation de la propolis par les abeilles :**

Dans la ruche , la propolis est utilisée par les abeilles pour :

- Boucher les trous et éviter les courants d'air indésirables ;
- Pour lisser et imperméabiliser les parois intérieures afin d'éviter une humidité excessive ;
- Pour protéger l'entrée les intrus ( les parasites et les pathogènes ) (Finstrom et Spivak, 2010).

##### **II.2.4.2.Utilisation de la propolis par l'homme :**

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

###### **II.2.4.2.1.La cosmétique :**

De nos jours en cométique , elle est utilisée pour ses propriétés antiseptiques dans des produits shampoings .Elle est également utilisée dans les déodorants , les savons , les crèmes ( Sung, 2017).

###### **II.2.4.2.2.Le domaine agroalimentaire :**

La propolis peut être pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (Dos Reis et *al.*,2017) .

###### **II.2.4.2.3.La médecine :**

La propolis est utilisée dans divers traitements mentionnés dans le Tableau 02.

**Tableau 02 : Des exemples d'utilisation de propolis dans le domaine de médecine (Soufy,2017).**

La maladie		L'utilisation de la propolis
<b>Appareil respiratoire</b>	Les angines banales habituelles.	Il est utilisé sous forme de morceaux ou pâtes à mâcher comme du chewing-gum ou encore sous forme de spray à pulvériser dans la gorge .
	laryngites / trachéites / rhino pharyngites /	La propolis est utilisée sous forme de poudre fine prisee directement dans chaque narine.
	Les otites externs	elle est utilisée sous forme de poudre ou mieux de gouttes de teinture à instiller.
<b>l'affection bucco-dentaire</b>	L'abcès dentaire	mastiquer un morceau de propolis du côté opposé de l'infection, deux à trois fois par jours .La propolis a des vertus désinfectantes et cicatrisantes qu'on peut exploiter dans le traitement des aphtes, soit en pâte à mâcher ou en bain de bouche. Elle a un effet préventif sur les germes responsable des caries dentaires .
	Diabète	La propolis a une action directe sur le pancréas endocrine,l'effet attend est hypoglycémiant .
	Le cancer	Les résultats obtenus jusqu'à présents montrent un effet anticancéreux de la Propolis Algérienne.

### II.2.5. Composition chimique de la propolis :

La propolis comprend différents composants avec des portions différentes présentés dans le tableau suivants :

**Tableau 03 : La composition chimique de la propolis (Zancanela et al, 2017).**

Constituant	Pourcentage
<b>Résine végétale</b>	50 %
<b>Cire</b>	30 %
<b>Huile aromatique</b>	10 %
<b>Pollen</b>	5%
<b>Autre substance organique</b>	5%

### II.2.6.Composition physique de la propolis :

Les principales propriétés physiques sont rapportées dans le tableau suivant.(Tableau 04).

**Tableau 04 : Les propriétés physiques de la propolis (Zancanela et al, 2017).**

Le critère étudié	Leur aspect
La consistance	Dure et friable à 15 °C. Molle de 25 à 45 °C. Gluante de 60-70 °C en moyenne.
La couleur	jaune clair (conifères) au brun très foncé, presque noir en passant par toute une gamme de brun extrêmement riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.) .
La saveur	souvent âcre et parfois amère
Odeur	en général arôme agréable et douceâtre .

### II.2.7.Propriétés thérapeutique :

#### II.2.7.1.L'activité antimicrobienne :

L'activité bactéricide de la propolis a été démontrée sur des bactéries Gram+( large spectre) et Gram– parmi eux : Staphylocoque (*Stapylococcus aureus et S .mutans*), Streptocoque (*Streptococcus mutans et S. sanguinis*), Bacilles (*Bacillus ucereus et B.subtilis*), *Proteus* (*P.vulgaris et P.mirabilis*) et des *Pseudomonas* (Onlen et al ., 2007).

#### II.2.7.2.L'activité antifongique

Elle a des effets antimycosiques, contre les germes appartenant au genre *Candida* et contre les levures (mycose vaginales, buccales, digestives) (Khurshid et al ., 2017). *Aspergillus* et autres champignons : *Trichophyton rubrum* ou encore *Microsporium canis* (Cardinault , 2012) et ascomycètes qui sont sensible à l'action de l'acide caféique, de la galantine et d'autre substances contenues dans la propolis (Ozcan, 2004) .

#### II.2.7.3.L'activité antivirale

Des études ont montré que la propolis était efficace contre de nombreux virus : myxovirus, poliovirus, coronavirus et le virus de la grippe (Siheri et al ., 2017).

#### II.2.7.4.L'activité antiparasitaire

Quelques études ont montré que la propolis était efficace contre les *Trichomonas*, *Trypanosoma* (responsable de la maladie du sommeil) , *leishmania* et *Giardia lamblia* (parasitose intestinale) (Abdel-Fattah et Nada , 2007).

#### II.2.8.Toxicité

La toxicité de la propolis est très faible . cependant Il peut exister des cas d'allergies de contact (dermatose et eczéma) avec un allergène bien identifié : le 3,3-dimethylallyl caffeate (Gardana et *al* ., 2007).



# *Partie Expérimentale*

### I.1.Objectifs :

La mammite clinique bovine est une pathologie qui cause des pertes économiques énormes et un impact défavorable sur la santé humaine.

De ce fait, l'objectif de ce travail est de faire une comparaison entre l'effet antibactérien des échantillons choisis vis-à-vis des souches isolées à partir de cette affection, puis les comparer avec celui des antibiotiques et de déterminer leurs CMI et de leurs CMB .Tout cela est dans le cadre d'identifier un nouveau moyen de lutte.

### I.2.Cadre de l'étude :

Notre expérimentation a été faite auprès du laboratoire de microbiologie, du département de biologie appliquée, de l'université de Cheikh Laarbi Tebessi , Tebessa pendant une durée allant du 1<sup>er</sup> février jusqu'à fin Avril.

### I. 3. Matériels et méthodes :

#### I.3.1.Matériels :

##### I.3.1.1. Echantillons du miel et de la propolis :

Notre étude a été faite sur 3 variétés de miel avec leurs propolis correspondantes (Figure 04).Par ailleurs, les renseignements de chaque échantillon sont récapitulés dans le tableau suivant :

**Tableau 05:** Les renseignements sur les échantillons du miel.

N° d'échantillon	Types du miel	Région	Date de récolte	Le mode d'extraction	Couleur (marron)
M1	Monoflorale	Batna	Avril 2017	Manuelle	Clair
M2	Polyflorale	Tizi-Ouzou	Mai 2016	Manuelle	Foncé
M3	Polyflorale	Tébessa	Mai 2016	Manuelle	Foncé



**Figure 04:** Les échantillons de miel et leurs propolis correspondantes.

### I.3.1.2. Les souches bactériennes:

Au total, 10 souches, isolées à partir de mammites cliniques, ont fait l'objet d'une évaluation de leurs sensibilités, *in vitro*, aux antibiotiques et aux échantillons récoltés (Tableau 06). Elles ont été fournies par le laboratoire de recherche de la gestion des ressources animales locales, de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger (Figure 05).

**Tableau 06 :** Les souches bactériennes.

Nom de souches	Nombre
<i>Staphylococcus aureus</i>	05
<i>Escherichia coli</i>	05
<i>Escherichia coli</i> (ATCC25922)	01



**Figure 05 :** Souches conservées sur gélose nutritive inclinée

### I.3.1.3. Les antibiotiques :

Les antibiotiques testés sont sélectionnés parmi les molécules actives, actuellement sur les entérobactéries (*Escherichia coli*) et les Staphylocoques (*Staphylococcus aureus*), et ceux qui sont utilisés le plus couramment par les vétérinaires praticiens dans le traitement des mammites (Tableau 07 et 08).

**Tableau 07:** Liste des antibiotiques testés sur *Staphylococcus aureus* .

Famille	Antibiotique	Code	Charge du disque	Diamètre critique		
				S $\geq$	I	R $\leq$
Macrolide	Spiromycine	$\neq$ SP	100mcg	24	-	19
Tétracycline	Tétracycline	*TE	30mcg	22	20-21	19
Streptogramine	Pristinamycine	*RP	15mcg	21	19-20	18
B.Lactamine	Amoxy-clav	AMC	30mcg	20	-	19
	Pénicilline	PEN	10mcg	28	-	29

Valeurs critiques tirées à partir : d'Eucast, 2015\*, d'Eucast, 2012<sup>†</sup> et CLSI, 2015.

**Tableau 08** : la liste des antibiotiques testés sur *Escherichia coli*.

Famille	Antibiotique	Code	Charge du disque	Diamètre critique		
				S $\geq$	I	R $\leq$
B.Lactamine	Ampicilline	*AMP	10 mcg	14	-	14
	Cephalothin	*CEP	30 mcg	18	15-17	14
	Amoxy-clav	AMC	30 mcg	19	-	19
Quinolones	Oflaxacine	*OFX	5 mcg	22	20-21	19
Sulfamides	Thrimethoprim-sulfamethoxazole	**SXT	25 mcg	14	12-13	11
Tétracycline	Tétracycline	TE	30 mcg	15	12-14	11

Valeurs critiques tirées à partir : d'Eucast, 2015\*, d'Eucast 2017\*\* et CLSI, 2015.

#### I.3.1.4. Matériel nécessaire :

- **Verreries et appareillages** : (Annexe 05).
- **Milieus de culture** : ( Annexe 06 ).
  - **Gélose** :
    - Gélose biliée au vert brillant et au rouge neutre (VRBL) .
    - Gélose Muller Hinton (MH) .
    - Gélose nutritive (GN) .
    - Gélose Chapman.
  - **Bouillon** :
    - Bouillon nutritif.

#### I.3.2. Méthodes :

##### I.3.2.1. Prélèvements :

L'entroposage du miel récolté est effectué dans des flacons en verre stérile ,dans un endroit a l'abri de la lumière et à une température égale à 0-5 °C, afin de garder les composés fragiles tels qu'ils sont.

En parallèle , la propolis obtenue est placée dans des sachets en plastique, à température ambiante et à l'abri de la lumière jusqu'au moment de l'analyse au laboratoire.

##### I.3.2.2. Recherche des *Staphylococcus aureus* et des coliformes thermo-tolérants dans les échantillons du miel :

Cette partie a pour but de sélectionner les miels qui vont être utiles pour notre

expérimentation, en vérifiant, à l'avance, leurs activités antibactériennes vis-à-vis des bactéries à tester.

Par ailleurs, Le choix du milieu est selon la disponibilité du produit dans le laboratoire.

#### ✓ Protocole

- Couler les boîtes par le milieu de VRBL et celui de Chapman.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine, un öse de miel.
- Ensemencer les boîtes, préalablement coulées par les deux milieux, par des stries, en utilisant la méthode de quadrants (Figure 06).
- Incuber les à température de 44 °C pour VRBL et de 37°C pour Chapman, pendant 24 h.



**Figure 06:** Ensemencement du miel sur milieu VRBL.

#### ✓ Lecture :

- Les coliformes apparaissent sous forme de petites colonies (Lac+) ,d'un diamètre de 0,5 mm, d'une couleur rouge-violet, très souvent entourées d'un halo rouge de précipitation biliaire.
- Par ailleurs, les *staphylococcus aureus* sur Chapman forment des colonies luxuriantes, pigmentées en jaune et entourées d'une auréole jaune due à la fermentation du mannitol.

### I.3.2.3. Antibiogramme :

#### ✓ Principe de l'antibiogramme :

La technique consiste à déposer à la surface de la gélose, préalablement ensemencée avec une suspension bactérienne, des disques de papier buvard imprégnés de différents antibiotiques. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose à partir du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque.

Après 18 heures d'incubation à 37 C°, chaque disque est entouré ou non, d'une zone d'inhibition de la croissance bactérienne. La multiplication des bactéries s'arrête là !où existe dans la

gélose, une concentration d'antibiotique égale à la CMI. On détermine une valeur critique inférieure (diamètre minimum) et une valeur critique supérieure (diamètre le plus élevé) permettant de classer les souches, sensibles (au-dessus de la valeur critique supérieure), résistantes (en dessous de la valeur critique inférieure) et intermédiaires (entre ces deux valeurs).

✓ **Protocole :**

Les souches ont été testées par la méthode de diffusion en milieu solide selon la technique préconisée par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute, 2011) et Eucast, 2017.

Le milieu utilisé est la gélose Muller-Hinton fabriquée par l'institut Pasteur d'Algérie (IPA).

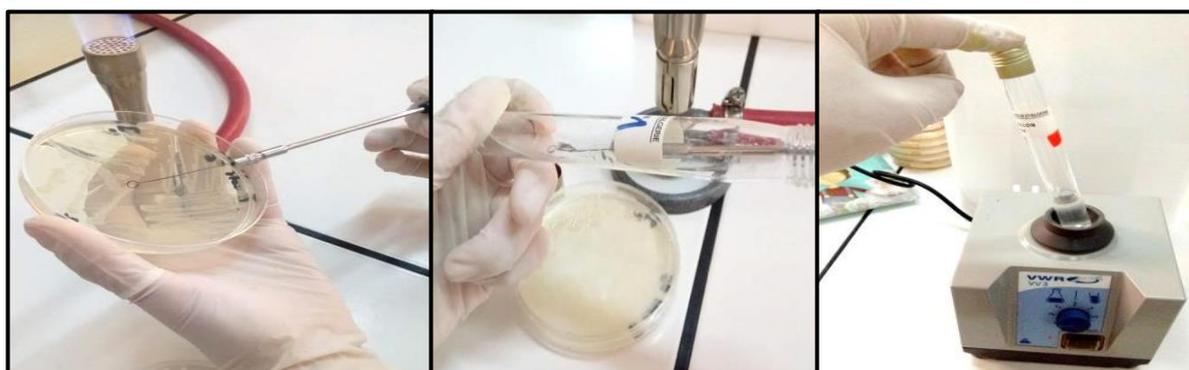
- Il doit être coulé en boîtes de Pétri sur une épaisseur de 4 mm .
- Les géloses doivent être séchées avant l'emploi.

Le test est réalisé comme suit :

**a. Préparation de l'inoculum :**

- A partir d'une culture pure de 18 à 24 h sur milieu d'isolement non sélectif, racler à l'aide d'une anse de platine quelques colonies bien isolées et parfaitement identiques.
- Bien décharger l'anse dans 5 à 10 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%.
- Bien homogénéiser la suspension bactérienne, son opacité doit être équivalente à 0,5 Mac Farland ou à une D.O. de 0,08 à 0,10 lue à 625 nm ( Figure 07).

**Remarque :** On a comparé la turbidité par rapport à l'étalon de Mac Farland préparé au laboratoire. Ceci est rapporté dans l'annexe 07.



**Figure 07 :** Préparation de l'inoculum.

**b. Ensemencement :**

- Tremper un écouvillon stérile dans l'inoculum.
- L'essorer en le pressant fermement (et en le tournant) contre la paroi interne du tube, afin de décharger au maximum.

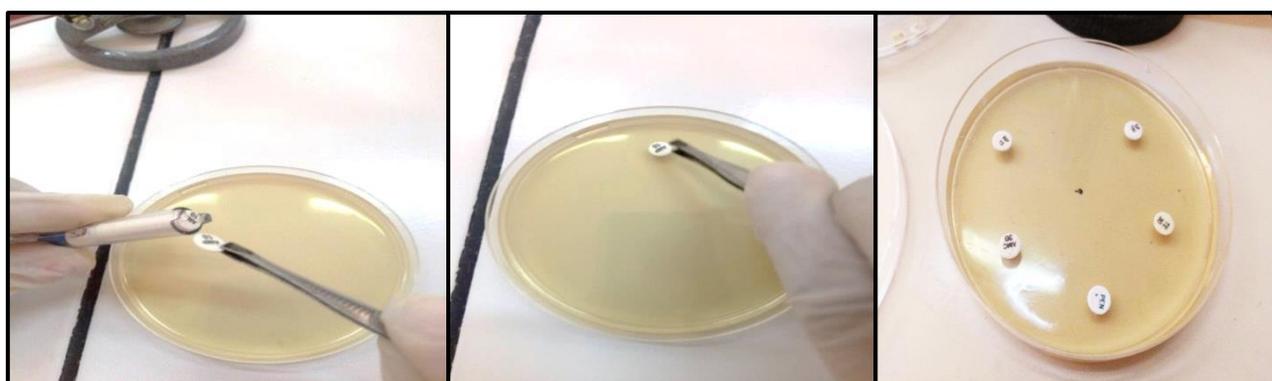
- Frotter l'écouvillon sur la totalité de la surface gélosée, sèche, de haut en bas, en stries serrées (Figure 08).
- Répéter l'opération 2 fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois, sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose.
- Dans le cas où l'on ensemence plusieurs boîtes de petri, il faut recharger l'écouvillon à chaque fois.



**Figure 08 :** Ensemencement sur gélose Muller Hinton.

#### **c- Application des disques d'antibiotiques :**

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotiques sur une boîte de 90 mm.
- Les disques d'antibiotiques choisis sont posés à la pince flambée. Deux précautions sont importantes à respecter :
  - ✓ les disques doivent être parfaitement appliqués à plat sans glissement en appuyant légèrement sur la surface de la gélose ;
  - ✓ une distance minimale de 15 mm doit séparer un disque périphérique du bord de la boîte et deux disques doivent être éloignés au minimum de 30 mm de sorte que les zones d'inhibition ne se chevauchent pas.



**Figure 09 :** Application des disques d'antibiotiques.

**d- Incubation :**

Les boîtes sont incubées à 35°C pendant 18 heures, au plus tard 15 minutes après avoir été inoculées.

**e- Lecture et interprétation :**

- La lecture se fait en mesurant les diamètres d'inhibition exprimés en millimètre à l'aide d'un pied à coulisse.
- Les mesures seront prises en procédant par transparence à travers le fond de la boîte de Petri fermée.
- L'interprétation est effectuée conformément aux indications d'EUCAST et de CLSC.
- Les souches, pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur au seuil de résistance, sont considérées comme «résistantes».
- Les souches , pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur au seuil de sensibilité, sont considérées comme « sensibles» et les souches ,pour lesquelles le diamètre de la zone d'inhibition est compris entre le seuil de résistance et le seuil de sensibilité, sont considérées comme «intermédiaires».

**f- Contrôle de qualité :**

La souche de référence *Escherichia coli* ATCC 25922 a été utilisée dans les mêmes conditions de test et d'incubation pour tester l'efficacité des antibiotiques.

**I.3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne du miel et de la propolis:**

L'évaluation a été faite en appliquant la méthode de diffusion par disque sur gélose. De ce fait, nous allons suivre les mêmes étapes de l'antibiogramme, sauf qu'ici on doit préparer les échantillons ainsi que les disques.

**a. Préparation des échantillons :****a1. Extraction de la propolis:**

Elle est faite suivant le protocole préconisé par FAO, 2018.

**✓ Précautions à prendre avant de démarrer l'extraction :**

- Afin de préparer la propolis brute pour l'extraction, il faut tout d'abord, la purifier à l'aide d'une spatule, en enlevant les gros débris, tels que les morceaux de bois ou les abeilles mortes.
- Ensuite, pour augmenter au maximum la surface de contact de la propolis avec le solvant utilisé, elle doit être cassée en petits ou broyée en fine poudre.

- Si la propolis est très collante pour être broyée correctement, elle doit être placée dans un réfrigérateur ou un congélateur, pendant quelques heures. Une autre alternative serait d'étirer les morceaux de propolis en fines feuilles ou en bandes minces, ce qui permettrait d'augmenter la surface de contact entre la propolis et le solvant, et favoriser ainsi la dissolution des composants actifs de la propolis.

• **Extraction :**

Il existe trois types d'extraction de la propolis selon le solvant utilisé :

- ✓ extraction éthanolique;
- ✓ extraction aqueuse ;
- ✓ extraction huileuse.

✓ **Préparation des mélanges :**

❖ **Extrait éthanolique de la propolis :**

- On a besoin de 3g de propolis et 9 ml d'éthanol pur pour un extrait à 30 % de propolis.
- Mettez l'alcool et la propolis dans un récipient et fermez-le hermétiquement.
- La propolis doit être laissée trempée dans l'alcool pendant plus d'une semaine dans un endroit sombre.
- Agitez la propolis une ou deux fois par jour .

❖ **Extrait aqueux de la propolis :**

- Les extraits aqueux peuvent être obtenus par trempage de 3g de la propolis dans 9 ml d'eau distillée stérile pendant plusieurs jours, ou en la faisant bouillir dans de l'eau .

❖ **Extrait huileux de la propolis :**

- Tremper 3g de la propolis dans 70 ml d'huile alimentaire (huile de coco , huile de tournesol ,etc. )

✓ **Chauffage :**

- Faire bouillir tous les mélanges préparés à 50°C pendant 10 minutes ( Figure 10 ).



**Figure 10:** Stérilisation des mélanges préparés.

✓ **Filtration :**

Après macération et stérilisation, le mélange est filtré par un papier filtre (Figure 11) .



**Figure 11:** Filtration du mélange (propolis+ huile) .

- Le filtrat doit être un liquide clair, exempt de particules.
- Il est conservé dans des tubes à essai propres, fermés hermétiquement, à l'abri de la lumière.
- Enfin, après filtration, on a pu avoir la liste des extraits de la propolis comme rapporté dans le tableau 08 et illustré par la figure 12.

**Tableau 09 :** Liste des extraits des propolis préparées.

Extrait	Extrait ethanolique	Extrait aqueux	Extrait huileux
Enchantions			
Propolis1(P1)	EEP1	EAP1	EHP1
Propolis1(P2)	EEP2	EAP2	EHP2
Propolis1(P3)	EEP3	EAP3	EHP3



**Figure 12:** Les différents extraits des propolis.

### **a2.Préparation des disques :**

Habituellement, les disques des antibiotiques sont présentés sous forme des disques de 6 mm de diamètre. Donc, les disques du miel et de la propolis doivent présenter ces mêmes conditions.

- Couper papier Wattman en disques de 6 mm .
- Stériliser les disques par autoclavage pendant 20 min a 120 °C dans une boîte de pétri en verre contenant 10 ml d'eau distillée (figure 13) .

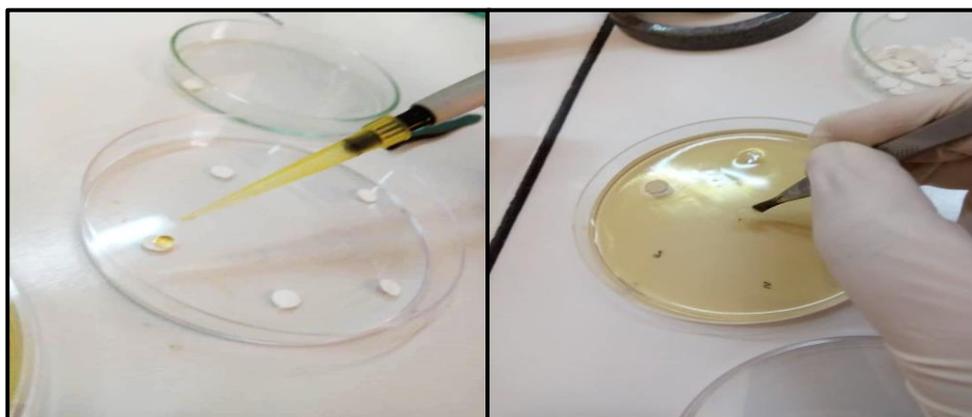


**Figure 13 :** Préparation des disques.

### **✓ Application des disques :**

A l'aide d'une micropipette , on dépose 10 à 15 microlitre du miel sur chaque disque (On peut faire aussi la méthode d'imprégnation).

Les disques du papier Wattman sont déposés à l'aide d'une pince stérile sur la gélose, préalablement ensemencé, pour déterminer l'activité antimicrobienne du miel (Figure 14).



**Figure 14 :** Application des disques à base du miel et de la propolis.

### 1.3.2.5. Détermination de la CMI et de la CMB :

- **Concentration minimale inhibitrice (CMI) :**

*a. Principe de la CMI :*

La méthode de dilution est effectuée en milieu liquide. Elle consiste à mettre un inoculum bactérien au contact de concentrations décroissantes de miel. L'inoculum bactérien est distribué dans une série de tubes (méthode de macrodilution) contenant le miel. Après incubation, la CMI est indiquée par le tube qui contient la plus faible concentration de miel où aucune croissance n'est visible (Djaafri et *al*, 2014).

**b. Protocole :**

- ✓ **Méthode de dilution en milieu liquide :**

- la suspension bactérienne préparée doit être ajustée à 0,5 MC Farland.
- 10 tubes à essais stériles sont placés dans un portoir numérotés de 1 à 8 , sauf le premier et le dernier tube.
- le premier tube : témoin - (tube M ou miel) et le dernier tube : témoin + (tube bouillon nutritif).
- 1 ml de Bouillon nutritif stérile est ajouté dans chaque tube, sauf le tube 1 (M).
- 1 ml de miel non dilué est ajouté dans le tube 1 et le tube M à l'aide d'une micropipette stérile.
- Une série de double dilution a été formée par le transfert de 1 ml de miel non dilué à l'aide d'une nouvelle micropipette stérile vers le tube 2 à partir de tube 1, après homogénéisation par un vortex.
- Après une bonne homogénéisation, 1 ml est transféré par une autre micropipette stérile de tube 2 au tube 3 et ainsi de suite jusqu'au 8<sup>ème</sup> tube.
- Par la suite, on prend 1 ml à partir de tube 8 et on le jette.
- 1 ml de la suspension bactérienne, préparée préalablement, est ajoutée dans les tubes, sauf le tube M.

- Les tubes sont incubés pendant 24 h à 37 °C.
- Après incubation, l'inspection de la présence (+) ou l'absence (-) de la croissance se fait à l'oeil nue (turbidité).

Ces étapes sont répétées pour chaque échantillon du miel (Ahmed et *al.*, 2014).

- **Concentration minimale bactéricide (CMB) :**

La détermination de la CMB est de trouver la concentration minimale pour laquelle le miel détruit totalement la bactérie testée (effet bactéricide).

**a. Protocole :**

- Ensemencer les boîtes, préalablement couler par la gélose nutritive, par les tubes qui n'ont pas présenté des troubles, pendant l'étape précédente (Figure 15).
- Incuber les boîtes à 37°C , pendant 24 heures.
- Enfin , la dilution pour laquelle la boîte reste stérile (culture négative) est considérée comme la CMB du miel étudié (Ahmed et *al.*, 2014).



**Figure 15 :** Ensemencement de la GN par les tubes déclarés négatifs.

### 1.3.2.6. Analyse statistique :

Les données obtenues de l'expérimentation ont été soumises à une étude statistique, qui est consisté en une analyse de la variance suivie par le test de Newman et Keuls ,dont le but est de classer les différents échantillons ainsi que les antibiotiques en groupes homogènes pour permettre une explication des phénomènes mis en jeu. Ces analyses ont été effectuées avec le logiciel STATISTICA 10.

**II. Résultats :****II.1. Recherche de *Staphylococcus aureus* et des coliformes thermo-tolérants dans les échantillons du miel :**

Les données relatives à la recherche des bactéries dans le miel sont mentionnées dans le tableau suivant :

**Tableau 09:** Résultat de la recherche des coliformes thermo-tolérants et de *Staphylococcus aureus*.

Miel	Résultat de la recherche
M1	Absence de culture
M2	Absence de culture
M3	Absence de culture

La recherche des bactéries citées ci-dessus a montré l'absence de ces dernières dans les trois échantillons du miel.

**II.2. Résultats de test de sensibilité aux antibiotiques et aux échantillons utilisés :****II.2.1. Effet sur *Staphylococcus aureus* :****a. Sensibilité aux antibiotiques :**

Les résultats relatifs au profil de sensibilité des souches de *Staphylococcus* aux antibiotiques testés sont rapportés dans le tableau 10 et illustré par la figure 16.

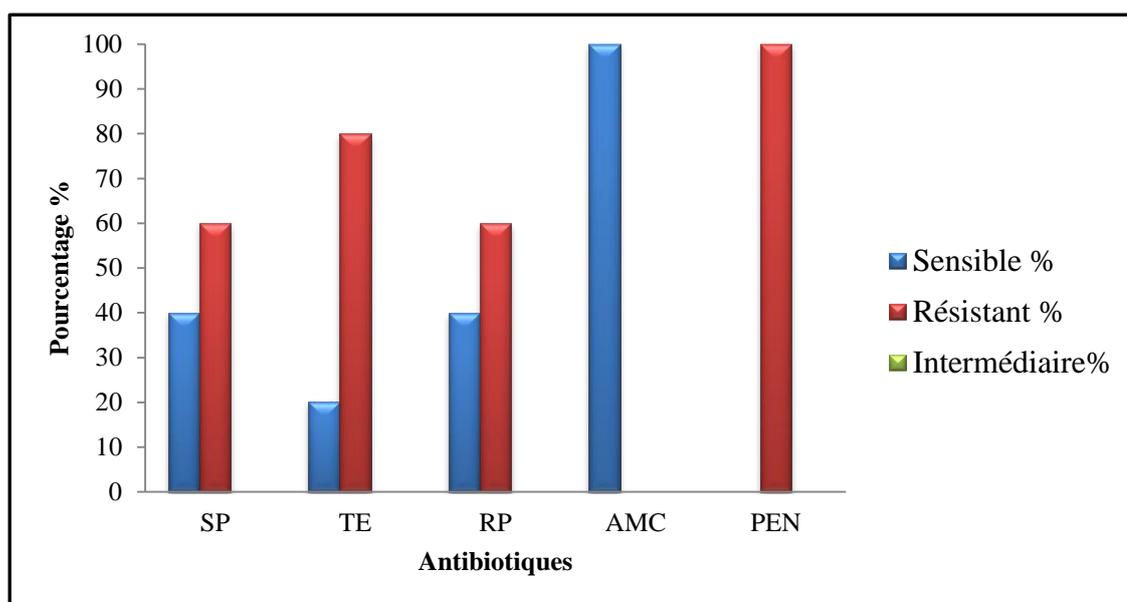
**Tableau 10:** Pourcentage de sensibilité des souches de *Staphylococcus* isolées des mammites cliniques vis-à-vis de 5 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Spiramycine	19-24	2	40	3	60	0	00
Tétracycline	20-21	1	20	4	80	0	00
Pristinamycine	19-20	2	40	3	60	0	00
Amoxicilline + Acide calvulanique	19-20	5	100	0	00	0	00
Pénicilline	28-29	0	00	5	100	0	00

A partir du tableau, la sensibilité des *Staphylococcus aureus* isolées de mammites cliniques bovine montre que 100 % des souches présentent une forte résistance à la Pénicilline .

La résistance est ,également, observé pour la Tétracycline (80%), la Spiramycine(60%) et la Pristinamycine (60 % ) .

Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée dans le cas de l'association de l'Amoxicilline et l'Acide calvulanique.



**Figure 16:** Pourcentage de sensibilité et de résistance des souches de *Staphylococcus* aux antibiotiques.

#### b. Comparaison entre l'effet antibactérien du miel et de la propolis :

Les résultats relatifs à l'étude comparative entre l'activité antibactérienne du miel et celle de la propolis vis-à-vis des souches de *Staphylococcus aureus* sont rapportés dans les tableaux suivants :

- De la même ruche :

**Tableau11:** Effet du miel 1 et de la propolis1 sur *Staphylococcus aureus*.

Echantillons	M1	EEP1
<i>S.aureus1</i>	8,5 ±0,71	15 ± 1,41
<i>S.aureus2</i>	10 ,5 ±0,71	17±2,83
<i>S.aureus3</i>	10,5 ± 0,71	17,5 ± 9,19
<i>S.aureus4</i>	10,5 ± 0,71	0
<i>S.aureus5</i>	8,5 ± 0,71	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Remarque :** Pour chaque souche testée, le diamètre d'inhibition correspond à la moyenne de 3 manipulations.

Par ailleurs, Le détail de l'analyse statistique est rapporté dans l'annexe 08

**Tableau12:** Effet du miel2 et de la propolis2 sur *Staphylococcus aureus*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>M2</b>	<b>EEP2</b>
<i>S.aureus1</i>	11,5± 2,12	24,5 ± 0,70
<i>S.aureus2</i>	8,5± 0,70	23 ± 1,41
<i>S.aureus3</i>	8,5± 0,70	25,5 ± 2,12
<i>S.aureus4</i>	12,5 ± 0,70	0
<i>S.aureus5</i>	7,5± 0,707	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type

**Tableau13:** Effet du miel3 et de la propolis3 sur *Staphylococcus aureus*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>M3</b>	<b>EEP3</b>
<i>S.aureus1</i>	8,5 ± 0,70	0
<i>S.aureus2</i>	11 ± 1,41	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus3</i>	8,5 ± 0,70	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus4</i>	8	0
<i>S.aureus5</i>	8	8,5 ± 0,70

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type

L'analyse Anova des trois tableaux a montré que l'effet miel1 et propolis1 ( $F=0,02$ ,  $p>0,05$ ) , l'effet miel2 et propolis2 ( $F=0,34$ ,  $p>0,05$ ) et l'effet miel3 et propolis3 ( $F=0,65$ ,  $p>0,05$ ) sont non significatifs sur le diamètre d'inhibition.

De ce fait, la comparaison des moyennes par le test de Newman-Keuls a confirmé la même chose pour cette variable.

Il classe le miel et la propolis de chaque ruche dans un même groupe, comme suit :

- EEP1, M1 ;
- EEP2 , M2 ;
- EEP3, M3,

Avec un diamètre d'inhibition maximale de 25,5 ± 2,12 mm pour EEP2 .

Par conséquent, le miel et la propolis partagent presque le même effet antibactérien sur cette bactérie.

- **De ruches différentes :**

**Tableau14 :** Effet antibactérien du miel sur des souches de *Staphylococcus aureus* .

Echantillons Souches	M1	M2	M3
<i>S.aureus1</i>	8,5 ±0,71	11,5± 2,12	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus2</i>	10 ,5 ±0,70	8,5± 0,70	11 ± 1,41
<i>S.aureus3</i>	10 ,5 ± 0,70	8,5± 0,70	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus4</i>	10 ,5 ± 0,70	12,5 ± 0,70	8
<i>S.aureus5</i>	8,5 ± 0,707	7,5± 0,70	8

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau15:** Effet antibactérien de la propolis sur des souches de *Staphylococcus aureus*

Echantillons Souches	EEP1	EEP2	EEP3
<i>S.aureus1</i>	15 ± 1,41	24,5 ± 0,70	16 ± 1,41
<i>S.aureus2</i>	17 ± 2,82	23 ± 1,41	19,5 ± 0,70
<i>S.aureus3</i>	17,5 ± 9,19	25,5 ± 2,12	10 ± 1,41
<i>S.aureus4</i>	0	0	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus5</i>	0	0	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse de la variance du Tableau 14 et 15 a indiqué que l'effet du miel ( $F=0,46$ ,  $P>0,05$ ) et l'effet de la propolis ( $F=0,26$ ,  $P>0,05$ ) sont significatifs sur le diamètre d'inhibition.

A cet effet, ce résultat trouve sa certitude dans le test de Newman –Keuls qui classe chaque type d'échantillons dans un seul groupe, comme suit :

- M3, M1, M2 ;
- EEP3, EEP2, EEP1.

Ceci veut dire que malgré les échantillons sont des origines différentes, mais ils présentent presque le même effet sur *S.aureus*, avec des diamètres d'inhibition qui varient de  $12,5 \pm 0,70$  à  $7,5 \pm 0,70$  mm pour le miel et de  $25,5 \pm 2,12$  à  $8,5 \pm 0,70$  pour la propolis.

**c. Comparaison entre l'activité antibactérienne des différents extraits de la propolis :**

Les résultats de l'étude comparative entre l'effet antibactérien des différents extraits de la propolis sont rapportés dans les Tableaux suivants :

**Tableau 16 :** Effet antibactérien de l'EEP1, de l'EAP 1et de l'EHP1 vis-à-vis de *S.aureus*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP1</b>	<b>EAP1</b>	<b>EHP1</b>
<i>S.aureus1</i>	15 ± 1,41	0	7± 0
<i>S.aureus2</i>	17 ± 2,82	8,5 ± 0,70	9,5 ± 0,70
<i>S.aureus3</i>	17,5 ± 9,19	8,5 ± 2,12	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus4</i>	0	0	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus5</i>	0	8	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 17 :** Effet antibactérien de l'EEP2, de l'EAP2 et de l'EHP2 vis-à-vis de *S.aureus*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP2</b>	<b>EAP2</b>	<b>EHP2</b>
<i>S.aureus1</i>	24,5 ± 0,70	11± 1,73	8
<i>S.aureus2</i>	23 ± 1,41	8 ± 1,5	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus3</i>	25,5 ± 2,12	10,5 ± 6,07	9
<i>S.aureus4</i>	0	0	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus5</i>	0	0	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 18 :** Effet antibactérien de l'EEP3, de l'EAP 3 et de l'EHP3 vis-à-vis de *S.aureus*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP3</b>	<b>EAP3</b>	<b>EHP3</b>
<i>S.aureus1</i>	16 ± 1,41	0	9 ± 0
<i>S.aureus2</i>	19,5 ± 0,70	7,5 ± 0,70	7,5± 0,70
<i>S.aureus3</i>	10 ± 1,41	7,5 ± 0,70	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus4</i>	8,5 ± 0,70	0	8,5 ± 0,70
<i>S.aureus5</i>	0	8,5 ± 0,70	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse statistique (Anova) des tableaux ci-dessus a montré que l'effet extraits de la propolis ( $P > 0,05$ ) pour les trois échantillons est non significatif sur le diamètre d'inhibition.

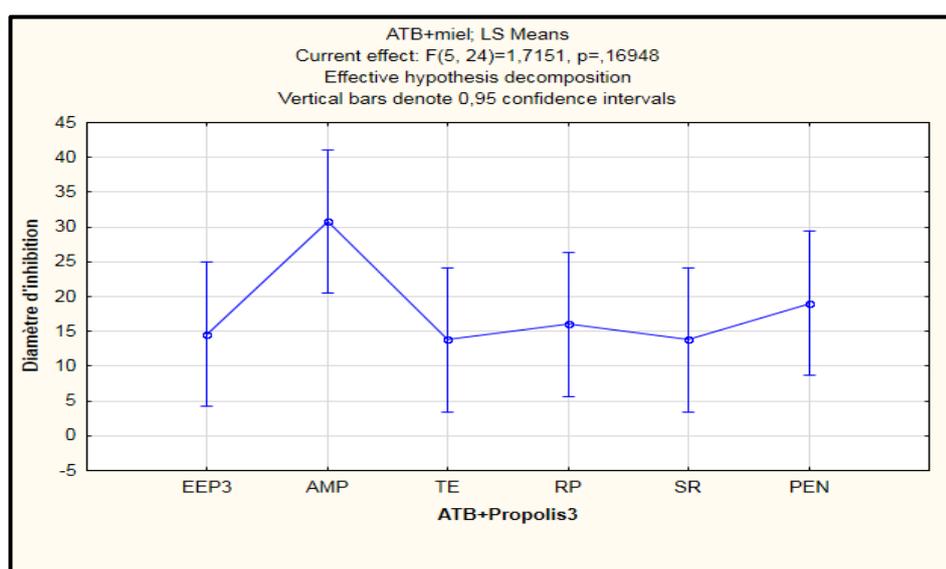
Chaque échantillon dans un seul groupe par ordre décroissant, comme suit :

- EEP1 ,EAP1 , EHP1;
- EEP2,EHP2,EAP2;
- EEP3,EHP3,EAP3.

Nous voyons ici que tous les différents extraits de la propolis partagent à peu près le même effet sur cette bactérie, et que l'EEP est en tête de chaque groupe, avec un diamètre d'inhibition maximale de  $25,5 \pm 2,12$  mm pour EEP2.

#### d. Comparaison entre l'effet de la propolis et de l'antibiotique :

La comparaison des antibiotiques a été faite par rapport à la propolis3 (on a fait un choix aléatoire car tous les échantillons utilisés n'ont pas présenté une différence significative). Les résultats sont rapportés dans la courbe suivante :



**Figure 17** : Diamètre d'inhibition en fonction des antibiotiques et de la propolis 3.

D'après la courbe ci-dessus, elle indique que l'inhibition de la propolis 3 avec sa moyenne maximale  $25,5 \text{ mm} \pm 0,15$  semble être :

- proche à la Spiramicyine, à la Tétracycline, à la Pristinomycine et à la Pénicilline ;
- un peu loin de l'Amoxy-clav.

A l'issue de cette étude comparative des moyennes, Le test de Newman-Keuls classe ces antibiotiques avec l'effet de la propolis dans un seul groupe par ordre décroissant, comme suit : AMP, PEN , RP, EEP3 ,TE ,SR. et les photos présentés dans l'annexe 08 montre cette similarité.

## II.2.2.Effet sur *Escherichia coli* :

### a .Sensibilité aux antibiotiques :

Les résultats relatifs au profil de sensibilité des *Echirichia coli* aux antibiotiques testés sont rapportés dans le tableau 19 et illustré par la figure 18 .

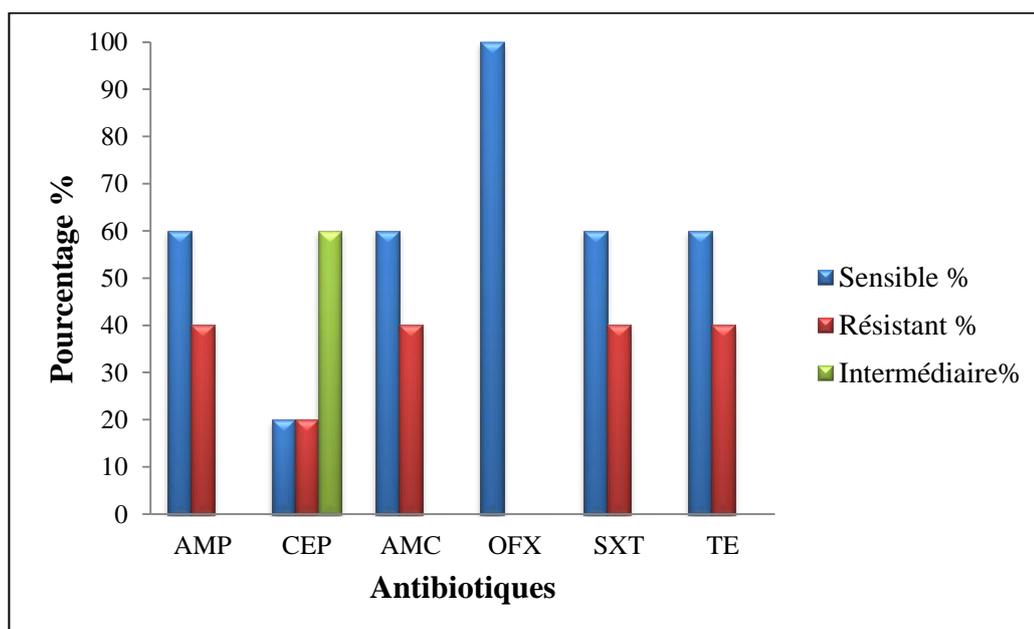
**Tableau19** : Pourcentage de sensibilité des *Echirichia coli* isolées à partir des mammites cliniques vis-à-vis 6 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
<b>Ampicilline</b>	14	3	60	2	40	0	00
<b>Céphalotine</b>	15-17	1	20	1	20	3	60
<b>Amoxy-clav</b>	19	3	60	2	40	0	00
<b>Oflaxacine</b>	20-21	5	100	0	00	0	00
<b>Thrimethoprim-sulfamethoxazole</b>	12-13	3	60	2	40	0	00
<b>Tétracycline</b>	12-14	3	60	2	40	0	00

A partir du tableau 19 , la sensibilité des *Escherichia coli* isolées de mammites cliniques montre que 40 % des souches présentent une résistance à l'Ampicilline ,à l'Amoxy /clav , au Thrimethoprim-sulfamethoxazole et à la Tétracycline .

La résistance est , également , observé pour la Céphalotine avec un pourcentage de 20% .

Par ailleurs , aucune résistance n'a été notée dans le cas de l' Oflaxacine .



**Figure 18** : Pourcentage de sensibilité et de résistance des *E. coli* aux antibiotiques

### b. Comparaison entre l'effet du miel et de la propolis :

Les résultats relatifs à la comparaison entre l'effet antibactérien du miel et celui de la propolis vis-à-vis des souches d' *E.coli* sont présentés dans les tableaux suivants :

- De la même ruche :

**Tableau 20 :** effet du miel1 et de la propolis1 vis-à-vis des souches d' *E.coli* isolées à partir de mammites cliniques.

Echantillons Souches	M1	EEP1
<i>E.coli1</i>	26 ± 2,82	13 ± 1,41
<i>E.coli2</i>	9 ± 1,41	11 ± 4,24
<i>E.coli3</i>	11 ± 1,41	10,5 ± 0,70
<i>E.coli4</i>	22 ± 1,41	7,5 ± 0,70
<i>E.coli5</i>	22,5 ± 0,70	8

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 21:** Effet du miel2 et de la propolis2 vis-à-vis des souches d' *E.coli* isolées à partir de mammites cliniques.

Echantillons Souches	M2	EEP2
<i>E.coli1</i>	28	0
<i>E.coli2</i>	18 ± 2,82	7,5 ± 0,70
<i>E.coli3</i>	17 ± 1,41	8
<i>E.coli4</i>	27 ± 1,41	0
<i>E.coli5</i>	27 ± 1,41	9

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 22 :** Effet du miel3 et de la propolis 3 vis-à-vis des souches d'*E.coli* isolées à partir de mammites cliniques.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>M3</b>	<b>EEP3</b>
<i>E.coli1</i>	0	17 ± 1,41
<i>E.coli2</i>	9,5 ± 0,70	8,5 ± 0,70
<i>E.coli3</i>	7	8
<i>E.coli4</i>	8	7,5 ± 0,70
<i>E.coli5</i>	8,5 ± 0,70	7,5 ± 0,70

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse de la variance, des résultats obtenues dans notre essai, a indiqué un effet du miel1 et de la propolis1 ( $F = 5,678$ ,  $P < 0.05$ ) et un effet du miel2 et propolis 2 ( $F = 5,678$ ,  $P < 0.05$ ) significatifs sur le diamètre d'inhibition, mais celui de miel 3 et propolis 3 est non significatif ( $F = 0,51$ ,  $P > 0,05$ ).

Par la suite, la comparaison des moyennes des échantillons utilisés a été faite par le test de Newman-Keuls qui les classent en groupes, comme suit :

- M1>EEP1 (02 groupes par ordre décroissant) ;
- M2>EEP2 (même chose) ;
- M3,EEP3( un seul groupe).

Nous constatons que l'effet antibactérien du M1 et celui du M2 s'avèrent les meilleurs sur *E.coli* par rapport à l'EEP.

- **De ruches différentes :**

**Tableau 23 :** Effet du miel sur des souches d'*E.coli*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>M1</b>	<b>M2</b>	<b>M3</b>
<i>E.coli1</i>	26 ± 2,82	28	0
<i>E.coli2</i>	9 ± 1,41	18 ± 2,82	9,5 ± 0,70
<i>E.coli3</i>	11 ± 1,41	17 ± 1,41	7
<i>E.coli4</i>	22 ± 1,41	27 ± 1,41	8
<i>E.coli5</i>	8	27 ± 1,41	8,5 ± 0,707

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 24** : Effet de la propolis sur des souches d'*E.coli*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP1</b>	<b>EEP2</b>	<b>EEP3</b>
<i>E.coli1</i>	13 ± 1,41	0	17 ± 1,41
<i>E.coli2</i>	11± 4,24	7,5 ± 0,70	8,5 ± 0,70
<i>E.coli3</i>	10,5 ± 0,70	8 ± 0	8
<i>E.coli4</i>	7,5 ± 0,70	0	7,5± 0,70
<i>E.coli5</i>	8	9	7,5 ± 0,70

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse de la variance a indiqué que l'effet du miel est significatif ( $F=10,62$ ,  $P<0,05$ ), mais celui de la propolis est non significatif ( $F=0,009$ ,  $P>0,05$ ) sur le diamètre d'inhibition.

A cet effet, le test de Newman-Keuls a mis en évidence, pour les échantillons utilisés, les groupes suivants :

- M2, M1>M3 (2 groupes par ordre décroissant) ;
- EEP1,EEP3 ,EEP2 (1 seul groupe).

Cela signifie que M1 et M2 présentent la meilleur inhibition pour *E.coli* avec un diamètre maximale de  $28 \pm 0$  mm pour M2 .En revanche, la propolis partage approximativement la même activité sur cette bactérie.

**Tableau 25** : Effet antibactérien de l'EEP1, de l'EAP 1 et de l'EHP1 vis-à-vis d'*E.coli*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP1</b>	<b>EAP1</b>	<b>EHP1</b>
<i>E.coli1</i>	13 ± 1,41	8.5±0.71	8.5±0.71
<i>E.coli2</i>	11± 4,24	7	8.5±0.71
<i>E.coli3</i>	10,5 ± 0,70	0	10.5±0.71
<i>E.coli4</i>	7,5 ± 0,70	18.5±3.54	0
<i>E.coli5</i>	7,5 ± 0,70	0	8.5±0.71

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 26:** Effet antibactérien de l'EEP2, de l'EAP2 et de l'EHP2 vis-à-vis d'*E.coli*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP2</b>	<b>EAP2</b>	<b>EHP2</b>
<i>E.coli1</i>	0	0	11
<i>E.coli2</i>	7,5 ± 0,70	0	8
<i>E.coli3</i>	8	8±1.41	8
<i>E.coli4</i>	0	0	8.5±0.71
<i>E.coli5</i>	9	0	9.5±0.71

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

**Tableau 27 :** Effet antibactérien de l'EEP3, de l'EAP3 et de l'EHP3 vis-à-vis d'*E.coli*.

<b>Echantillons</b> <b>Souches</b>	<b>EEP3</b>	<b>EAP3</b>	<b>EHP3</b>
<i>E.coli1</i>	17 ± 1,41	10±1.41	10±1.41
<i>E.coli2</i>	8,5 ± 0,70	7±0	7±0
<i>E.coli3</i>	8	0	0
<i>E.coli4</i>	0	17	17
<i>E.coli5</i>	9	0	0

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse statistique (Anova) des tableaux ci-dessus a montré que l'effet d'extraits de la propolis pour les trois échantillons est non significatif ( $P > 0,05$ ) sur le diamètre d'inhibition.

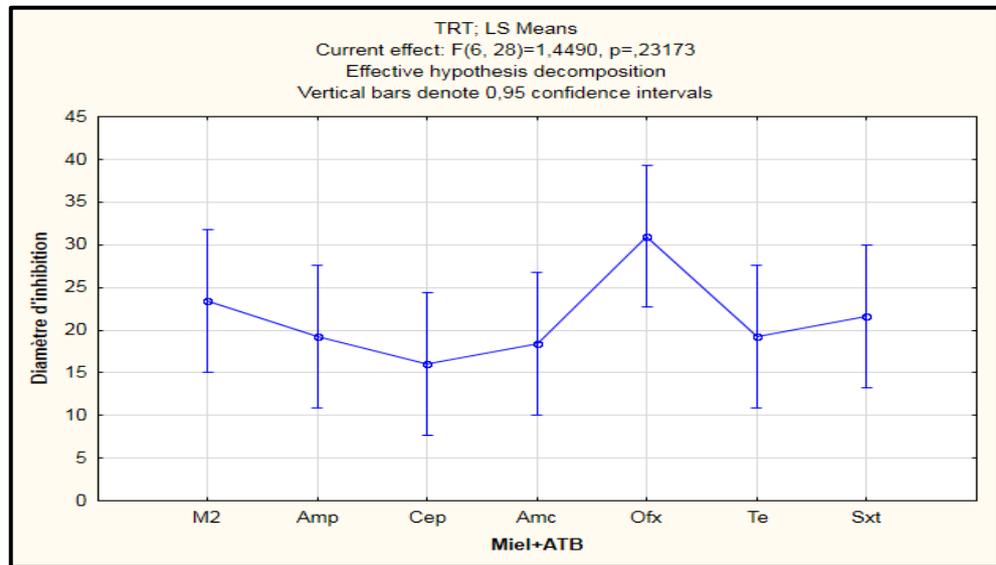
Ceci trouve sa confirmation dans le test de Newman-Keuls qui classe les extraits de chaque échantillon dans un seul groupe par ordre décroissant, comme suit :

- EEP1 ,EHP1 , EAP1;
- EEP2,EHP2,EAP2;
- EEP3, EHP3, EAP3.

Nous pouvons constater ici que tous les différents extraits de la propolis partagent à peu près le même effet sur cette bactérie, avec une petite faveur pour l'EEP, avec un diamètre d'inhibition maximale de  $18.5 \pm 3.54$  mm pour EAP2.

#### d. Comparaison entre l'effet du miel et de des antibiotiques :

Nous avons choisi le miel 2 parce que son effet est plus efficace sur *E.coli* que la propolis, et qu'il présente une petite faveur par rapport au miel 1 (selon Newman-Keuls).



**Figure 19 :** Diamètre d'inhibition en fonction des antibiotiques et du miel 2.

D'après la courbe ci-dessus, elle montre que l'inhibition du miel 2 avec sa moyenne maximale  $\text{mm} \pm 0.15$  semble être :

- très proche à l'Ampicilline, à la Tétracycline, à la Céphalotine, à l'Amoxy-clav; au Thrimethoprim-sulfamethoxazole ;
- un peu loin d' Ofloxacin.

A l'issu de cette étude comparative des moyennes, Le test de Newman-Keuls classe ces antibiotiques avec l'effet du miel dans un seul groupe par ordre décroissant, comme suit :

OF, M2, SXT, TE, AMP, AMC, CEP. les photos présentés dans l'annexe 08 montre cette similarité.

#### II.2.3. Etude comparative entre la sensibilité de *S.aureus* et d'*E.coli* en fonction des échantillons utilisés:

Les résultats relatifs à cette étude comparative sont présentés dans le tableau 28 et 29 .

**Tableau 28:** Résultats de la sensibilité d'*E.coli* et de *S.aureus* au miel.

<b>Souches</b> \ <b>Echantillon</b>	<b>M2</b>
<i>E.coli1</i>	28
<i>E.coli2</i>	18 ± 2,82
<i>E.coli3</i>	17 ± 1,41
<i>E.coli4</i>	27 ± 1,41
<i>E.coli5</i>	27 ± 1,41
<i>S.aureus1</i>	11,5± 2,12
<i>S.aureus2</i>	8,5± 0,70
<i>S.aureus3</i>	8,5± 0,70
<i>S.aureus4</i>	12,5 ± 0,70
<i>S.aureus5</i>	7,5± 0,707

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

L'analyse de la variance a indiqué que l'effet du miel est significatif (F=34,51, p>0,05).

De ce fait, le test de Newman-Keuls a montré que la différence de sensibilité des souches au miel est statistiquement significative entre le groupe composé d'*E.coli* et celui de *S.aureus*, comme suit : *E.coli* > *S.aureus*.

Par conséquent, *E.coli* est plus sensible à l'effet du miel que *Staphylococcus aureus*, avec une inhibition maximale de 28 ± 0 mm

**Tableau 29 :** Résultats de la sensibilité d'*E.coli* et de *S.aureus* à la propolis.

<b>Souches</b> \ <b>Echantillon</b>	<b>EEP3</b>
<i>E.coli1</i>	17 ± 1,41
<i>E.coli2</i>	8,5 ± 0,70
<i>E.coli3</i>	8
<i>E.coli4</i>	7,5± 0,70
<i>E.coli5</i>	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus1</i>	0 ± 0
<i>S.aureus2</i>	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus3</i>	7,5 ± 0,70
<i>S.aureus4</i>	0
<i>S.aureus5</i>	8,5 ± 0,70

\*Les chiffres représentent les moyennes des diamètres de la zone d'inhibition en mm ± écart type.

Lors de la comparaison de la sensibilité des souches à la propolis, l'Anova a indiqué une différence non significative ( $F=0,59$ ,  $P>0,05$ ).

Ce résultat trouve sa certitude dans le Test de Newman –Keuls qui classe *E.coli* et *S.aureus* dans un même groupe. Ceci signifie que les deux bactéries partagent la même sensibilité à la propolis.

#### II.2.4.Détermination de la CMI et de la CMB :

Nous avons choisi le miel puisqu'il a donné de bons résultats sur *E.coli* dans la majorité des cas par rapport à l'EEP ; mais pour *S.aureus*, les deux échantillons n'ont pas présenté une différence significative.

Par ailleurs, les résultats relatifs à la CMI et à la CMB des différents échantillons du miel vis-à-vis d'*E.coli* et de *S.aureus* sont présentés dans les tableaux suivants :

- CMI :

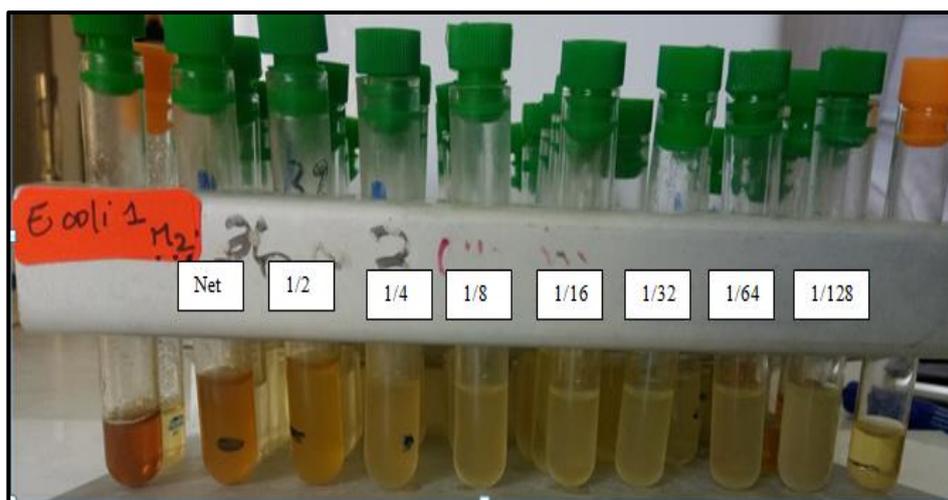
**Tableau 30** : Détermination de la CMI des miels pour *S.aureus* 1 et *E.coli* 1

Souches	Miels	Dilutions								CMI(%)
		Net	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
<i>S.aureus</i> 1	M1	-	-	+	+	+	+	+	+	≤50
	M2	-	-	+	+	+	+	+	+	≤50
	M3	-	-	-	-	+	+	+	+	≤12,5
<i>E.coli</i> 1	M1	-	-	-	+	+	+	+	+	≤25
	M2	-	-	-	-	+	+	+	+	≤12,5
	M3	+	+	+	+	+	+	+	+	0

Ces résultats nous ont permis de constater que tous les échantillons du miel présentent une activité bactériostatique vis-à-vis de *S.aureus* 1. La même chose a été enregistré avec le M2 et le M3 sur *E.coli* 1 (Figure 20).

De même, nous voyons que la concentration minimale inhibitrice varie en fonction des échantillons du miel et des souches.

De ce fait, la CMI d'*E.coli* (25% et 12,5%) est inférieure par rapport à celle de *S.aureus* (50%) pour le miel 1 et le miel 2. En revanche, avec le miel 3 est tout à fait le contraire.



1<sup>er</sup> tube : miel sans inoculum , le dernier tube : bouillon nutritif

**Figure 20** : CMI du miel 2 pour *E.coli* 1.

- **CMB :**

**Tableau 31** : Détermination de la CMB des miels pour *S.aureus* 1 et *E.coli* 1

Souches	Miels	Dilutions								CMB(%)
		Net	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
<i>S.aureus</i> 1	M1	-	+	/	/	/	/	/	/	Net
	M2	-	+	/	/	/	/	/	/	Net
	M3	-	-	+	+	/	/	/	/	50
<i>E.coli</i> 1	M1	-	+	+	+	/	/	/	/	Net
	M2	-	-	+	+	/	/	/	/	50
	M3	/	/	/	/	/	/	/	/	-

Il en ressort que tous les échantillons du miel présentent une activité bactéricide vis-à-vis de *S.aureus* et d'*E.coli* , sauf pour cette dernière avec le miel 3.

A cet effet, la concentration minimale bactéricide varie en fonction des échantillons du miel et des souches (Net et 50%), et que le miel à l'état pur reste le meilleur choix pour cette activité.

### III. Discussion :

L'impact des infections bactériennes en élevage ne cesse de croître dans l'Algérie. Cela est dû généralement au phénomène de l'antibiorésistance (Sanders et al., 2011).

Pour cette raison, des études récentes s'intéressent aux vertus thérapeutiques de certains produits naturels, sachant que ces derniers ne présentent pas généralement des effets secondaires. Le miel et la propolis comptent parmi ces produits les plus convoités. En raison de leurs propriétés inhibitrices et thérapeutiques (Merah et al., 2010).

Dans cette optique, nous avons évalué le pouvoir antimicrobien du miel et de la propolis, vis-à-vis de certains germes, isolés à partir des mammites cliniques bovines, et de tester leurs sensibilités aux antibiotiques

Les résultats de la présente étude seront discutés par partie :

En fait, pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, *Staphylococcus aureus* a acquis une résistance à de nombreuses molécules, en particulier, à la Pénicilline et à la Tétracycline. La résistance est, également, observée pour la Spiramycine et la Pristinamycine.

De ce fait, Les résultats relatifs de la résistance à la pénicilline et à la tétracycline (100% et 80% respectivement) sont en accord avec ceux de Jamali et al., (2014), en Malaisie, de 86% et de 76.6% et les résultats de Wang et al., (2015) en Chine de 90.4% et de 74.4%.

Nos résultats divergent avec celle de Botrel et al., (2010), en France, qui ont trouvé une très faible prévalence de 17 % et de 1.4%, et avec l'étude réalisée dans l'union européenne par Thomas et al., (2015) dans laquelle la résistance à la pénicilline est de 50 % en Italie, de 15,5% dans les Pays-Bas et de 37,5% en France.

Le pourcentage élevé de résistance des isolats de *S. aureus* à la Pénicilline résulte de l'acquisition d'un gène de  $\beta$ -lactamase et une pénicillinase plasmidique et à la Tétracycline peut être dû à la l'administration étendue de cette antibiotique dans les fermes laitières (Jamali et al., 2015).

Les isolats présentent, également, une résistance vis-à-vis de la Spiramycine avec un pourcentage de 40 % qui est semblable à celle obtenue par Wang et al., (2008), en Chine avec 41,7%.L'explication selon Yu et Li, (2005) est en relation avec l'utilisation abusive des macrolides dans les infections bovines staphylococciques.

Par ailleurs, nos souches ont présenté une sensibilité pour la Pristinamycine, avec un pourcentage de 40%. Ce chiffre est différent par rapport à Kumar et al.,(2011) qui ont trouvé 26.2% de sensibilité ceci est dû à la rareté de prise en charge de cet antibiotique dans le traitement des mammites bovines .

Hors les autres antibiotiques, l'Amoxicilline-Acide clavulanique montrent une excellente efficacité contre les souches de *S.aureus* qui sont sensible à 100 % .Cela peuvent être expliqué par le fait que L'acide clavulanique est un inhibiteur de  $\beta$ - lactamase (Oncel et *al.*, 2004).

De l'autre côté, *Escherichia coli* a montré une résistance vis-à-vis de l'Ampicilline, de l'Amoxicilline-Acide clavulanique, du Trimethoprim-sulfamethoxazole et de la Tétracycline .La résistance est également observé pour la Cephalotine.

Dans la présente étude, les isolats d'*Escherichia coli* ont montré une forte résistance à l'Ampicilline qui est semblable à ceux rapportés par Ibrahim et *al.* , (2016) qui ont trouvées une prévalence de 64%. Ceci est expliqué par l'utilisation abusive et anarchique de cette molécule par les vétérinaires et à leur large disponibilité sur le marché Algérien, avec des prix abordables.

Les isolats présentent ,également, une résistance contre l'association Amoxicilline + l'Acide calvulanique auront pour explication une capacité d'hyperproduction des Béta-lactamases (Michael et *al.* , 2017).

Selon l'interprétation rapportés par Wichmann et *al.*, (2014) , la résistance d'*E.coli* contre Trimethoprim-sulfamethoxazole est dû à l'acquisition du plasmide.

La résistance à la Tétracycline est semblable avec ceux rapportés par Ibrahim et *al.* , (2016) qui ont trouvés une prévalence de 74% issue de l'administration étendue de cette antibiotique.

L'analyse de la sensibilité de germe aux antibiotiques a montré une excellente réponse face à l'Ofloxacin , contrairement aux travaux de Singh et *al.* , (2018) qui ont trouvées une prévalence de 63%. Cette sensibilité est liée à la rareté de leur utilisation dans le traitement des pathologies animales vu leur cherté.

En ce qui concerne les deux produits de la ruche choisis, les résultats ont montré que les échantillons de miel et de la propolis ont présenté une activité antibactérienne contre toutes les bactéries utilisées dans notre étude, avec une activité antimicrobienne plus prononcée du miel sur les *E. coli* .

L'intérêt du miel réside non seulement dans le fait qu'il est efficace contre des bactéries, mais également parce que son mode d'action sur les bactéries met en jeu plusieurs mécanismes (Pasias et *al.* , 2018).

Premièrement, cette solution concentrée de glucides retire , après l'absorption, l'eau indispensable à la vie d'agents pathogènes (Morais et *al.*, 2011). Deuxièmement, son degré d'acidité, le plus souvent faible, inhibe la multiplication de la bactérie (Couquet et *al.*, 2013). En outre, Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibitive du miel (Afroz et *al.* , 2011).

En plus, Viuda-Martos *et al.*, (2008) pense que les propriétés antibiotiques des miels sont liées à la défensine sécrétée par les abeilles, il est, également, bien connu que le miel contient des lysozymes, un agent anti microbien puissant.

Concernant l'activité antibactérienne de la propolis vis-à-vis d'*E. coli*, nos résultats sont en accord avec plusieurs auteurs qui ont montré que les bactéries à Gram négatif sont peu sensibles à l'effet de la propolis (Trusheva *et al.*, 2010 ; Ghasemi *et al.*, 2017 ).

Autres études ont montré que la propolis est faiblement efficace ou parfois inefficace sur les bactéries à Gram négatifs (Stepanović *et al.*, 2003; Silici et Kutluca, 2005).

Cela peut être expliqué par le fait que la faible sensibilité des bactéries à Gram négatif, à l'égard de l'extrait éthanolique de la propolis, serait due à leur membrane externe qui empêcherait la pénétration des constituants actifs de la propolis (Ghasemi *et al.*, 2017 ; Hazem *et al.*, 2017 ; Afrouzan *et al.*, 2018 ), ou encore, au fait que la propolis contient beaucoup de constituants dérivés des plantes, qui sont sécrétés à l'origine pour protéger les plantes contre les bactéries pathogènes à Gram positif, la plupart du temps (Tegos *et al.*, 2002 ; Hazem *et al.*, 2017 ).

Selon Kim et Chung, 2011, l'action antimicrobienne de la propolis peut être attribuée aux effets bioénergétique de la membrane. Les acides phénoliques et les composants flavonoïdes de la propolis désaccouplent la transduction d'énergie de la membrane cytoplasmique qui mène à l'inhibition de la viabilité bactérienne.

L'étude comparative effectuée au sein des mêmes types d'échantillons a montré que la plupart des échantillons de miel utilisés, dans notre étude, présentent une activité antimicrobienne très rapprochée vis-à-vis d'*E. coli* et de *S. aureus*, malgré leurs provenances différentes, et elle est très élevée.

Cette activité antimicrobienne des trois miels utilisés peut être positivement corrélée avec des valeurs élevées des teneurs en polyphénols et en flavonoïdes totaux.

La diversité florale mellifère des régions choisies semble jouer un rôle important dans les teneurs des composés phénoliques, influençant ainsi l'activité antimicrobienne de ces échantillons (Gülçin *et al.*, 2010 ; Cimpoiu *et al.*, 2012).

Selon Akca *et al.*, (2016) et Onyeka *et al.*, (2018), d'autres facteurs, participent en grande partie à ce phénomène, l'espèce de l'abeille, la méthode de récolte, le traitement et la conservation du produit, ainsi que la souche testée influencent l'activité antibactérienne du produit.

Cependant, nos résultats sont différents par rapport à ceux obtenus par Belhaj *et al.*, (2016) et Almasaudi *et al.*, (2017) qui ont montré que les différents types de miel possèdent des efficacités différentes par rapport au même type de bactéries. Ces résultats sont justifiés par les diversités de la composition, les sources botaniques et les conditions météorologiques des miels utilisés.

La même chose a été enregistré pour les différents échantillons de la propolis.

En ce qui concerne *S.aureus*, la propolis et le miel présentent une activité antibactérienne très rapproché. Ces résultats sont semblables par rapport à ceux rapportés par Miorin et al., (2003) qui ont enregistré les mêmes constatations. Une autre étude faite en turquie (2007) par Koru et al., a montré la même chose et que cet effet rapproché est en relation avec les teneurs similaires en flavonoïde.

Cependant, nos résultats sont différents par rapport à ceux obtenus par Rahman et al., (2010) qui ont montré que les échantillons de la propolis ont un effet antibactérien plus élevé sur *S.aureus* par rapport aux échantillons de miel.

Par la suite, les différents extraits, à savoir, éthanolique, aqueux et huileux de la propolis partagent presque le même effet d'inhibition sur *S.aureus* et *E.coli*.

De même, nos résultats révèlent que l'extrait alcoolique présente une petite faveur par rapport aux autres extraits puisque ceci s'évapore et solubilise plus efficacement les composants actifs de la propolis. Cela est confirmé par l'étude de Rhajaoui et al., (2001).

D'après l'étude de Dos Santos et al., (2017) et Cottica et al., (2015), ils ont trouvés que l'éthanol facilite l'augmentation des teneur de phénols et des flavonoïdes dans l'extrait de propolis par rapport aux extraits aqueux. Ce qui augmente leur effet antimicrobien.

Tous en parlant sur *E.coli*, la comparaison entre l'effet de l'antibiotique et du miel a présenté des effets proches. Ceci a été démontré par Merah et al., (2010) qui ont trouvé que l'activité inhibitrice du miel naturel sur *E.coli* est semblable à celle des antibiotiques les plus actifs.

On attribue l'efficacité du miel à son action multifactorielle qui a plus d'un site cible, réduisant ainsi la probabilité de résistance microbienne et ceci selon les mécanismes suivant :

le miel riche en sucres ce qui confère un effet bactéricide. Il agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus suffisamment d'eau pour survivre (Soltani et al., 2015).

Le pH du miel est relativement acide, situé entre 3,5 et 6. Il permet de ralentir ou éviter la croissance de certaines espèces des bactéries pathogènes (Chakir et al., 2016).

La glucose-oxydase sécrétée par les glandes de l'abeille lors de la transformation du nectar en miel qui permet l'oxydation de l'eau et du glucose en eau oxygénée et d'acide gluconique.

L'acide gluconique formé accroît l'acidité du miel et le rend peu favorable au développement des colonies bactériennes (Khan et al., 2017).

Les flavonoïdes agissent sur la membrane cytoplasmique de la bactérie en provoquant une perte d'ions de potassium et les dommages provoqués aboutissant à l'autolyse cellulaire (Cushnie et Lamb, 2005).

Revenant à *S.aureus*, la comparaison entre l'effet de l'antibiotique et celui de la propolis 3 a présenté des effets proches.

On attribue l'efficacité de la propolis vis-à-vis de *S.aureus* à sa composition : la présence des flavonoïdes et divers acides qui agissent probablement sur la membrane cytoplasmique ou sur un site de la paroi cellulaire causant des dommages fonctionnels et structurels (Akca et al., 2016).

Par ailleurs, nos résultats indiquent que *E.coli* est plus sensible au miel que *S.aureus*. Cela est dû à la différence dans la composition des parois cellulaires.

Aussi, l'extrait éthanolique de la propolis a un effet semblable sur *S.aureus* et *E.coli*. Ces résultats sont à l'opposé des données de la littérature qui ont indiqué que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles à la propolis que celles à Gram négatif. Cette résistance est expliquée par le fait que la pénétration de la propolis est bloquée suite à l'action des pompes présentes dans la membrane plasmique des bactéries à Gram négatif (Hasem et al., 2017).

#### ✓ La CMI et la CMB du miel

Nos résultats indiquent clairement, d'un côté, que la concentration minimale inhibitrice varie en fonction des échantillons de miel et de souches, d'autre côté, la majorité des échantillons de miel présentent une activité bactériostatique vis-à-vis de *S.aureus* et d'*E.coli*.

De ce fait, la CMI d'*E.coli* (25% et 12,5%) est inférieure par rapport à celle de *S.aureus* (50%) pour le miel 1 et le miel 2, sauf que pour le miel 3 est tout à fait le contraire. D'une façon générale, ceci confirme que les souches à Gram négatif sont plus sensibles au miel que celles à Gram-positif.

D'après Garedew et al., (2013), ils ont montré des valeurs de CMI allant de 1 à 32% chez les bactéries à Gram-positifs et de 4 à 32% pour celles à Gram-négatifs. Dans notre étude, les valeurs de CMI étaient plus faibles, si en les comparant par rapport à la valeur maximale de ces auteurs cités ci-dessous.

Pour la CMB, la plupart des échantillons de miel présentent une activité bactéricide vis-à-vis de *S.aureus* et d'*E.coli*, sauf pour cette dernière avec le miel 3.

Par ailleurs, la concentration minimale bactéricide varie également en fonction des échantillons du miel et des souches (100 et 50%), et que le miel à l'état pur reste le meilleur choix pour cette activité.

## *Conclusion et perspectives*

# Conclusion et perspectives

Toujours dans le sens de résoudre le problème de l'antibiorésistance permanent des germes isolés de mammites bovines et de l'émergence de résidus d'antibiotiques ; les produits naturels attend l'alerte et ils sont présents pour faire la différence .

Par conséquent , cette étude a pour but, d'évaluer l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur des bactéries à Gram positif et à Gram négatif isolées à partir de mammites cliniques bovines et de le comparer par rapport aux antibiotiques testés .

En fait, l'étude de la sensibilité, *in vitro*, des souches choisies a révélé une résistance remarquable aux pénicillines, aux cyclines et aux sulfamides pour *Escherichia coli* . Cette même étude a fait ressortir des résistances chez *Staphylococcus aureus* vis-à-vis de quatre familles d'antibiotiques : les pénicillines, les macrolides ,les tétracyclines et les streptogramines.

Par ailleurs, ce travail a pu fournir des données récentes sur le miel et la propolis qui ont montré un effet antibactérien en regard des souches testées, qui sont pathogènes. Elles ont démontré , également, que les *Escherichia coli* sont plus sensibles à l'effet du miel que les *Staphylococcus aureus*.

En effet, leurs comparaisons par rapport aux antibiotiques ont révélé que les souches testées présentent des sensibilités proches à l'action de ses deux types de molécules.

De ce fait, les résultats détectés dans cette étude, *in vitro*, ont fourni des preuves que la propolis et le miel peuvent être utilisés comme agent anti bactérien contre quelques bactéries provenant de mammites cliniques.

Ces résultats demeurent prometteurs et pourraient servir de base pour des études cliniques ultérieures afin de confirmer l'efficacité antibactérienne de ces produits naturels et de proposer leur utilisation en tant qu'agent antibactérien alternatif.

Enfin, notre étude mérite d'être continuée afin d'interpréter mieux les résultats .Pour cela , nous comptons faire :

- une étude comparative de la propolis et du miel en fonction de leurs compositions chimiques pour faire l'extraction des molécules les plus actives sur les isolats cliniques ;
- un essai sur des cas cliniques afin d'évaluer l'efficacité réelle de ces agents antibactériens d'origine naturelle.

# *Références Bibliographiques*

- Abdel-Fattah N, Nada O.,** 2007. Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol* 37(2 Suppl):691–710
- Afrouzan H., Tahghighi A., Zakeri S., Es-haghi, A.,** 2018. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Iranian Propolis. *Iranian biomedical journal*, 22(1), p.50.
- Afroz R., Tanvir E.M., Zheng W., Little, P.J.,** 2016. Molecular pharmacology of honey. *Clin Exp Pharmacol*, 6(212), pp.2161-1459.
- Ahmed M. Samuel S., Subramanian C.,** 2014. Evaluation of antibacterial potential of honey against some common human pathogens in north Gondar Zone of Ethiopia. *International Journal of Pure and Applied Zoology*, vol : 2 (4), p 286-295.
- Akca A. E., Akca G., Topçu F. T., Macit E., Pıkdöken L., Özgen I. Ş.,** 2016. The comparative evaluation of the antimicrobial effect of propolis with chlorhexidine against oral pathogens: an in vitro study. *BioMed research international*, 2016.
- Almasaudi S.B., Al-Nahari A.A., El Sayed M., Barbour E., Al Muhayawi S.M., Al-Jaouni, S., Azhar E., Qari M., Qari Y.A. Harakeh, S.,** 2017. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi journal of biological sciences*, 24(6), pp.1255-1261.
- Amir Y., Yesli A., Bengana M., Sadoudi R., Amrouche T.,** 2010. Physico-chemical and microbiological assessment of honey from Algeria. *Electronic Journal of Environmental, Agricultural & Food Chemistry*, 9(9).
- Angoujard P.,** 2015. Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France en 2015. Thèse de doctorat, la faculté de médecine de Créteil.
- Anicet D., Anne-Virginie S.,** 2013. L'art des abeilles, l'or de la ruche. de l'Homme (31 mars 2014). 192p
- Aouay A., Coppée F., Cloet S., Cuvelier P., Belayew A., Lagneau P.E. Mullender C.,** 2008. Molecular characterization of *Prototheca* strains isolated from bovine mastitis. *Journal de Mycologie Médicale*, 18(4), pp.224-227.
- Asnoue Z.B., Butel M.J. Ouzrout R.,** 2012. Prévalence des principales bactéries responsables de mammites subcliniques des vaches laitières au nord-est de l'Algérie. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux*, 65(1-2), pp.5-9.
- Aydin, A., Sudagidan, M. and Muratoglu, K.,** 2011. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *International journal of food microbiology*, 148(2), pp.99-106.

- Bagré TS., Samandoulougou S., Traoré M., Illy D., Bsadjjo-Tchamba G., Bawa-Ibrahim H., Bouda S.C., Traoré A.S. Barro N., 2015.** Détection biologique des résidus d'antibiotiques dans le lait et produits laitiers de vache consommés à Ouagadougou, Burkina Faso. *Journal of Applied Biosciences*, 87(1), pp.8105-8112.
- Barkema H., Veenstra S., Poole D., 2006.** Prevalence of contagious mastitis pathogens in bulk tank milk in Prince Edward Island. In : The Canadian Veterinary Journal, vol : 47(6), p. 567.
- Belhaj O., El abbadi I., Ouchbani T., 2016.** Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. Vol : 4 (3), p 12-22.
- Belmamoun A R. 2017.** *Étude microbiologique, épidémiologique et antibiorésistance du Staphylococcus aureus dans le lait de vache atteinte de mammite.* Thèse de doctorat, sciences biologique. Université de Sidi Bel Abbes. 186p.
- Benhamed N., Moulay M., Aggad H., Henni J.E. Kihal M., 2011.** Prevalence of mastitis infection and identification of causing bacteria in cattle in the oran region West Algeria. *Journal of animal and veterinary Advances*, 10(22), pp.3002-3005.
- Bensalah A . 2010 .** Contribution à l'évaluation de la qualité physico-chimique bactériologique de lait cru et diagnostique de brucellose et mammites dans la région de Tlemcen en Algérie. Ingénieur d'état en agronomie. Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen .
- Bertoncelj J., Doberšek U., Jamnik M. Golob T., 2007.** Evaluation of the phenolic content, antioxidant activity and colour of Slovenian honey. *Food Chemistry*, 105(2), pp.822-828.
- Bogoslowski A., Butcher E.C. Kubes, P., 2018.** Neutrophils recruited through high endothelial venules of the lymph nodes via PNA<sub>d</sub> intercept disseminating Staphylococcus aureus. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, p.201715756.
- Bonté F., Desmoulière A., 2013.** Le miel: origine et composition. *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), pp.18-21.
- Bosquet G., Faroult B., Labbe J-F., Le page P., Serieys F., 2013.** Le référentiel Vétérinaire
- Boss R., Cosandey A., Luini M., Artursson K., Bardiau M., Breitenwieser F., Hehenberger E., Lam T., Mansfeld M., Michel A., Mösslacher G., 2016.** Bovine Staphylococcus aureus: Subtyping, evolution, and zoonotic transfer. *Journal of dairy science*, 99(1), pp.515-528.
- Bouchiat C., Moreau K., Devillard S., Rasigade J.P., Mosnier A., Geissmann T., Bes M., Tristan A., Lina G., Laurent F., Piroth, L., 2015.** Staphylococcus aureus infective endocarditis versus bacteremia strains: Subtle genetic differences at stake. *Infection, Genetics and Evolution*, 36, pp.524-530.

**Boultif L., 2009** .Optimisation des paramètres de détection et de quantification des résidus d'antibiotiques dans le miel par chromatographie liquide haute performance (HPLC). Thèse de magister en médecine vétérinaire. Université de Constantine.

**Boussaid A., Chouaibi M., Rezig L., Hellal R., Donsi F., Ferrari G., Hamdi, S., 2014.** Physicochemical and bioactive properties of six honey samples from various floral origins from Tunisia. *Arabian Journal of Chemistry*.

**Boutet, P., Detilleux, J., Motkin, M., Deliege, M., Piraux, E., Depinois, A., Debliquy, P., Mainil, J., Czaplicki, G. and Lekeux, P., 2005.** Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammite subclinique bovine entre les filières conventionnelle et biologique. *Ann. Méd. Vét.*, 149, pp.173-182.

**Bradley A.J., 2002.** Bovine mastitis: an evolving disease. *The veterinary journal*, 164(2), pp.116-128.

**Broutn C., 2005.** Maitrise de la qualité dans la transformation laitière. Guide de bonnes pratiques d'hygiène. Ministère des ressources animales ; chambre de commerce, d'industrie et d'artisanat. Burkina Faso. 95p.

e

---

**Cardinault N, Cayeux MO and Percie du Sert., 2012.** La propolis: Origine, composition et propriétés. *Phytothérapie.*, 10: 298-304.

**Carnwath R., Graham E.M., Reynolds K. Pollock, P.J., 2014.** The antimicrobial activity of honey against common equine wound bacterial isolates. *The veterinary journal*, 199(1), pp.110-114.

**Chakir, A., Romane, A., Marcazzan, G.L. and Ferrazzi, P., 2016.** Physicochemical properties of some honeys produced from different plants in Morocco. *Arabian Journal of Chemistry*, 9, pp.S946-S954.

**Chaudhary A.R., Sharma S., Shukla A., Joshi, A., Chaudhary, U.K., 2015.** Honey 'The Life Saviour' in Necrotising Fascitis: A Case Report. *Dermatol Case Rep*, 1(102), p.2.

**Cimpoiu C., Hosu A., Miclaus V., Puscas, A., 2013.** Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 100, pp.149-154.

**CLSC (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2015.** performance standards for anti microbial disk susceptibility tests, M100-S25, Vol.35(3).

**Cooper, R.A., Molan, P.C. and Harding, K.G., 2002.** The sensitivity to honey of Gram-positive cocci of clinical significance isolated from wounds. *Journal of Applied microbiology*, 93(5), pp.857-863.

**Cottica S.M., Sabik H., Antoine C., Fortin J., Graveline N., Visentainer J.V. and Britten M.,** 2015. Characterization of Canadian propolis fractions obtained from two-step sequential extraction. *LWT-Food Science and Technology*, 60(1), pp.609-614.

**Couquet Y., Desmoulière A. Rigal, M.L.,** 2013. Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel. *Actualités pharmaceutiques*, 52(531), pp.22-25.

**Cushnie T.T.Lamb A.J.,** 2005. Antimicrobial activity of flavonoids. *International journal of antimicrobial agents*, 26(5), pp.343-356.

## **D**

---

**Da Silva P M., Gauche C., Gonzaga LV., Costa A C O ., Fett R.,** 2016. Honey: Chemical composition, stability and authenticity. *Food Chemistry*, 196, pp.309-323.

**Debreil E.,** 2008. Les analyses bactériologiques du lait des infections mammaires bovines applicables au cabinet vétérinaire en pratique courante et leurs intérêts dans le traitement des mammites. *Thèse de Doctorat : Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort*, France, p 109

**Djabri B., Bareille N., Beaudou F., Seegers H.,** 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows : a meta-analysis. *Veterinary Research*, vol : 33 (4), p 335-357

**Donadieu, Y.,** 2008. *La propolis*. Éd. Dangles.

**Dos Reis A.S., Diedrich C., de Moura C., Pereira D., de Flório Almeida J., da Silva L.D., Plata-Oviedo M.S.V., Tavares R.A.W., Carpes, S.T.,** 2017. Physico-chemical characteristics of microencapsulated propolis co-product extract and its effect on storage stability of burger meat during storage at -15° C. *LWT-Food Science and Technology*, 76, pp.306-313.

**Dos Santos L., Hochheim S., Boeder A.M., Kroger A., Tomazzoli M.M., Dal Pai Neto R., Maraschin M., Guedes A. de Cordova C.M.,** 2017. Chemical characterization, antioxidant, cytotoxic and antibacterial activity of propolis extracts and isolated compounds from the Brazilian stingless bees *Melipona quadrifasciata* and *Tetragonisca angustula*. *Journal of Apicultural Research*, 56(5), pp.543-558.

**Durel L., Guyot H., Theron, L.,** 2011. *VADE-MECUM des mammites bovines*. MED'COM.

## **F**

---

**Eucast (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing),** 2012. breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, 58 pages

**Eucast (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing),** 2015. breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, 111 pages

**Eucast (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing),** 2017. breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, 125 pages



---

**Ferhoum F.**, 2010. Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellifica intermissa* et *Apis mellifica sahariensis*), Mémoire de magister, Boumerdès, Faculté des sciences de l'ingénieur, 174 p.



---

**Gardenal M.**, 2013. La miel de manuka, Ce miel qui soigne. Clairenature. 131 pages.

**Ghasemi F.S., Eshraghi S.S., Andalib F., Hooshyar H., Kalantar-Neyestanaki D., Samadi A. Fatahi-Bafghi M.**, 2017. Anti-Bacterial Effect of Propolis Extract in Oil Against Different Bacteria. *Zahedan Journal of Research in Medical Sciences*, 19(3).

**Gülçin I., Bursal E., Şehitoğlu M.H., Bilsel M., Gören, A.C.**, 2010. Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48(8-9), pp.2227-2238.



---

**Hamiroune M., Benyahia M., Chatouh O., Bensefia S., Saidani K., Foughalia A. Berber A.**, 2017. Mammmites staphylococciques des vaches laitières: prévalence dans la région d'Alger et risques sur la santé publique. *Livestock Research for Rural Development*, 29, p.2.

**Hazem A., Popescu C.V., Crisan I., Popa M., Chifiriuc M.C., Pircalabioru G.G. Lupuliasa D.U.M.I.T.R.U.**, 2017. Antibacterial efficiency of five propolis extractions on planktonic and adherent microbial strains. *FARMACIA*, 65(5), pp.813-818.



---

**Ibrahim D R., Dodd C E., Stekel D J., Ramsden S J., Hobman, J.L.**, 2016. Multidrug resistant, extended spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolated from a dairy farm. *FEMS microbiology ecology*, 92(4).



---

**Jamali H., Radmehr B., Ismail S.** 2014. Short communication: prevalence and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. *Journal of dairy science*, 97(4): 2226-2230.

**Jamali H.**, 2017. Récurrence de mammite clinique chez la vache laitière: incidence, facteurs de risque et impacts.

**Jamali H., Paydar M., Radmehr B., Ismail S., Dadrasnia A.** 2015. Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, 54: 383-388.



- Kacániová M., Vukovic N., Bobková A., Fikselová M., Rovná K., Hascík P., Cubon J., Hleba L. Bobko, M.**, 2011. Antimicrobial and antiradical activity of Slovakian honeydew honey samples. *The Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences*, 1(3), p.354.
- Kateete D P., Kabugo U., Baluku H., Nyakarahuka L., Kyobe S., Okee M., Najjuka C F., Joloba M. L.** 2013. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of bacteria from milkmen and cows with clinical mastitis in and around Kampala, Uganda. *PloS one*, 8(5): e63413.
- Kek S.P., Chin N.L., Yusof Y.A., Tan S.W. Chua L.S.**, 2014. Total phenolic contents and colour intensity of Malaysian honeys from the *Apis* spp. and *Trigona* spp. bees. *Agriculture and Agricultural Science Procedia*, 2, pp.150-155.
- Khan M.A., Shafee M., Akbar A., Ali A., Shoaib M., Ashraf F. Khan N.**, 2017., Occurrence of mastitis and associated pathogens with antibiogram in animal population of Peshawar, Pakistan. *The Thai Journal of Veterinary Medicine*, 47(1), p.103.
- Khurshid, Z., Naseem, M., Zafar, M.S., Najeeb, S. and Zohaib, S.**, 2017. Propolis: A natural biomaterial for dental and oral healthcare. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 11(4), p.265.
- Kim L. and Brudzynski K.**, 2018. Identification of menaquinones (Vitamin K2 homologues) as novel constituents of honey. *Food Chemistry*.
- Kim Y.H. and Chung H.J.**, 2011. The effects of Korean propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. *New biotechnology*, 28(6), pp.713-718.
- Kingsley A.**, 2001. The use of honey in the treatment of infected wounds: case studies. *British Journal of Nursing*, 10(Sup5), pp.S13-S20.
- Koenig T., Roh, J.L.C.**, 2016. Healing wounds with honey. *Undergraduate Research Journal for the Human Sciences*, 15(1).
- Koru O., Toksoy F., Acikel C.H., Tunca Y.M., Baysallar M., Guclu A.U., Akca E., Tuylu A.O., Sorkun K., Tanyuksel M. Salih B.**, 2007. In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*, 13(3-4), pp.140-145.
- Kumar R., Yadav B.R.Singh R.S.**, 2011. Antibiotic resistance and pathogenicity factors in *Staphylococcus aureus* isolated from mastitic Sahiwal cattle. *Journal of biosciences*, 36(1), pp.175-188.



- Maunsell, F.P., Woolums, A.R., Francoz, D., Rosenbusch, R.F., Step, D.L., Wilson, D.J.Janzen, E.D.**, 2011. *Mycoplasma bovis* infections in cattle. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 25(4), pp.772-783.

**Mavric, E., Wittmann, S., Barth, G. & Henle, T.,** 2008. Identification and quantification of methylglyoxal as the dominant antibacterial constituent of Manuka (*Leptospermum scoparium*) honeys from New Zealand. *Mol Nutr Food Res* 52, 483–489.

**Mendes, J.F., Gonçalves, C.L., Ferreira, G.F., Esteves, I.A., Freitas, C.H., Villarreal, J.P.V., Mello, J.R.B., Meireles, M.C.A. and Nascente, P.S.,** 2017. Antifungal susceptibility profile of different yeasts isolates from wild animals, cow's milk with subclinical mastitis and hospital environment. *Brazilian Journal of Biology*, (AHEAD), pp.0-0.

**Merah M., Bachagha M.B., Boudherhem A.,** 2010. Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés du territoire algérien. *Annales des Sciences et Technologie*, (2)

**Michael G B., Kaspar H., Siqueira A K., de Freitas Costa E., Corbellini L G., Kadlec K., Schwarz S.,** 2017. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* isolates collected from diseased food-producing animals in the GERM-Vet monitoring program 2008–2014. *Veterinary microbiology*, 200, pp.142-150.

**Miorin P.L., Levy Junior, N.C., Custodio A.R., Bretz, W.A. Marcucci M.C.,** 2003. Antibacterial activity of honey and propolis from *Apis mellifera* and *Tetragonisca angustula* against *Staphylococcus aureus*. *Journal of applied microbiology*, 95(5), pp.913-920.

**Morais M., Moreira L., Feás X., Estevinho, L.M.,** 2011. Honeybee-collected pollen from five Portuguese Natural Parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity. *Food and Chemical Toxicology*, 49(5), pp.1096-1101.

**Morgenstern M., Erichsen C., Hackl S., Mily J., Militz M., Friederichs J., Hungerer S., Bühren V., Moriarty T.F., Post, V., Richards, R.G.,** 2016. Antibiotic resistance of commensal *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci in an international cohort of surgeons: a prospective point-prevalence study. *PLoS One*, 11(2), p.e0148437.

**Moudir-Thomas, C., Foulet-Roge, A., Plat, M., Kaswin, R., Lepic, P., Solal-Celigny, P. and Lebas, F.X.,** 2004. Efficacy of rituximab in lymphomatoid granulomatosis. *Revue des maladies respiratoires*, 21(6 Pt 1), pp.1157-1161.



**Oncel T., Ica T.Akan M.,** 2004. Beta lactamase production rate and antimicrobial susceptibility of *Staphylococcus aureus* isolated from clinical and subclinical mastitis cases in Turkey. *REVUE DE MEDECINE VETERINAIRE*, 155(7), pp.385-388.

**Onlen Y, Duran N, Atik E, Savas L, Altug E, Yakan S, Aslantas O.,** 2007. Antibacterial activity of propolis against MRSA and synergism with topical mupirocin. *J Altern Complement Med* 13(7):713–718

**Onyeka O., Okeke M.U., Ezejiofor C.C., Ndubuisi, J.O.,** 2018. Antimicrobial Activity of Honeys

from Nsukka and Ugwuaji in Enugu State, on Selected Pathogenic Bacteria Isolated from Wound. *Advances in Analytical Chemistry*, 8(1), pp.6-9.

**Ozcan M., Sagdic O., Özkan G.**, 2004. Antibacterial effects of Turkish pollen and propolis extracts at different concentrations. *Arch Leb* 55:39–40.

## ♂

---

**Pasias I.N., Kiriakou I.K., Kaitatzis A., Koutelidakis A.E. Proestos, C.**, 2018. Effect of late harvest and floral origin on honey antibacterial properties and quality parameters. *Food Chemistry*, 242, pp.513-518.

**Passey, S., Bradley, A. and Mellor, H.**, 2008. Escherichia coli isolated from bovine mastitis invade mammary cells by a modified endocytic pathway. *Veterinary microbiology*, 130(1-2), pp.151-164.

pour traitement des mammites bovines. *SNGTV*, Paris, France, p 100.

## Q

---

**Quattrocchi V., Soria I., Langellotti C.A., Gnazzo V., Gammella M., Moore D.P., Zamorano P.I.**, 2017. A DNA vaccine formulated with chemical adjuvant provides partial protection against bovine herpes virus infection in cattle. *Frontiers in immunology*, 8, p.37.

## R

---

**Rahman M.M., Richardson A. Sofian-Azirun M.**, 2010. Antibacterial activity of propolis and honey against Staphylococcus aureus and Escherichia coli. *African Journal of Microbiology Research*, 4(18), pp.1872-1878.

**Remy D., Ponter A.**, 2010. Équilibre nutritionnel et mammite chez la vache laitière. *Point vétérinaire*, 41(302), pp.33-40.

**Rhajaoui M., Oumzil H., Faid M., Lyagoubi M., Elyachioui M. Benjouad A.**, 2001. Antibacterial activity of a Moroccan propolis extracts. *Science Letters*, 3(3), pp.1-3.

**Roca, M., Castillo, M., Marti, P., Althaus, R.L., Molina, M.P.**, 2010. Effect of heating on the stability of quinolones in milk. *Journal of agricultural and food chemistry*, 58(9), pp.5427-5431.

## ♂

---

**Sanders P., Bousquet-Mélou A., Chauvin C., Toutain P. L.**, 2011. Utilisation des antibiotiques en élevage et enjeux de santé publique. *INRA Productions Animales*, 24(2), pp.199-204.

**Sanders P., Perrin-Guyomard A. and Moulin G.**, 2017. Évolution de l'utilisation des antibiotiques en production animale. *Cahiers de Nutrition et de Diététique*, 52(6), pp.301-311.

- Sarah Y M ., Wissam Y M.,** 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. Université Djilali Bounaama Khemis Miliana , 86p.
- Segueni N.,** 2011. Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. Thèse de doctorat, Constantine, Faculté des Science Exactes, 299 p.
- Selvabai, A.P., Banu, A.S., Jeya, M. and Shanmugam, P.,** 2017. Characterization of Methicillin Resistant Staphylococcus aureus based on its virulence factors and antimicrobial susceptibility profile. *Indian Journal of Microbiology Research*, 4(1), pp.74-78.
- Sérieys, F., Raguet, Y., Goby, L., Schmidt, H. and Friton, G.,** 2005. Comparative efficacy of local and systemic antibiotic treatment in lactating cows with clinical mastitis. *Journal of dairy science*, 88(1), pp.93-99.
- Shahid, M., Wang, J., Gu, X., Chen, W., Ali, T., Gao, J., Han, D., Yang, R., Fanning, S. Han, B.,** 2017. Prototheca zopfii Induced Ultrastructural Features Associated with Apoptosis in Bovine Mammary Epithelial Cells. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, 7, p.299.
- Shaikh S., Kumar S M.,** 2017. Beneficial effects of specific natural substances on oral health. *Saudi medical journal*, 38(12).
- Siheri, W., Alenezi, S., Tusiimire, J., Watson, D.G.,** 2017. The Chemical and Biological Properties of Propolis. In *Bee Products-Chemical and Biological Properties* (pp. 137-178).
- Silici S. and Kutluca S.,** 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of ethnopharmacology*, 99(1), pp.69-73.
- Simone-Finstrom, M. and Spivak, M., 2010. Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, 41(3), pp.295-311.
- Singh K., Chandra M., Kaur G., Narang D. Gupta D.K.,** 2018. Prevalence and Antibiotic Resistance Pattern among the Mastitis Causing Microorganisms. *Open Journal of Veterinary Medicine*, 8(04), p.54.
- Sinha, R., Bhakat, M., Mohanty, T.K., Ranjan, A., Kumar, R., Lone, S.A., Rahim, A., Paray, A.R., Khosla, K., Danish, Z.,** 2018. Infrared thermography as non-invasive technique for early detection of mastitis in dairy animals-A review. *Asian Journal of Dairy & Food Research*, 37(1).
- Soltani, E.K., Cerezuela, R., Charef, N., Mezaache-Aichour, S., Esteban, M.A. and Zerroug, M.M.,** 2017. Algerian propolis extracts: Chemical composition, bactericidal activity and in vitro effects on gilthead seabream innate immune responses. *Fish & shellfish immunology*, 62, pp.57-67.
- Song, B., Zhou, Y., Jin, H., Jing, T., Zhou, T., Hao, Q., Zhou, Y., Mei, S. and Lee, Y.I.,** 2014. Selective and sensitive determination of erythromycin in honey and dairy products by molecularly imprinted polymers based electrochemical sensor. *Microchemical Journal*, 116, pp.183-190.

**Soufy H., Nadia M., Nasr S M., El-Aziz T H A., Khalil F A., Ahmed Y F ., Zeina H A A ., Srinivasan, V., Gillespie, B.E., Lewis, M.J., Nguyen, L.T., Headrick, S.I., Schukken, Y.H. and Oliver, S.P., 2007.** Phenotypic and genotypic antimicrobial resistance patterns of *Escherichia coli* isolated from dairy cows with mastitis. *Veterinary microbiology*, 124(3-4), pp.319-328.

**Stepanović S., Antić, N., Dakić I., Švabić-Vlahović, M., 2003.** In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158(4), pp.353-357.

**Sung S H., Choi G H., Lee N W., Shin B C., 2017.** External Use of Propolis for Oral, Skin, and Genital Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*.

Ɔ

---

**Tegos G., Stermitz F.R., Lomovskaya, O., Lewis, K., 2002.** Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(10), pp.3133-3141.

**Tenhagen B.A., Köster G., Wallmann J. Heuwieser W., 2006.** Prevalence of mastitis pathogens and their resistance against antimicrobial agents in dairy cows in Brandenburg, Germany. *Journal of Dairy Science*, 89(7), pp.2542-2551.

**Turner E., Saint-pierre S., 2015.** les routes du miel. Hozhoni .

**Trusheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova, V., 2010.** Antibacterial mono- and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis. *Chemistry Central Journal*, 4(1), p.8.

ϕ

---

**Viguiet C., Arora S., Gilmartin N., Welbeck K., O’Kennedy R., (2009).** Mastitis detection: current trends and future perspectives. *Trends in Biotechnology*, 27(8), 486–493.

**Viuda-Martos M., Ruiz-Navajas Y., Fernández-López J., Pérez-Álvarez, J.A., 2008.** Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*, 73(9).

ϖ

---

**Wang D., Wang Z., Yan Z., Wu J., Ali T., Li J., Lv Y., Han B., 2015.** Bovine mastitis *Staphylococcus aureus*: Antibiotic susceptibility profile, resistance genes and molecular typing of methicillin-resistant and methicillin-sensitive strains in China. *Infection, Genetics and Evolution*, 31: 9-16 .

**Wang Y., Wu C.M., Lu L M., Ren G W N., Cao X Y ., Shen J Z., 2008.** Macrolide–lincosamide-resistant phenotypes and genotypes of *Staphylococcus aureus* isolated from bovine clinical mastitis. *Veterinary microbiology*, 130(1-2), pp.118-125.

**Wasihun A.G., Kasa B.G.,** 2016. Evaluation of antibacterial activity of honey against multidrug resistant bacteria in Ayder Referral and Teaching Hospital, Northern Ethiopia. *SpringerPlus*, 5(1), p.842.

**Werner A., Laccourreye O.,** 2011. Honey in otorhinolaryngology: when, why and how?. *European annals of otorhinolaryngology, head and neck diseases*, 128(3), pp.133-137.

**Wichmann F., Udikovic-Kolic N., Andrew S., Handelsman J.,** 2014. Diverse antibiotic resistance genes in dairy cow manure. *MBio*, 5(2), pp.e01017-13



---

**Yang W., Wu Z., Huang Z Y., Miao X.,** 2017. Preservation of orange juice using propolis. *Journal of food science and technology*, 54(11), pp.3375-3383.

**Yu, Y., LI, J.S.,** 2005. The curative effects of clindamycin hydrochloride on dairly acute mastadenitis. *Chinese J. Vet. Drug* 39, 37–42 (in Chinese, with English abstract).



---

**Zabaiou N., Fouache A., Trousson A., Baron S., Zellagui A., Lahouel M., Lobaccaro, J.M.A.,** 2017. Biological properties of propolis extracts: Something new from an ancient product. *Chemistry and physics of lipids*, 207, pp.214-222.

**Zancanela, D.C., Herculano, R.D., Funari, C.S., Marcos, C.M., Almeida, A.M.F. and Guastaldi, A.C.,** 2017. Physical, chemical and antimicrobial implications of the association of propolis with a natural rubber latex membrane. *Materials Letters*, 209, pp.39-42.

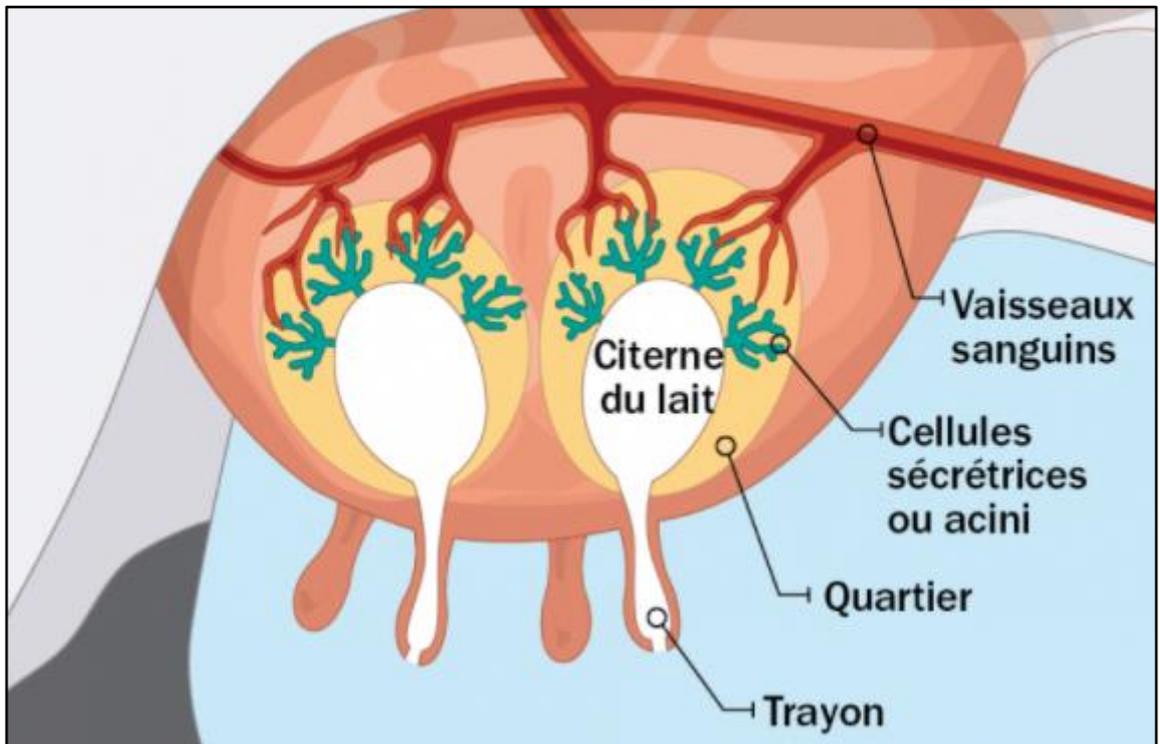
**Zastempowska, E. and Lassa, H.,** 2012. Genotypic characterization and evaluation of an antibiotic resistance of *Trueperella pyogenes* (*Arcanobacterium pyogenes*) isolated from milk of dairy cows with clinical mastitis. *Veterinary microbiology*, 161(1-2), pp.153-158.

**Zhang D., Zhang Z., Huang C., Gao X., Wang Z., Liu Y., Tian C., Hong W., Niu S., Liu .,** 2018. The phylogenetic group, antimicrobial susceptibility, and virulence genes of *Escherichia coli* from clinical bovine mastitis. *Journal of dairy science*, 101(1), pp.572-580.

# *Annexes*

## Annexes

**Annexe 1 :** L'anatomie de la mamelle (Durel et *al.* , 2012).



## Annexes

### Annexe 2 : Problèmes causés par la présence des résidus d'antibiotiques.

L'antibiotique destiné à l'animal est un médicament au même titre que celui destiné à l'homme. En effet, l'utilisation d'antibiotique pourrait amener à une présence anormale de résidus dans les denrées d'origine animale (Sanders et al ., 2017).

Les résidus d'antibiotiques dans le lait peuvent causer des problèmes à deux niveaux :

<b>Problèmes sanitaires</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1- Problèmes d'allergie qui est provoqué par la présence des antibiotiques, et en particuliers des bêta-lactames, car ces dernières sont à la fois très immunogènes et souvent utilisées.(Boultif , 2009).</li><li>2- Risques toxiques : ces résidus sont responsables des maladies chez l'homme (Boultif , 2009).</li><li>3- Modifications de la flore digestive du consommateur : La consommation de produits contenant des résidus d'antibiotiques (cycline, sulfamides) perturbe la flore intestinale en modifiant sa composition par inhibition sélective (Boultif , 2009).</li><li>4- Risques d'antibiorésistance : Une des raisons de l'augmentation de cette résistance pourrait résider dans l'utilisation préventive et thérapeutique d'antibiotiques en production animale car les médicaments vétérinaires contiennent en partie les mêmes matières actives qu'en médecine humaine (Boultif, 2009)</li></ol>
<b>Problèmes technologiques</b>	<ol style="list-style-type: none"><li>1- Les bactéries lactiques jouent un rôle essentiel comme ferment, elles sont sensibles à de très faibles doses d'antibiotiques ainsi la présence de ces résidus inhibent de manière partielle ou totale la croissance de ces ferments et se traduit par de nombreux défauts notamment les accidents de fabrication lait (Broutn, 2005).</li><li>2- Les accidents les plus connus sont les défauts de coagulation du lait, l'insuffisance de l'égouttage et les risques de prolifération incontrôlée de germes gazogènes, insensibles aux antibiotiques (Bagré et al ., 2015)</li><li>3- Ainsi, que la présence de 0,04 à 0,15 UI de pénicilline/ml de lait donnait des fromages d'une qualité inférieure à celle des témoins avec une acidité anormale, une texture spongieuse et parfois un goût amer (Boultif, 2009).</li></ol>

## Annexes

**Annexe 3** : Analyse comparative des oligoéléments de deux miels en ppm. (Bonté et *al* , 2013).

<b>Les oligoéléments</b> <b>Miel</b>	<b>Calcium</b> <b>(Ca)</b>	<b>Cuivre</b> <b>(Cu)</b>	<b>Fer</b> <b>(Fe)</b>	<b>Potassium</b> <b>(K)</b>	<b>Magnésium</b> <b>(Mg)</b>	<b>Sodium</b> <b>(Na)</b>	<b>Sélénium</b> <b>(Se)</b>	<b>Zinc</b> <b>(Zn)</b>
<b>1</b>	106	< 1	< 1	1700	31.8	7.0	1.7	< 1
<b>2</b>	67	< 1	< 1	1200	28.6	52.5	1.9	< 1

**1 → Miel toutes fleurs (Sologne)**

**2 → Miel de l'île d'Ouessant**

## Annexes

**Annexe 4:** Quelques plantes sources de la propolis en Algérie (Moudir, 2004).



Pinus ssp



Châtaigniers



Chêne lige



Chêne zeen



Cyprès

## Annexes

### Annexe 5: Matériels utilisés au laboratoire (Appareillages et Verreries).

#### 1. Appareillages

- ✓ Agitateur électrique.
- ✓ Autoclave.
- ✓ Bain marie.
- ✓ Balance électrique.
- ✓ Bec benzène.
- ✓ Plaque chauffante.
- ✓ Réfrigérateur.
- ✓ Vortex.

#### 2. Verrerie

- ✓ Béchers (500 ml, 600 ml).
- ✓ Boîtes de pétri en verre.
- ✓ Flacons en verre de 250 ml.
- ✓ Tubes à essai stérile.
- ✓ Tubes secs.

#### 3. Outils

- ✓ Anse de platine.
- ✓ Boîtes de pétri.
- ✓ Ecouillons.
- ✓ Gants chirurgicaux.
- ✓ Micropipettes.
- ✓ Papier filtre.
- ✓ Papier Wattman.
- ✓ Pied à coulisse.
- ✓ Pinces.
- ✓ Pipettes graduées.
- ✓ Pipettes pasteur.
- ✓ Portoirs.
- ✓ Spatule.

## Annexes

### Annexe 06: Milieux de culture utilisés et Produits chimiques.

#### → Milieux de culture utilisées :

##### **Gélose nutritive (GN) :**

##### **Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Extrait de viande : 1,0 g.
- Extrait de levure : 2.5 g.
- Peptone : 5,0 g.
- Chlorure de sodium : 5,0 g.
- Agar : 15,0 g.

PH final : 7,0.

##### **Chapman :**

##### **Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Peptones 10,00g.
- Extrait de viande de bœuf 1,00 g.
- D-mannitol 10,00g.
- Chlorure de sodium 75,00g.
- Rouge de phénol 0,025g.
- Agar 15,00g.

pH final à 25°C : 7,4 ± 0,2

##### **Gélose biliée au vert brillant et au rouge neutre (VRBL) :**

##### **Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Peptone pepsique de viande : 7,0 g.
- peptone : 7,0
- Extrait autolytique de levure : 3,0.
- Lactose : 10,0.
- Sels biliaires : 1,5.
- Chlorure de sodium : 5,0.
- Rouge neutre : 0,030.
- Cristal violet : 0,002.
- Agar : 12,0 g.
- pH du milieu prêt à l'emploi à 25°C : 7,4 ± 0,2.

## **Annexes**

### **Gélose de Muller-Hinton (MH) :**

**Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Infusion de viande de bœuf : 300,0 g.
- Hydrolysate de caséine : 17,5 g.
- Amidon de maïs : 1,5 g.
- Agar : 17,0 g.

PH final :  $7,3 \pm 0,1$ .

### **Bouillon nutritif (BN) :**

**Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Peptone 5,00 g
- Extrait de viande 3,00 g

pH final:  $6,8 \pm 0,2$

### **Eau physiologique :**

**Composition** (gramme/litre d'eau distillée) :

- Chlorure : 9,0
- Eau distillée : 1000 ml.

PH final : 7.

### **→ Produits chimiques:**

- Solvant : L'éthanol.
- Eau distillée stérile.
- Eau de javel stérile

## **Annexes**

### **Annexe 07 : Préparation de l'inoculum (Eucast ,2017)**

- Ajouter 0,5 ml d'une solution de BaCl<sub>2</sub> à 99,5 ml d'une solution de H<sub>2</sub> SO<sub>4</sub> (1% v/v) et agiter vigoureusement.
- Vérifier la densité de la suspension à l'aide d'un spectrophotomètre avec un faisceau de 1 cm et des cuvettes assorties. L'absorbance à 625 nm doit être comprise entre 0,08 et 0,13.
- Distribuer la suspension dans des tubes de même taille que ceux utilisés pour ajuster l'inoculum.
- Sceller les tubes.
- Une fois scellés, conserver ces tubes à température ambiante et à l'abri de la lumière.
- Avant usage, mélanger vigoureusement le tube à l'aide d'un Vortex.
- Renouveler l'étalon ou vérifier son absorbance après 6 mois de conservation.
- Il convient de vérifier les étalons achetés dans le commerce en s'assurant que l'absorbance se situe dans les limites fixées.

## Annexes

**Annexe08** : Analyses statistiques (variance et test de Newman-Keuls) des différentes comparaisons.

### 1.Effet sur *E.coli* :

- **M1+EEP1**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (M1 P1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1932,100	1	1932,100	62,20040	0,000048
TRT	176,400	1	176,400	5,67887	0,044335
Error	248,500	8	31,062		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (M1 P1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 31,062, df = 8,0000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
2	EEP1	9,70000	****	
1	M1	18,10000		****

- **M2+EEP2**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2739,025	1	2739,025	118,7653	0,000004
TRT	469,225	1	469,225	20,3458	0,001974
Error	184,500	8	23,062		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet7) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 23,062, df = 8,0000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
2	EEP2	9,70000	****	
1	M2	23,40000		****

## Annexes

- **M3 et EEP 3**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet55)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	600,6250	1	600,6250	23,39338	0,001294
TRT	13,2250	1	13,2250	0,51509	0,493364
Error	205,4000	8	25,6750		

✓ **Test de Newman-Keuls :**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet55)			
Homogenous Groups, alpha = ,05000			
Error: Between MS = 25,675, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	
1	M3	6,600000	****
2	EEP3	8,900000	****

- **M1, M2 ,M 3**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet55)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	3904,267	1	3904,267	111,5239	0,000000
TRT	744,133	2	372,067	10,6279	0,002207
Error	420,100	12	35,008		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet55)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 35,008, df = 12,000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
3	M3	6,60000		****
1	M1	18,40000	****	
2	M2	23,40000	****	

## Annexes

- **EEP1, EEP2 et EEP3**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet1)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1450,417	1	1450,417	113,3138	0,000000
TRT	0,233	2	0,117	0,0091	0,990934
Error	153,600	12	12,800		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet1)			
Homogenous Groups, alpha = ,05000			
Error: Between MS = 12,800, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	EEP2	9,70000	****
3	EEP3	9,80000	****
1	EEP1	10,00000	****

- **EEP1+EAP1+EHP1**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet23)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	960,000	1	960,000	35,93263	0,000063
TRT	30,400	2	15,200	0,56893	0,580682
Error	320,600	12	26,7167		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet23)			
Homogenous Groups, alpha = ,05000			
Error: Between MS = 26,717, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	EAP1	6,80000	****
3	EHP1	7,20000	****
1	EEP1	10,00000	****

## Annexes

- **EEP2 +EAP2+EHP2**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	806,6667	1	806,6667	64,61949	0,000004
TRT	129,0333	2	64,5167	5,16822	0,024044
Error	149,8000	12	12,4833		

✓ **Test de NewmanKeuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 12,483, df = 12,000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
2	EAP2	3,200000		****
3	EHP2	9,100000	****	
1	EEP2	9,700000	****	

- **EEP3 +EAP3+EHP3**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	799,3500	1	799,3500	23,81380	0,000379
TRT	20,1000	2	10,0500	0,29940	0,746639
Error	402,8000	12	33,5667		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 33,567, df = 12,000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	
3	EH3	6,200000	****	
2	EA3	6,800000	****	
1	EEP3	8,900000	****	

## Annexes

- **ATB+M2**

✓ **Test de Newman-Keuls :**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 82,757, df = 28,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
3	Cep	16,00000	****
4	Amc	18,40000	****
2	Amp	19,20000	****
6	Te	19,20000	****
7	Sxt	21,60000	****
1	M2	23,40000	****
5	Ofx	31,00000	****

**2.Effet sur *Staphylococcus aureus* :**

- **M1+EEP1**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	980,1000	1	980,1000	21,81029	0,001602
TRT	0,9000	1	0,9000	0,02003	0,890958
Error	359,5000	8	44,9375		

✓ **Test de Newman-Keuls**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 44,937, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
1	M1	9,60000	****
2	EEP1	10,20000	****

- **M2+P2**

✓ **Analyse de la variance**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	960,4000	1	960,4000	33,17444	0,000424
TRT	10,0000	1	10,0000	0,34542	0,572927
Error	231,6000	8	28,9500		

## Annexes

### ✓ Test de Newman -Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 28,950, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
1	M2	8,80000	****
2	EEP2	10,80000	****

- **M 3+P3**

### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1476,225	1	1476,225	16,12259	0,003866
TRT	60,025	1	60,025	0,65556	0,441546
Error	732,500	8	91,563		

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 91,563, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	M3	9,70000	****
1	EEP3	14,60000	****

### M1, M2, M 3 :

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1316,017	1	1316,017	504,5431	0,000000
TRT	2,433	2	1,217	0,4665	0,638132
Error	31,300	12	2,608		

## Annexes

### Test de Newman-Keuls :

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet27) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 2,6083, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	M2	8,80000	****
3	M1	9,60000	****
1	M3	9,70000	****

- **EEP1, EEP2 et EEP3 :**

#### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2112,267	1	2112,267	19,61402	0,000823
TRT	56,933	2	28,467	0,26433	0,772072
Error	1292,300	12	107,692		

#### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 107,69, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
1	EEP1	10,20000	****
2	EEP2	10,80000	****
3	EEP3	14,60000	****

- **EEP1 , EAP1 et EHP1**

#### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	904,8167	1	904,8167	23,37524	0,000409
TRT	44,4333	2	22,2167	0,57395	0,578028
Error	464,5000	12	38,7083		

## Annexes

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 38,708, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
3	EHP1	6,50000	****
2	EAP1	6,60000	****
1	EEP1	10,20000	****

- **EEP2, EAP2 et EHP2**

### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	897,0667	1	897,0667	27,12220	0,000219
TRT	73,0333	2	36,5167	1,10406	0,362969
Error	396,9000	12	33,0750		

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 33,075, df = 12,000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	EA2	5,70000	****
3	EHP2	6,70000	****
1	EEP2	10,80000	****

- **EEP3, EAP3 et EHP3**

### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1325,400	1	1325,400	18,97268	0,000935
TRT	202,800	2	101,400	1,45151	0,272547
Error	838,300	12	69,858		

## Annexes

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 69,858, df = 12,000)			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	EAP3	6,80000	****
3	EHP3	6,80000	****
1	EEP3	14,60000	****

### Comparaison entre la sensibilité d' *E.coli* et de *S.aureus* en Fonction :

- **EEP3**

### ✓ Analyse de la variance

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1488,400	1	1488,400	15,27543	0,004491
Souches	57,600	1	57,600	0,59115	0,464067
Error	779,500	8	97,437		

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 97,437, df = 8,0000)			
Cell No.	Souches	Diamètre d'inhibition Mean	1
1	<b><i>E.coli</i></b>	9,80000	****
2	<i>S.aureus</i>	14,60000	****

- **M2 :**

### ✓ Analyse de la variance :

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition)					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	2592,100	1	2592,100	167,9093	0,000001
souches	532,900	1	532,900	34,5198	0,000372
Error	123,500	8	15,438		

## Annexes

### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 15,438, df = 8,0000				
Cell No.	souches	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
1	S.aureus	8,80000	****	
2	E.coli	23,40000		****

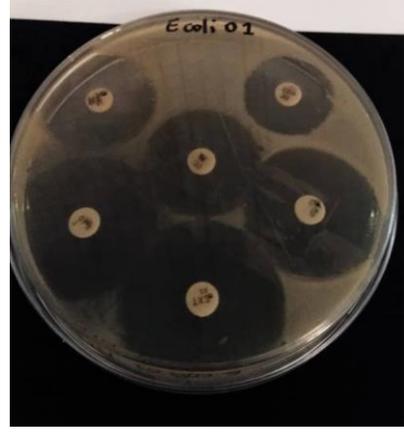
### • ATB+EEP3

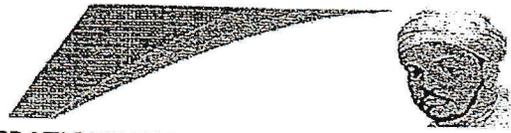
### ✓ Test de Newman-Keuls

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 125,75, df = 24,000			
Cell No.	ATB+miel	Diamètre d'inhibition Mean	1
5	SR	13,80000	****
3	TE	13,80000	****
1	EEP3	14,60000	****
4	RP	16,00000	****
6	PEN	19,00000	****
2	AMP	30,80000	****

## Annexes

**Annexe09** : Antibiogramme comparative du Miel et des extractions de propolis et les antibiotiques utilisés.

Souche	Miel et extractions éthanoliques (M et EEP)	Extractions aqueuses et extractions huileuses (EAP et EHP)	Les antibiotiques (ANTB)
<i>Staphylococcus aureus</i>			
<i>Escherichia coli</i>			



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : KHEDIJA Khoulou

Régulièrement inscrit(e) en **Master** au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 4.012.322/2011

Année universitaire : 2017/2018

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du mémoire : Etude Comparative de l'effet du miel et de propolis vis à vis des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) isolées à partir du lait de mammifères cliniques bovines

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

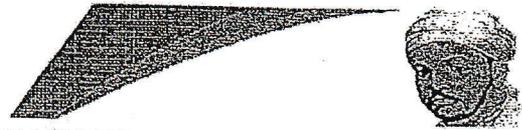
- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le : 19/06/2018

Signature de l'étudiant(e) :

2018 جوان 21



REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE  
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique  
Université Larbi Tébessi - Tébessa  
Faculté des Sciences Exactes et des Sciences de la Nature et de la Vie

**Déclaration sur l'honneur de non-plagiat**  
(à Joindre obligatoirement au mémoire, remplie et signée)

Je soussigné(e),

Nom, Prénom : BouBAS ChaFia

Régulièrement inscrit(e) en Master au département : Biologie Appliquée

N° de carte d'étudiant : 34028379 / 2013

Année universitaire : 2017 / 2018

Domaine : Science de la Nature et de la Vie

Filière : Microbiologie

Spécialité : Microbiologie Appliquée

Intitulé du mémoire : Etude comparative de l'effet du miel et de propolis vis à vis des bactéries à Gram (+) et à Gram (-) isolées à partir du lait de mammelles clinique bovines

Atteste que mon mémoire est un travail original et que toutes les sources utilisées ont été indiquées dans leur totalité. Je certifie également que je n'ai ni recopié ni utilisé des idées ou des formulations tirées d'un ouvrage, article ou mémoire, en version imprimée ou électronique, sans mentionner précisément leur origine et que les citations intégrales sont signalées entre guillemets.

**Sanctions en cas de plagiat prouvé :**

L'étudiant sera convoqué devant le conseil de discipline, les sanctions prévues selon la gravité du plagiat sont :

- L'annulation du mémoire avec possibilité de le refaire sur un sujet différent ;
- L'exclusion d'une année du master ;
- L'exclusion définitive.



Fait à Tébessa, le : 20/06/2018

Signature de l'étudiant(e) :

27 جوان 2018