



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 : des sciences de la nature et de la vie

MEMOIRE DE MASTER

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : science biologique

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

Etude comparative de l'effet antibactérien de quelques produits de la ruche vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* isolées à partir de mammites cliniques bovines

Présenté par :

Si Said Sonia

Rais Souraya

Devant le jury :

Me A. MECHAI	MCB	Université de Larbi Tébessi	Président
Mme H. CHADI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Mme H. FENGHOUR	MCA	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 : science biologique

Option : Microbiologie appliquée

Thème :

Etude comparative de l'effet antibactérien de quelques produits de la ruche vis-à-vis des souches d'*Escherichia coli* isolées à partir de mammites cliniques bovines

Présenté par :

Si Said Sonia

Rais Souraya

Devant le jury :

Me A.MECHAI	MCB	Université de Larbi Tébessi	Président
Mme H. CHADI	MAA	Université de Larbi Tébessi	Rapporteuse
Mme H. FENGHOUR	MCA	Université de Larbi Tébessi	Examinatrice

Date de soutenance : 29 – 05 – 2018

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





بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



Résumé

L'objectif de notre travail est d'évaluer la possibilité d'utiliser les produits de ruche, in Vitro, comme traitement antibactérien efficace des mammites cliniques. Pour cela, on a établie des comparaisons entre l'effet antibactérien de deux variétés de miel, de deux échantillons de la propolis et de ceux de la gelée royale ainsi que leurs synergies à l'égard de cinq souches d'*Escherichia coli*, isolées des mammites cliniques bovines, et de tester leurs efficacités par rapport aux antibiotiques. Cette étude a été réalisée 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 révèle une résistance non négligeable avec 40% : à l'Ampicilline, au Trimethoprim-sulfamethoxazole, à la Tétracycline et à l'association amoxicilline+acide clavulanique, et 20% ,seulement, pour la céphalotine. l'effet inhibiteur du miel par rapport à ces antibiotiques s'est avéré très proche ($P>0,05$) .

Par ailleurs, les différentes comparaisons faites sur les produits naturels vis-à-vis de cette bactérie ont montré : Un effet accentué de miel par rapport aux 2 autres échantillons ($p>0,05$), de même , la synergie a amélioré l'effet de la propolis et de la gelée royale mais pas celui du miel ($P<0,05$).

En parallèle, 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 qualifiées de résistantes.

En fin, nous pouvons conclure que l'activité antibactérienne de ses produits de la ruche contre quelques isolats d'*E.coli* indique leur utilité dans la pratique clinique contre les infections causées par cette bactérie

Mots clés : Miel, propolis, gelée royale, mammites cliniques, activité antibactérienne, concentration minimale inhibitrice (CMI), concentration minimale bactéricide(CMB).

ملخص

الهدف من عملنا هو تقييم إمكانية استخدام منتجات الخلية ، في المخبر، كعلاج فعال لمضاد للبكتيريا من التهاب الضرع السريري. لهذا، أنشأنا مقارنات بين تأثير مضاد للجراثيم من نوعين من العسل، عينتين من دنج ومنها الهلام الملكي و كذلك تعاونهم فيما يتعلق بخمس سلالات من الاشيرييشية القولونية سلالات معزولة عن التهاب الضرع السريري البقري ، واختبار كفاءتهم مقارنة بالمضادات الحيوية. أجريت هذه الدراسة باستخدام طريقة الانتشار في الوسط الصلب الموصى به من قبل Eucast و CLSI ولتحديد MIC تقنية تثبيط في وسط سائل.

في ضوء النتائج التي تم الحصول عليها، فقد كشفت دراسة مقاومة المضادات الحيوية من هذه البكتيريا المعزولة مقاومة غير ضئيلة مع 40%: الأوميبسولين ، ميثوبريم-السلفاميثوكسازول، التتراسيكلين وأموكسيسيلين + حمض الأموكسيسيكلاف و 20% فقط من السيفالوتين. كان التأثير المثبط للعسل على هذه المضادات الحيوية قريباً جداً. ($P > 0.05$) ,

وعلاوة على ذلك، مقارنات مختلفة على المنتجات الطبيعية قد أظهرت ان هذه البكتيريا: تحسنت وهناك تأثير واضح من العسل بالمقارنة مع عينتين الأخرى ($P > 0.05$) ، وتضافر الجهود ل تأثير البروبوليس و غذاء ملكات النحل ولكن ليس العسل ($P < 0.05$).

في موازاة ذلك، تختلف MIC و MBC حسب نوع العسل واختيار الإجهاد ، لكن العسل النقي يبقى الخيار الأفضل لتدمير ما يسمى السلالات المقاومة.

وأخيراً ، يمكننا أن نستنتج أن النشاط المضاد للجراثيم من منتجات خلاياها ضد بعض عزلات E. coli يشير إلى فائدتها في الممارسة السريرية ضد الالتهابات التي تسببها هذه البكتيريا

الكلمات المفتاحية: العسل ، من دنج، غذاء ملكات النحل ، التهاب الضرع السريري ، النشاط المضاد للبكتيريا ، التركيز المثبط الأدنى (MIC) ، التركيز الأدنى للجراثيم.(MBC) .

Abstract

The aim of our work is to evaluate the possibility of using hive products, in Vitro, as effective antibacterial treatment of clinical mastitis. For this, comparisons were made between the antibacterial effect of two honey varieties, two samples of propolis and those of royal jelly, as well as their synergy with five strains of *Escherichia coli*, isolated from bovine clinical mastitis, and to test their efficacies compared to antibiotics. This study was carried out using the method of diffusion in solid medium recommended by Eucast and CLSI and for the determination of the MIC the technique of inhibition in liquid medium.

In the light of the results obtained, the study of antimicrobial resistance of these isolated organisms revealed a significant resistance with 40%: with Ampicillin, Trimethoprim-sulfamethoxazole, Tetracycline and the amoxicillin + clavulanic acid combination and 20% only for cephalotin. the inhibitory effect of honey on these antibiotics was very close ($P > 0.05$).

Moreover, the different comparisons made on natural products with respect to this bacterium have shown: An accentuated effect of honey compared to the other 2 samples ($p > 0.05$), likewise, the synergy has improved the effect of propolis and royal jelly but not that of honey ($P < 0.05$).

In parallel, 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 so-called resistant strains.

Finally, we can conclude that the antibacterial activity of its hive products against some *E. coli* isolates indicates their usefulness in clinical practice against infections caused by this bacterium

Key words: Honey, propolis, royal jelly, clinical mastitis, antibacterial activity, minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC).

Remerciements

Tout d'abord, nous tenons à remercier Dieu le tout puissant qui nous a données la force, le courage et la patience pour mener à terme notre formation de Master.

Nous voudrions adresser toute notre reconnaissance et notre gratitude à l'encadreur de ce mémoire Madame Chadi. H pour sa patience, sa disponibilité et surtout ses judicieux conseils.

Nos sincères remerciements et notre gratitude vont aussi à Dr Machai. A pour avoir accepté de juger ce travail et d'en présider le jury de soutenance. Que vous soyez assuré de notre entière reconnaissance.

Nos remerciements vont également à Madame Fenghour. H qui a accepté de juger ce travail en tant qu'examinatrice, nous lui adressons nos sentiments les plus respectueux.

Nous voudrions également exprimer notre reconnaissance envers Monsieur Boukoucha .M qui nous a apporté son support moral et intellectuel tout au long de notre démarche au laboratoire

Dédicaces

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyé et encouragé à effectuer ce travail de recherche, je dédie ce mémoire:

Spécialement à mon père en témoignage d'un profond amour, de grande reconnaissance et pour tous les sacrifices qu'il a consentis pour mon éducation et mon bonheur.

A ma chère mère pour ses sacrifices depuis qu'elle m'a mise au monde, à qui je dois énormément et qui a tant cru en moi.

A mes très chers frères et soeur : Nesrine, Imade et Abd raouf

A mes meilleures amies qui m'ont appuyée chacune à sa manière et plus spécialement à Nawel

Ce travail n'aurait pas pu être finalisé sans la présence de ces personnes dans ma vie.

À tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin dans la réalisation de ce travail.

Sonia

Dédicaces

Afin d'être reconnaissante envers ceux qui m'ont appuyée et encouragée à effectuer ce travail de recherche, je dédie ce mémoire:

À l'âme de mon très cher papa, qui a toujours été là pour nous, il a tout sacrifié pour ses enfants n'épargnant ni santé ni efforts. Il m'a donné un magnifique modèle de labeur et de persévérance, mais malheureusement nous a quitté avant l'achèvement de ce travail.

À ma mère ; le symbole de la bonté et de la bravoure, que dieu le tout puissant lui accorde la longue vie et la santé.

À mon mari pour son soutien moral, et pour tous les sentiments d'affection et d'amour qu'il représente pour moi, le pilier de tous mes efforts.

À mes enfants adorés INES, ZAKARIA et KINENE EL ASSED que dieu les garde pour moi.

À tous les membres de ma famille et belle famille sans aucune exception

Souraya

Table de matière

Titre	Page
Résumé	-
Abstract	-
ملخص	-
Dédicaces	-
Remerciements	-
Liste des figures	-
Liste des tableaux	-
Liste des Annexes	-
Liste des abréviations	-
Introduction	01
Synthèse bibliographique	-
Chapitre I : Les mammites cliniques	-
I.1. Définition des mammites	03
I.2. Classification des mammites bovines	03
I.2.1. Les mammites cliniques	03
I.2.2. Les mammites sub-cliniques	04
I.3. Importance des mammites bovines	04
I.3.1. Importance économique	04
I.3.2. Importance sanitaire	04
I.4. Agents étiologiques des mammites cliniques	04
I.4.1. Bactéries	04
I.4.1.1. Bactéries majeure	05
I.4.1.2. Bactéries mineures	07
I.4.2. Autres agents responsables de mammites	08
I.4.2.1. Levures, champignons et algues	08
I.4.2.2. Virus	09
I.5. Pathogénie des infections mammaires	09
I.6. Traitement des mammites cliniques bovines	11
I.6.1. Traitement prophylactique	11
I.6.2. Traitement curatif	11
I.6.2.1. Les fluides et les électrolytes	11
I.6.2.2. Les anti-inflammatoires	12
I.6.2.3. Oxytocine et la traite fréquente	12
I.6.2.4. Traitement à base d'Antibiotiques	12
I.6.2.5. Autres traitements	13
I.6.3. La résistance aux antibiotiques	13
Chapitre II : Les produits de la ruche	
II.1. Le miel	15
II.1.1. Définition du miel	15
II.1.2. Les différents types de miels	15
II.1.3. Origine florale	16
II.1.3.1. Miel de nectar de fleurs	16
II.1.3.2. Le miel de miellat	16

Table de matière

II.1.4. II.1.4. Fabrication du miel par les abeilles	17
II.1.5. La récolte du miel	17
II.1.6. Composition chimique du miel	17
II.1.7. Propriétés thérapeutiques du miel	17
I.1.7.1. Effet énergétique et nutritionnelle	17
II.1.7.2. Effet antioxydant	18
II.1.7.3. Effet sur le système immunitaire	18
II.1.7.4. Effet anti-inflammatoire	18
II.1.7.5. Effet antibactérien	18
II.1.7.6. Effet antifongique	19
II.1.7.7. Effet cicatrisant	19
II.1.7.8. Effet antiviral	19
II.1.8. Conservation	19
II .2.La propolis	20
II.2.1. Définition de la propolis	20
II.2.2.La récolte de la propolis	21
II.2.2.1. Par les abeilles	21
II.2.2.2. Par l'homme au niveau de la ruche	21
II.2.3. Utilisation de la propolis	21
II.2.3.1. Par les abeilles	21
II.2.3.2.Par l'Homme	22
II.2.4 .Composition	23
II.2.5. Propriétés thérapeutiques	23
II.2.5.1 .Effet antibactérien	23
II.2.5.2. Activité antivirale	24
II.2.5.3. Activité antifongique	24
II.2.5.4. Effet antiparasitaire	24
II.2.6. Conservation	25
II.2.7. Toxicité	25
II.3. La gelée royale	25
II.3.1.Définition de la gelée royale	25
II.3.2. Fabrication de la gelée royale	25
II.3.3. Récolte de la gelée royale	26
II.3.4. Composition de la gelée royale	26

Table de matière

II.3.5. Propriétés thérapeutiques	27
II.3.5.1. Effet antibactérien	27
II.3.5.2. Effet antiviral et antifongique	27
II.3.5.3. Effet cicatrisant	27
II.3.6. Conservation	27
Partie expérimentale	
Chapitre I : Matériels et Méthodes	
I.1. Objectif	28
I.2. I.2. Cadre de l'étude	28
I.3. Matériels et méthodes	28
I.3.1. Matériel	28
I.3.1.1. Echantillons du miel	29
I.3.1.2. Echantillon de propolis	29
I.3.1.3. Echantillon de la gelée royale	29
I.3.1.4. Souches bactériennes	30
I.3.1.5. Les antibiotiques	30
I.3.1.6. Matériel nécessaire pour la bactériologie	31
I.3.2. Méthodes	31
I.3.2.1. Prélèvement	31
I.3.2.2. Recherche des coliformes thermo-tolérants dans l'échantillon du miel	32
I.3.2.3. Antibiogramme	32
I.3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des échantillons Erreur ! Signet non défini.	35
I.3.2.5. La détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) et de la concentration minimale bactéricide (CMB)	38
Chapitre II : Résultats	
II. Résultats	41
II.1. Recherche des coliformes thermo-tolérants dans l'échantillon du miel	41
II.2. Résultats du test de sensibilité aux antibiotiques et à quelques produits de la ruche	41
II.2.1. Sensibilité aux antibiotiques	42
II.2.2. Comparaison de l'effet antibactérien entre des produits de la ruche	42
II.2.2.1. Effet du miel et de la propolis	42
II.2.2.2. Effet du miel, de la propolis et de la synergie	46
II.2.2.3. L'activité antibactérienne du miel, de la propolis et de la gelée royale	48
II.2.2.4. La comparaison entre l'effet du miel et de l'antibiotique	51
Chapitre III : Discussion	
III. Discussion	54
Conclusion	-
Références bibliographiques	-
Annexes	-

Liste des figures

Figure N°	Titre de figure	Page
<i>Synthèse Bibliographique</i>		
01	Réponse de la mamelle aux infections.	10
02	Exemple de localisation des nectaires sur une plante.	15
03	propolis brute.	20
04	Récolte de la gelée royale.	26
<i>Matériels et Méthodes</i>		
05	Les différents miels utilisés.	28
06	Les différentes propolis utilisées.	29
07	Echantillons de gelée royale Algérienne et française.	29
08	Souches conservées sur gélose nutritive inclinée.	30
09	Ensemencement du miel.	32
10	Préparation de l'inoculum	33
11	Ensemencement sur gélose Muller Hinton.	34
12	Application des disques d'antibiotiques.	34
13	Préparation des disques.	36
14	Filtration du mélange (éthanol +propolis).	37
15	Stérilisation du filtrat.	37
16	Application des disques des échantillons.	38
<i>Résultats et discussion</i>		
17	Pourcentage de sensibilité et de résistance des <i>E. coli</i> aux antibiotiques.	42
18	Diamètre d'inhibition en fonction du miel1 et de la propolis1	43
19	Effet du miel et de la propolis sur le diamètre d'inhibition.	44
20	Zone d'inhibition en fonction du miel1, de la propolis1 et de la synergie.	47
21	: Diamètre d'inhibition en fonction du miel2, de la propolis2 et de la	48

Liste des figures

	synergie.	
22	Diamètre d'inhibition en fonction du miel ¹ , de la Propolis ¹ et de la Gelée royale ¹ .	49
23	Diamètre d'inhibition en fonction de quelques produits de la ruche et de leurs synergies.	50
24	Diamètre d'inhibition en fonction du miel et de l'ATB.	51
25	CMI du miel ¹ pour <i>E.coli</i> ¹ .	52

Liste des tableaux

Tableau N°	Titre de tableau	Page
<i>Synthèse Bibliographique</i>		
01	la composition moyenne du miel.	17
02	Composition moyenne de la propolis.	23
03	Composition moyenne de la gelée royale.	26
<i>Matériels et Méthodes</i>		
04	Renseignements des différents miels utilisés.	28
05	Souches bactériennes.	30
06	Liste des antibiotiques utilisés.	31
07	Les différents échantillons utilisés et leurs associations	38
08	Résultats de la recherche des coliformes thermo-tolérants	41
09	Pourcentage de sensibilité des <i>E. coli</i> isolées à partir des mammites cliniques vis à vis de 06 antibiotiques	41
10	Effet du miel 1 et de la propolis 1 sur des souches d' <i>E. Coli</i> isolées à partir des mammites cliniques.	43
11	Effet du miel 2 et de la propolis 2 sur des souches d' <i>E. coli</i> isolées à partir des mammites cliniques.	44
12	Effet antibactérien du miel sur des <i>E.coli</i> isolée à partir des mammites cliniques.	45
13	Effet antibactérien de la propolis sur des souches d' <i>E.coli</i> isolées à partir des mammites cliniques	45
14	Comparaison entre M1, EEP1 et de l'effet synergique vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i>	46
15	Comparaison entre M2, EEP2 et de l'effet synergique vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i>	47
16	Comparaison entre l'effet du miel1, de la propolis1 et de la gelée royale vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i> .	48
17	Comparaison entre l'effet du miel1, de la propolis1 et de la gelée royale et leurs synergies vis-à-vis des souches d' <i>E.coli</i> .	49

Liste des tableaux

18	Effet gelée royale sur des souches d' <i>E.coli</i> isolée à partir des mammites cliniques	50
19	Détermination de la CMI des miels pour <i>Escherichia coli</i> 01 et 02.	52
20	Détermination de la CMB des miels pour <i>Escherichia coli</i> 01 et 02.	52

Liste des annexes

Annexe 01 : a : anatomie de la mamelle. b : Anatomie du trayon (coupe longitudinale).
Annexe 02 : Classification des germes de mammites.
Annexe 03 : Schéma de l'appareil digestif de l'abeille.
Annexe 04 : La récolte du miel. a : Couteau à désoperculer b: Intérieur de la cuve d'un extracteur
Annexe 05 : La récolte de la propolis. a : Propolis grattée des cadres .b: Grille de récupération de propolis en plastique.
Annexe 06 : Composition moyenne du miel.
Annexe 07 : La source botanique de la propolis selon les différentes régions.
Annexe 08 : Composition moyenne de la gelée royale.
Annexe 09 : Matériels utilisés au laboratoire (Appareillages et Verrerie).
Annexe 10 : Milieux de culture utilisés.

Liste des annexes

Annexe 11 : Analyses statistiques (variance et test de Newman et Keuls) des différentes comparaisons.

Annexe 12 : Antibiogramme comparatif du miel 2 et des antibiotique utilisés.

Liste des abréviations

AINS : Anti-Inflammatoires Non Stéroïdiens.

AIS : Anti-Inflammatoires Stéroïdiens.

AMC : Amoxicilline+Acide clavulanique.

AMP : Ampicilline.

ATB : Antibiotique.

BN : Bouillon Nutritif.

CEP : Céphalotine.

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice.

E. coli : *Escherichia coli*.

EEP : extraction éthanolique de la propolis.

G : gelée royale.

GC : Gluco-Corticoïdes.

GN: Gélose Nutritive.

H₂O₂ : Peroxyde d'hydrogène.

I : Intermédiaire.

LPS : Lipopolysaccharide.

M : miel.

MH : Mueller Hinton.

MN : Milieu nutritif.

OF : Oflaxacine.

P: propolis.

R : Résistant.

S : Sensible.

S. aureus : *Staphylococcus aureus*.

S. uberis : *Streptococcus uberis*.

SXT : Thrimethoprim-sulfaméthoxazole.

SCN : Staphylocoque à coagulase négative.

TE : Tétracycline.

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

Introduction

Bien qu'étant un aliment nutritif, dont l'intérêt nutritionnel est incontestable chez le jeune en croissance et chez l'adulte, le lait peut être impliqué dans plusieurs perturbations sanitaires, notamment les problèmes liés aux mammites en élevage bovin laitier. Les mammites sont la principale cause, de pertes économiques (Dumas et *al.*, 2004) pour plusieurs raisons (lait non produit ou non commercialisé, moindre paiement de celui-ci pour moindre qualité, réforme des vaches incurables et coût des soins) (Bogni et *al.*, 2017).

Parallèlement, on assiste, aujourd'hui, à une utilisation irrationnelle et de manière totalement abusive et anarchique des antibiotiques en pratique rurale, qui aboutit à l'apparition de bactéries résistantes ou multirésistantes aux antibiotiques (Madec, 2014) et de la présence de résidus dans le lait et leurs dérivés qui peuvent détériorer sa qualité et avoir de sérieuses conséquences sur le consommateur, ainsi que sur la technologie laitière (Sédrați, 2014).

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.

Les produits de la ruche s'inscrivent dans cette tendance, elle font l'objet de plusieurs études scientifiques mais qui restent toutefois insuffisantes (Boukraa et *al.*, 2008). Par ailleurs, les nombreuses propriétés thérapeutiques de ces produits, l'effet antibactérien et antifongique sont parmi les effets les plus importants et les plus étudiés.

De ce fait, le miel, la propolis et la gelée royale, produits phares de la ruche, ont fait l'objet de notre travail à cause de leur potentiel antimicrobien intéressant (Osés et *al.*, 2016).

Devant ce constat, l'étude qui a été menée, a pour buts :

- de déterminer la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées à partir du lait de mammites cliniques bovines ;
- de faire une comparaison entre l'effet antibactérien de quelques produits de la ruche ainsi que leurs synergies 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.

Introduction

Enfin, ce manuscrit, nous présenterons, dans un premier temps, dans la partie bibliographique, des généralités sur les mammites et de l'étude de l'agent étiologique. Nous aborderons ensuite la pathogénie et nous montrerons successivement le traitement envisagé à ce propos. Dans un 2^{ème} temps, nous définirons les produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale), leurs compositions et leurs propriétés les plus discriminantes.

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

Chapitre I

Les mammites cliniques

I.1.Définition des mammites :

Une mammite bovine est une inflammation d'un ou plusieurs quartiers de la mamelle (Annexe01) dont l'origine la plus fréquente est la pénétration d'une bactérie dans un quartier par le canal du trayon (Shyaka ,2010 ; Rémy, 2010).

D'autres agents pathogènes peuvent occasionner des infections de la mamelle comme les levures (*Candida*), les algues microscopiques, mais celles-ci sont beaucoup plus rares (Debreil, 2008).

I.2. Classification des mammites :

La mammite est une maladie qui s'exprime à divers degrés d'intensité et qui peut être provoquée par différents organismes (Hanzen et Castagin, 2002). On peut distinguer :

I.2.1. Les mammites cliniques :

Les mammites cliniques sont caractérisées par la présence de symptômes fonctionnels traduisant l'atteinte de la fonction de sécrétion et se manifestant par des modifications macroscopiques de la qualité(aspect et texture) du lait et/ou des modifications microscopiques telles que les concentrations en germes ou en cellules, de symptômes locaux inflammatoires observés au niveau de la mamelle (rougeur, tuméfaction, chaleur et douleur) et de symptômes généraux (hyperthermie, anorexie, arumination, etc.) (Gedilaghine, 2005 ; Debreil, 2008 ; Remy, 2010 ; Hanzen, 2015-2016).

Enfin, selon la gravité et la simultanéité des symptômes, on distingue, par ordre décroissant de gravité, les mammites cliniques suraiguës, aiguës et chroniques (Gedilaghine, 2005).

I.2.2. Les mammites Subcliniques :

Contrairement aux mammites cliniques, les mammites subcliniques ne s'accompagnent d'aucun symptôme, ni général, ni local et ni fonctionnel (Gedilaghine, 2005).

Seul l'examen du lait au laboratoire permet de mettre en évidence des modifications chimiques (baisse du taux de caséines et de lactose, etc.), bactériologiques (présence de germes) et surtout cellulaire du lait, en l'occurrence augmentation des cellules somatiques du lait (surtout les polynucléaires neutrophiles). Les germes en causes sont essentiellement à Gram positif (staphylocoques et streptocoques) (Noireterre ,2006).

I.3.Importance des mammites :

I.3.1.Importance économique :

Les mammites représentent la principale cause des pertes économiques pour raison sanitaire en élevage laitier (Miranda-Morales, 2012).

Elles sont responsables d'une morbidité très grande dans les troupeaux laitiers et porte un préjudice au bien être de l'animal (Gedilaghine, 2005 ; Shyaka, 2010).

Les mammites suraiguës peuvent causer la perte de l'animal ou du quartier atteint. Les mammites subcliniques sont souvent difficilement curables et entraînent l'abattage précoce de l'animal. Les mammites aiguës et suraiguës altérant l'état général de l'animal, peuvent intervenir comme facteurs prédisposant à d'autres maladies de la vache laitière (Debreil, 2008). On a aussi les couts des traitements et le temps passé à les exécuter (Gedilaghine, 2005 ; Debreil, 2008).

I.3.2.Importance sanitaire :

Les mammites portent atteinte à l'hygiène animale et potentiellement à la santé publique (Bogni et al ., 2017).Le lait de mammite clinique n'est pas commercialisé mais celui des infections subcliniques peut entrer dans la production de fromage, lait et autres produits laitiers. 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).

I.4. Agents étiologiques des mammites cliniques :

De très nombreux micro-organismes sont susceptibles de franchir la barrière constituée par le canal du trayon et de se multiplier dans la mamelle : c'est le cas des bactéries, des virus, des levures et des algues qui peuvent être la cause d'infections mammaires (Boultif, 2015).

Cependant, ce sont les bactéries qui sont responsables de la très grande majorité des mammites (Poutrel, 2004).

I.4.1. Bactéries :

Généralement une seule espèce bactérienne est responsable de l'infection, très rarement, l'association de deux espèces. On classe les espèces bactériennes responsables d'infections mammaires en deux groupes (Annexe 02) (Poutrel, 2004 ; Van de leemput ,2007) :

I.4.1.1. Les germes pathogènes majeurs :

Ils regroupent les coques à Gram positifs (*Streptococcus uberis*, *Streptococcus dysgalactiae*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*), les entérobactéries (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, etc.) et les entérocoques, plus rares (*Enterococcus faecalis*...) (Debreil, 2008 et Villard, 2017).

a. *Escherichia coli* :

- **Définition :**

Escherichia coli est l'une des principales bactéries responsables des cas de mammite. Cette bactérie est un bâtonnet à Gram négatif de la famille des entérobactéries. Il est un des micro-organismes pathogènes qui cause de la mortalité dans certains cas de mammite (Poirier, 2007).

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 enterobacteries » est souvent employé à côté du terme de « mammite colibacillaire ».

Par ailleurs, *E. coli* est isolée plus fréquemment lors de mammite clinique que lors de mammite subclinique (Serieys, Seegers, 2002 et Angoujard, 2015).

- **Source et transmission :**

La source d'infection la plus commune est la matière fécale présente dans l'environnement des vaches. La litière organique telle que la paille, les sciures et copeaux de bois supporte bien la croissance d'*E. coli*, surtout lorsque la température est élevée et lorsque la litière est humide. Ceci favorise donc la contamination du canal du trayon et augmente l'incidence de la mammite (Fairbrother, 2014).

Les souches « mammaires » d'*E. coli* suivent un modèle épidémiologique contagieux. Elles contaminent la mamelle pendant le tarissement et entraînent des mammites cliniques ou subcliniques, intervenant souvent dans les trois mois post-vêlage (Remy, 2010). Ces souches d'*E.coli* ont de meilleures capacités d'adhésion. Elles ont une capacité d'invasion des cellules épithéliales mammaires en moyenne 13 fois supérieure aux autres souches (Dogan *et al*, 2006 ; Passey *et al*, 2008).

- **Le pouvoir pathogène**

Certaines souches d'*E. coli* présentent une capsule polysidique autour de leur paroi, ce qui leur permet d'échapper aux immunoglobulines, et les rend moins sensibles aux neutrophiles et au

complément (Serieys et Seegers, 2002). La capsule masque ainsi l'antigène O sous-jacent. Elle assure une protection vis-à-vis de l'activation du complément et empêche l'attachement et la phagocytose par les cellules phagocytaires. La plupart des capsules sont chargées négativement, tout comme les membranes des cellules phagocytaires, créant un effet répulsif (Hirsh et *al.*, 2004).

Le pouvoir pathogène des entérobactéries est lié d'une part au lipopolysaccharide (LPS), élément de la paroi de la bactérie qui se libère à la mort de celle-ci. Le LPS induit la réaction inflammatoire. Le lipide A constituant du LPS et également appelé endotoxine, est à l'origine de l'endotoxine et du choc correspondant. On parle ainsi également de « mammite toxique » (Djabri et *al.*, 2002) et d'autre part, à la sécrétion d'agents cytotoxiques pour l'épithélium mammaire par *E. coli*. On observe aussi dans 30 à 40% des cas graves (mammites aiguës à suraiguës) une bactériémie. Ces infections sont caractérisées par la très forte inflammation qu'elles induisent (Djabri et *al.*, 2002). Les souches d'*E. coli* ont la capacité de diriger leur internalisation dans une vacuole d'endocytose, ce qui empêche l'action des lysosomes, et leur permet de s'y multiplier (Dogan et *al.*, 2006 ; Passey et *al.*, 2008).

b. *Staphylococcus aureus* :

Staphylococcus aureus est une coque Gram +, hémolytique, aéro-anaérobie facultative (Asperger et Zangerl, 2011). Ce germe est présent partout à la surface de la peau et des muqueuses et en particulier au niveau des trayons (Durel, 2004 et Van de leemput, 2007).

Toutes lésions de ces derniers favorisent sa multiplication. *Staphylococcus aureus* est résistant dans le milieu extérieur. Il peut, s'il y a un défaut d'hygiène au moment de la traite ou un dysfonctionnement de la machine à traire, se retrouver dans les gobelets trayeurs (Salat et *al.*, 2007).

c. *Streptococcus uberis* :

C'est un germe ubiquitaire, susceptible d'infecter différents organes et de se multiplier partout. On le trouve sur la peau, les trayons, le pelage, dans la cavité buccale et les voies génitales. C'est une coque à Gram+. Il est très présent dans l'environnement. Tout comme *E. coli*, son origine est les fèces (Serieys, 2003 ; Durel et *al.*, 2004 ; Faroult et *al.*, 2005).

Streptococcus uberis est responsable en général de mammite clinique plutôt en début de lactation et au moment du tarissement. Les mammites à *S. uberis* sont en général aiguës provoquant une inflammation du quartier, une hyperthermie et des modifications du lait (Angoujard, 2015).

d. *Staphylocoques à coagulase négative (SCN) :*

Les SCN (*Staphylococcus intermedius*, *S. hyicus*, *S. xylosus*, *S. epidermitis*, *S. chromogenes*, *S. warneri*, *S. simulans*, *S. sciuri*, etc.) sont des coques à Gram +, hémolytiques ou non, anaérobies facultatifs (Houssa, 2006 ; Angoujard, 2015).

Les SCN génèrent majoritairement des mammites subcliniques, le plus souvent chroniques (Angoujard, 2015)

I.4.1.2. Les espèces pathogènes mineures :

Elles sont exceptionnellement responsables de mammites cliniques, mais plutôt de mammites sub-cliniques. Ces germes sont également classés en germes contagieux et en germes d'environnement (Shyaka, 2010).

Parmi ces nombreuses bactéries, les plus fréquentes sont les streptocoques autres que *S. uberis* (*S. dysgalactiae*, etc.), les entérobactéries autres que *E. coli* (*Klebsiella spp.*, etc.), *Corynebacterium bovis* et d'autres bactéries (Bidaud *et al.*, 2010).

a. *Streptocoques autres que S. uberis :*

Streptococcus dysgalactiae est une coque à Gram positif responsable de mammites subcliniques ou cliniques souvent plus sévère que *S. uberis*. Les réservoirs de cette bactérie sont l'environnement et la peau des trayons crevasses. La transmission peut se faire lors de la traite ou par l'environnement (Blowey et Edmondson, 2010 ; Remy, 2010).

b. *Klebsiella spp :*

Klebsiella spp est un bacille à Gram négatif de la famille des entérobactéries. Les deux espèces les plus fréquemment isolées lors de mammites sont *K. pneumoniae* et *K. oxytoca* (Zadocks *et al.*, 2001). *Klebsiella pneumoniae* (*K. pneumoniae*) colonise souvent la glande mammaire durant la phase d'involution du pis (Zadocks *et al.*, 2001 ; Angoujard, 2015).

c. *Mycoplasma bovis :*

Ce sont des micro-organismes hautement contagieux (NMC, 1999). 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 quelquefois associées à d'autres pathologies (kératite, arthrite et maladie respiratoire). (Francoz *et al.*, 2007).

d. Trueperella pyogenes :

C'est une bactérie à Gram positif anciennement nommée *Arcanobacterium pyogenes*. Cette mammite est sévère avec une létalité pouvant atteindre 50 %. Elle est caractérisée par du pus crémeux et très nauséabonde s'écoulant du trayon (Remy, 2010 et Theron *et al.*, 2010).

e. Corynebacterium bovis :

C'est une bactérie à gram positif vivant à la surface de la peau des trayons et pouvant coloniser la mamelle par le canal du trayon. (Watts *et al.*, 2000).

Elle est responsable de mammites subcliniques (Smith, 2008 ; Scott *et al.*, 2011).

f. Pseudomonas spp :

Pseudomonas aeruginosa est l'espèce la plus répandue, la plus reconnue et la plus pathogène du genre *Pseudomonas* (Houssa, 2006).

Le plus souvent, *Pseudomonas aeruginosa* provoque des mammites cliniques aiguës. La contamination est rare, mais elle peut concerner plus du tiers du troupeau car l'origine de l'infection est l'eau contaminée utilisée pour nettoyer le matériel de traite ou laver les trayons. (Remy, 2010 ; Blowey ; Edmondson, 2010).

g. Listeria monocytogenes et Salmonella spp :

Ces deux bactéries importantes en termes de santé publique et en particulier de sécurité sanitaire des aliments provoquent rarement des mammites, celles-ci sont le plus souvent subcliniques (Remy, 2010).

h. Serratia sp :

C'est une bactérie qui provoque des mammites cliniques sans atteinte de l'état général (Remy, 2010).

I.4.2. Autres agents responsables de mammites :**I.4.2.1. Levures, champignons et algues :**

Les levures (*Candida albicans* et *Cryptococcus neoformans*), champignons (*Aspergillus fumigatus*) et algues (*Prototheca zopfii*) responsables de mammites sont des agents pathogènes mineurs (Bidaud *et al.*, 2010 et Angoujard, 2015).

Les sources de contamination sont souvent des litières humides et/ou moisies, ce qui peut arriver lorsque la paille est stockée à l'extérieur des bâtiments (Remy, 2010 ; Blowey et Edmondson, 2010).

I.4.2.2.Virus :

a. L'herpès virus bovin de type 2(BHV2) /La Thélite ulcéralive herpétique des bovins :

L'agent causal de la Thélite ulcéralive herpétique bovine, dénommée «Bovine herpes mammilitis»), est un virus de la famille de *Herpesviridae*. C'est une affection qui se caractérise par l'apparition au niveau du trayon des vésicules puis d'ulcères douloureux qui sont fréquemment à l'origine de mammites pouvant se surinfecter et conduire à la perte du quartier (Durand, 2000).

b. Virus de la leucose et de la fièvre aphteuse :

-La leucose : il n'existe à priori pas de mammite directement imputable au virus de la leucose bovine. Cependant l'élimination du virus par le lait est possible.

- La fièvre aphteuse : cliniquement, on observe l'apparition de taches rouges au niveau desquelles des aphtes apparaissent. Ils se rompent au bout d'une semaine et laissent des érosions plates se réparant après formation de croûtes (Hanzen, 2016).

I.5. Pathogénie des infections mammaires :

Voici un scénario typique qui mène à l'apparition d'une mammite (Figure 01).

1. Contact avec le microbe: Le nombre de microorganismes s'accroît près de l'orifice (ou sphincter) d'un ou plusieurs trayons. C'est là que l'hygiène et les procédures de traite ont un rôle important à jouer pour éviter que ces microbes pénètrent le quartier (Giesecke, 1985).

2. Entrée du microbe dans le trayon:

La mammite se développe lorsque le canal du trayon de la vache est exposé aux matières fécales ou à un environnement contaminé. Les trayons endommagés (blessures, kératine abimée à l'intérieur du trayon) ou trop ouverts vont être plus facilement envahis par Les pathogènes qui peuvent donc coloniser la mamelle. Suite au contact direct avec l'environnement contaminé, *E. coli* pénètre au niveau du trayon et s'installe dans le canal. L'intensité de la réponse de l'hôte déterminera l'apparition des signes cliniques (Blowey et Edmondson, 2010 ; Fairbrother et Nadeau, 2010).

3. Réponse immunitaire de la vache:

Les neutrophiles sont les cellules les plus importantes pour la défense de l'hôte face à une infection à *E. coli*. Il est essentiel que ces cellules arrivent rapidement au niveau de la lumière de la

glande mammaire afin d'avoir une efficacité totale. Ainsi, lorsque la période de lactation est bien établie, les infections mammaires à *E. coli* sont accompagnées d'un minimum de signes cliniques systémiques tels que la fièvre et d'une diminution temporaire de la production laitière. Les signes cliniques sont modérés et la vache guérie par elle-même. (Burvenich et *al.*, 2003).

Durant la période de parturition ou en début de lactation, plusieurs facteurs permettent à *E. coli* de se multiplier en grande quantité. Ceux les mieux connus sont la faible concentration de lactoferrines dans le lait, une réponse tardive des leucocytes polynucléaires et une diminution au niveau de la tension d'oxygène due à la multiplication bactérienne. Ceci engendre ainsi une diminution de l'efficacité de la destruction des *E. coli* dans les phagolysosomes et une transition rapide vers la présence d'une population leucocyte mononucléaire dans la glande mammaire remplaçant les polynucléaires les plus efficaces (Fairbrother et Nadeau, 2010).

Les *E. coli* se multiplient et meurent dans la glande mammaire libérant ainsi les LPS (endotoxine) de la membrane cellulaire externe. La liaison des LPS avec les cellules de l'hôte initie la production de TNF- α qui est responsable de l'enclenchement de la cascade de l'inflammation qui est causé lors de l'apparition des signes cliniques locaux et systémiques (Hoeben et *al.*, 2000 ; Blum et *al.*, 2000). La production des médiateurs de l'inflammation au niveau de la glande mammaire est responsable de l'appel des neutrophiles. Lorsque l'appel de ceux-ci se fait de façon efficace et rapide, les bactéries sont phagocytées et détruites.

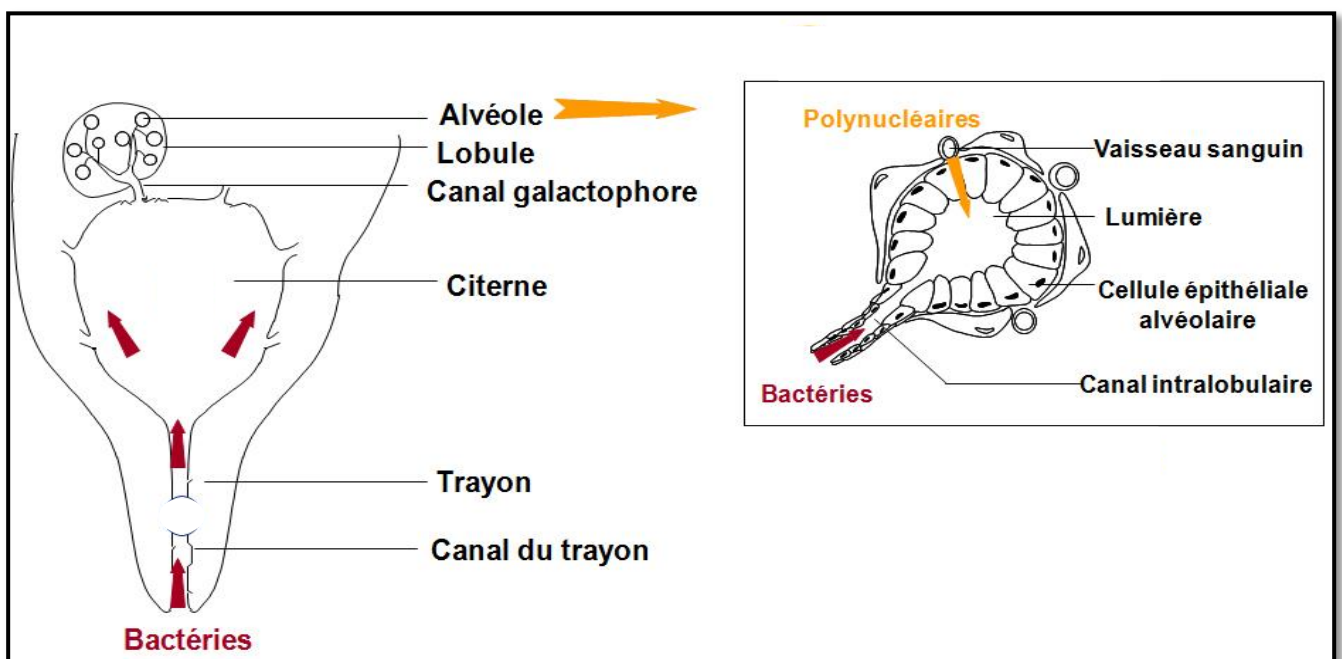


Figure 01 : Réponse de la mamelle aux infections (Drutel, 2017).

I.6. Traitement des mammites cliniques bovines :

Pour les producteurs laitiers, l'objectif immédiat du traitement des mammites cliniques est de diminuer les signes cliniques de la maladie et les souffrances de la vache, en plus d'assurer le retour à la normale du lait et du quartier infecté (Dominique ,2001) .

I.6.1.Trairement prophylactique :

Le vaccin : contient des souches inactivées d'*Escherichia coli* et de *Staphylococcus aureus* et ne doit pas être administré qu'aux animaux sains. Le vaccin est destiné à améliorer l'immunité des troupeaux de bovins laitiers présentant des problèmes récurrents de mammites causées par *E.coli* et *S.aureus*. Il induit une réduction de l'incidence des mammites subcliniques, ainsi que de l'incidence et de la sévérité des symptômes associés aux mammites cliniques (Poutrel, 2014 ; Schukken et al., 2014).

I.6.2.Traitement curatif :

I.6.2.1. Les fluides et les électrolytes:

Les vaches atteintes de mammites cliniques modérées à sévères peuvent subir des débalancements d'électrolytes (sodium, chlore, potassium, calcium, etc.) et être déshydratées à la suite de la baisse d'appétit et de consommation d'eau et de la stase du rumen ou de diarrhée (Rémy ,2010 ; Le Page *et al.*, 2014). Les vaches les plus affectées sont généralement celles qui sont aux prises avec les mammites à coliformes. Ces dernières peuvent développer des chocs septiques ou endotoxiques (Descôteaux , 2004).La réhydratation par voie veineuse est indispensable dès que le seuil de 8 % de déshydratation est atteint (Le Page *et al.*, 2014).

Les mammites dues à des entérobactéries comme *E. coli* induisent une hypocalcémie. Une complémentation calcique est à réaliser par voie orale(Le Page *et al.*, 2014 ; Angoujard, 2015).

I.6. 2.2. Les anti-inflammatoires :

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 anti-inflammatoires Stéroïdiens (Les glucocorticoïdes (GC)) et les anti-inflammatoires non-stéroïdiens (AINS) (Descôteaux, 2004).

I.6.2.3. Oxytocine et la traite fréquente:

L'oxytocine est utilisée pour stimuler l'éjection du lait et faciliter la sortie des sécrétions

mammiteuses du quartier infecté. La traite fréquente permet la sortie des sécrétions anormales, des bactéries, des toxines et des médiateurs de l'inflammation (Descôteaux, 2004).

L'administration d'oxytocine et la traite fréquente des quartiers en mammite clinique modérée ou sévère ne sont pas efficaces, si elles sont pratiquées sans aucun autre traitement (antibiotique et fluidothérapie) (Roberson et *al.*, 2004).

I.6.2.4. Traitement à base d'Antibiotiques :

Les traitements (ATB) : sont présents seuls ou en association. Ils appartiennent à cinq familles: Bétalactamines (pénicillines et céphalosporines), aminosides, tétracyclines, polypeptides et macrolides (Gedilaghine, 2005)

I.6.2.4.1. Voies d'administration :

a. Traitement par voie générale

La voie parentérale ne se justifie qu'en cas de mammites suraiguës et aiguës pour lesquelles la septicémie est à craindre.

Les inconvénients de cette voie sont surtout relatifs aux quantités d'antibiotiques employés et donc le coût du traitement (proportionnel au poids de l'animal), la nécessité, en général, de traiter plusieurs jours (trois à cinq) et de faire des injections occasionnent des stress supplémentaires (Durel et *al.*, 2003).

b. Traitement par voie galactophore :

Dans les premiers stades de l'infection, les bactéries se trouvent en général dans les canaux excréteurs de la mamelle. La voie galactophore permet donc de mettre rapidement en contact les micro-organismes et les antibiotiques (Durel et *al.*, 2003).

I.6.2.4.1. Traitement des mammites colibacillaires :

Il est indispensable, avant tout traitement, de réaliser un prélèvement de lait pour une bactériologie, afin de déterminer l'agent responsable, même si on considère en premier lieu qu'il s'agit d'un colibacille. *Escherichia coli* peut provoquer un choc endotoxinique ou une bactériémie précoce défavorable à la survie de la vache. Le praticien devra mettre en place un traitement

d'attaque privilégiant les fluoroquinolones ou l'association sulfamide-triméthoprime par voie parentérale (Salat *et al.*, 2007).

Les scientifiques utilisent une fluoroquinolone à forte concentration une seule fois.

Aux Etats-Unis, lors de mammites colibacillaires, aucun traitement antibiotique n'est prescrit. Seul un anti-inflammatoire est utilisé pour lutter contre le choc endotoxinique. En effet, les colibacilles sont souvent rapidement éliminés par les défenses immunitaires (Van de leemput, 2007). On observe 70% de guérisons spontanées (Seegers *et al.*, 2007).

Il est important de sensibiliser l'éleveur à intervenir rapidement lors d'une mammite à coliforme, si possible en phase d'hyperthermie, pour éviter le choc endotoxinique et des lésions irréversibles de la mamelle (Bosquet, 2005). Au bout de 24h, le praticien revient dans l'exploitation avec un premier résultat de bactériologie : si l'agent responsable de l'infection mammaire est effectivement un colibacille, on poursuit le traitement symptomatique en utilisant ou pas des antibiotiques par voie parentérale contre les Gram négatif ainsi qu'un A.I.N.S (Anti-Inflammatoire Non Stéroïdien), par contre, s'il s'agit d'une bactérie Gram positif, il faudra reconsidérer le traitement antibiotique (Foucras *et al.*, 2006 ; Schmit *et al.*, 2007)

I.6.2.5. 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 (Hillerton et Berry, 2003).

I.6.3. Résistance aux antibiotiques :

Afin de bien contrôler la mammite bovine et d'éviter les problèmes associés avec la résistance aux antibiotiques et l'échec du traitement, il est important de connaître certaines caractéristiques de l'antibiorésistance des agents pathogènes en cause. Plusieurs études démontrent des résultats concernant la surveillance de l'antibiorésistance, mais les méthodes utilisées pour déterminer le statut des diverses souches ne sont pas toujours les mêmes. Il faut donc être prudent quant à la comparaison de ces résultats. Une étude en Finlande sur 154 isolats d'*E. coli* provenant de 65 fermes laitières a pu démontrer que les antibiotiques pour lesquels de la résistance était plus souvent détectée étaient l'ampicilline (18,6 %), la streptomycine (16,4 %), la tétracycline (15,7 %) et le sulfaméthoxazole (13,6 %). De plus, pour cette étude, aucune résistance n'a été détectée pour la gentamicine, le florfenicol et pour le ceftiofur (Suojala *et al.*, 2011).

Une étude aux Etats-Unis rapportait des résultats d'antibiorésistance pour un suivi de 10 antibiotiques utilisés en médecine vétérinaire pour 129 *E. coli* isolés de cas de mammite bovine. La plupart des *E. coli* (98,4 %) étaient résistants à l'ampicilline et plusieurs étaient résistants à la streptomycine (40,3 %), au sulfisoxazole (34,1 %) et à la tétracycline (24,8 %) (Srinivasan et *al.*, 2007).

Parfois, il est possible de retrouver certains facteurs de virulence qui seraient corrélés avec la présence de résistance aux antibiotiques. Ceci n'est pas très souvent rapporté en ce qui concerne les souches d'*E.coli* causant des mammites bovines. L'étude en Finlande a pu rapporter une telle corrélation. De tous les gènes de virulences évalués, ils ont pu mettre en évidence que seulement *iucD* présentait une corrélation avec la résistance envers la streptomycine, l'ampicilline, le sulfaméthoxazole et le triméthoprime. Ce gène code pour l'aérobactine qui est impliqué dans l'acquisition du fer et peut être présent soit au niveau d'un chromosome ou sur un plasmide, où beaucoup de gènes d'antibiorésistance sont situés (Suojala et *al.*, 2011).

Chapitre II

Les produits de la ruche

II. Les produits de la ruche

Parmi nos meilleurs choix dans les pays de tiers monde est la valorisation des produits de la ruche (miel, propolis, gelée royale, pollen, venin, etc.) .Leurs exploitation en médecine naturelles est le plus souvent en complément des traitements conventionnels.

Récemment, de nombreuses études scientifiques ont redonné la juste place de ces produits dans l'apithérapie. L'effet antibactérien et antifongique sont parmi les effets les plus importants et les plus étudiés (Assie, 2004 ; Boukraa *et al.*, 2008).

A ce propos, le miel, la propolis et la gelée royale seront développés dans cette partie à cause de l'intérêt qu'ils vont porter pour notre partie expérimentale.

II.1. Le miel :

II.1.1. Définition du miel :

Le mot «miel» est issu du latin mel, mellis qui signifie «miel» et « douceur». (Joshi *et al.*, 2000 et Lequet, 2010).

Il est défini comme étant la denrée naturelle, sucré produite par les abeilles mellifiques à partir du nectar des fleurs ou de certaines sécrétions provenant de parties vivantes de plantes (Makhloufi, 2011).

II.1.2. Les différents types du miel :

Selon Sanz et ses collaborateurs en 2005, le miel vient des plantes par l'intermédiaire des abeilles à partir du nectar recueilli dans la fleur ou du miellat recueilli sur la plantes (Figure 02).

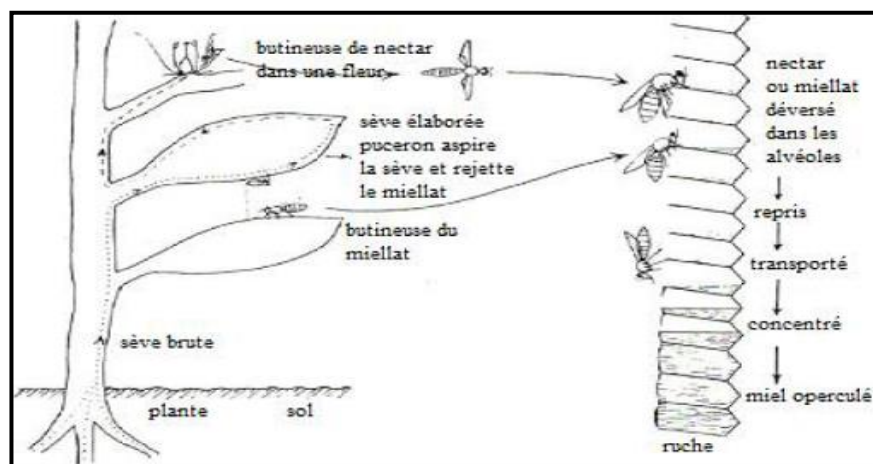


Figure 02 : Exemple de localisation des nectaires sur une plante (Lequet, 2010).

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

On peut séparer les miels en :

Les miels monofloraux ou unifloraux, qui proviennent de façon prédominante d'une seule espèce florale.

Les miels polyfloraux ou « miels toutes fleurs » ou encore « miels mille fleurs » qui résultent de la récolte des abeilles sur plusieurs espèces florales (Clément, 2009).

II.1.3. Origine des miels :

II.1.3.1. Miel de nectar de fleurs :

Le nectar, qui est en générale la source principale de miel, est le liquide sucré sécrété par les glandes dites nectarifères présentes sur de nombreuses plantes. Les nectaires qui abritent ces glandes sont situés le plus souvent dans les fleurs, mais peuvent aussi se trouver à la base de certaines feuilles (Marchenay et Berard, 2007).

Le nectar est un mélange chimique complexe constitué d'eau, de sucres, ainsi que d'autres substances (protéines, lipides, minéraux, etc.) (Lequet, 2010).

II.1.3.2. Le miel de miellat :

Pour certains miels (le miel de sapin par exemple), la principale source sucrée est le miellat. Il s'agit d'un liquide sucré produit par plusieurs espèces d'insectes parasites vivant sur la plante, tels que : des pucerons, des cochenilles ou de cicadelles. Ces insectes, munis d'un appareil buccal piqueur suceur, prélèvent la lymphe végétale dont ils se nourrissent en perforant la plante qui les abrite (Bruneau, 2004).

Il est difficile d'observer les abeilles effectuer ce type de butinage. Il a été montré qu'en présence d'une grande quantité de nectar, elles délaissent le miellat. Cependant, lorsque les conditions climatiques défavorables, le miellat peut représenter une source nutritive intéressante pour l'abeille (Clément, 2006).

Le miellat est composé généralement des sucres (glucose, tri holoside, etc.) (Bogdanov *et al.*, 2005). Il contient aussi de dextrine, de gommes, de protéines et d'acides aminés et des vitamines (Bruneau, 2004).

II.1.4. Fabrication du miel par les abeilles

Les abeilles butineuses ajoutent de la salive au nectar ou au miellat qu'elles recueillent (annexe03), ce qui le rend fluide et surtout l'enrichit en enzymes, remplissent leur jabot puis transportent le miellat ou le nectar jusqu'à leur ruche. Là, elles distribuent aux ouvrières d'intérieur et aux mâles.

Le miellat et le nectar passent à plusieurs reprises d'une abeille à une autre en subissant à chaque fois une addition de salive qui transforme les sucres. Puis, elles déposent le miel dans les alvéoles, qui sera concentré et protégé (Alvarez, 2010).

II.1.5. La récolte du miel :

La récolte s'effectue lorsque les cadres de la ruche sont remplis et que la floraison est terminée. Après avoir chassé les abeilles par enfumage, L'apiculteur retire les cadres de miel situés en hauteur, puis il les transporte dans la miellerie et enlève les opercules à l'aide d'un couteau à désoperculer. Les cadres sont, ensuite, placés dans un extracteur (Annexe 04) qui permet, grâce à la force centrifuge, de faire couler le miel dans la cuve. Le produit obtenu est ensuite filtré pour éliminer les impuretés ou les restes de cire (Cuvillier, 2015).

II.1.6. La composition :

Le miel varie d'une ruche à l'autre du fait de la grande variété de plantes pouvant être récoltées par les butineuses (Djaafri et al, 2014). Il existe donc une multitude de miels de consistance, de composition et de goût différents. Les composantes majeures sont l'eau et les glucides (Tableau 01) (Amri, 2006) et d'autres composantes mineures dont les noms et les pourcentages sont récapitulés dans l'annexe 06.

Tableau 01 : la composition moyenne du miel (Teyssier, 2005).

Composant	Fructose	Glucose	Eau	Maltose	Saccharose	Divers
Quantité	38%	31%	17%	7,3%	1,3%	3,5%

II.1.7. Propriétés thérapeutiques du miel :

II.1.7.1. Effet énergétique et nutritionnelle :

Le miel étant composé de sucres simples, il est facilement assimilé par l'organisme, il est, souvent, utilisé par les sportifs pour sa valeur énergétique : 310kCal / 100g. Cependant, Il est moins calorique que le sucre (environ 405 kCal / 100g), ce qui en fait un aliment apprécié des diététiciens (Gout, 2009).

II.1.7.2. Effet antioxydant :

Les enzymes, les acides organiques, les peptides, mais surtout les composés Phénoliques, les pigments flavonoïdes et caroténoïdes jouent le rôle d'antioxydants (Gharbi, 2011 ; Al-Mamary et *al.*, 2002).

II.1.7.3. Effet sur le système immunitaire :

Il entraîne l'augmentation de + 50 % de monocytes. En plus, La prise orale de miel stimule la production d'anticorps durant les deux premières phases de la réponse immunitaire contre les antigènes thymus-dépendants et thymus-indépendants (Al-Waili et Haq, 2004).

II.1.7.4. Effet anti-inflammatoire :

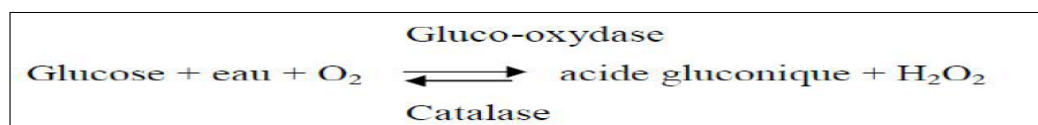
Les flavonoïdes présents semblent provoquer la disparition des douleurs et des gonflements, Le miel joue un rôle anti-inflammatoire (Van Den Berg et *al.*, 2008 et Tomczak, 2010).

II.1.7.5. Effet antibactérien :

Le miel inhibe la croissance d'un grand nombre de bactéries, y compris un grand nombre de bactéries pathogènes (Mohammed, 2017). L'activité est plus importante quand le miel est administré de façon topique, directement sur les zones contaminées. Le miel est bactériostatique et bactéricide. L'activité antibactérienne est due à plusieurs facteurs :

- **L'effet osmotique** : Le miel est une solution sursaturée de sucres, il est hypertonique. L'hypertonie provoque la lyse des bactéries par déshydratation et inhibe la croissance des bactéries avant d'induire leurs morts.
- **Le pH faible** : un pH acide est un milieu défavorable au développement de la plupart des germes.
- **Le peroxyde d'hydrogène H₂O₂**: L'activité antimicrobienne de certains miels dépend de leur contenu en peroxyde d'hydrogène endogène (Brudzynski, 2006).

L'enzyme glucose-oxydase (sécrétée par les glandes hypopharyngiennes de l'abeille) forme le peroxyde d'hydrogène H₂O₂ (aux propriétés antiseptiques) par oxydation du glucose et la catalase scinde le peroxyde en eau et dioxygène comme suit (Bogdanov et Blumer, 2001) :



L'eau est indispensable au processus d'oxydation, c'est ainsi que le peroxyde d'hydrogène se forme uniquement dans le miel non-mur ou dilué. Dans le miel mur, le Processus est bloqué, avec

possibilité de réactivation par dilution (Bogdanov et Blumer, 2001). Le glucose-oxydase est thermolabile et sensible à la lumière.

- Les facteurs « non peroxydes » : Les facteurs « non peroxydes » sont nombreux et ne sont pas tous identifiés. On retrouve le méthylglyoxal, la bee-defensin, les composés polyphénoliques et les flavonoïdes.

Il existe une variabilité de l'activité antimicrobienne, corrélée avec l'origine botanique du miel.

Le spectre antibactérien de nombreux miels est large sur les bactéries à Gram positif et à Gram négatif et sur celles sensibles ou résistantes à des antibiotiques (Boukraâ et Al-Waili, 2005 ; Sulaiman, 2009 ; Kwakman et *al.*, 2010 ; Tomczak, 2010 ; Kwakman et *al.*, 2011).

II.1.7.6. Effet antifongique :

Le miel en concentration allant de 5 à 80% a des effets inhibiteurs contre *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon spp*, *Aspergillus niger* et *Trichophyton mentagrophytes* (Al-waili, 2005 ; Gharbi, 2011 ; Koç et *al.*, 2011). De même, il a un effet antimycotoxinique (El-Arab et *al.*, 2006).

II.1.7.7. Effet cicatrisant :

Le miel accélère la cicatrisation et la guérison des plaies et des brûlures grâce à ses propriétés nettoyantes, désinfectantes et nutritives. Il est immunomodulateur. Il stimule, notamment la multiplication et la croissance des fibroblastes et des cellules épithéliales qui vont participer à la réparation (Descottes, 2009). Le miel induit également la synthèse de collagène et active le transforming growth factor-B1 tissulaire. Grâce à ses propriétés hygroscopiques, à l' H_2O_2 et à son pH acide, il tue les bactéries et favorise la détersion des plaies (Cuvillier, 2015).

II.1.7.8. Effet antiviral :

Les chercheurs ont montré une action du miel sur le virus de la rubéole In-vitro. De même, in vivo, le miel utilisé a révélé une activité antivirale supérieure à celle de l'acyclovir® sur des lésions dues au virus de l'herpès simplex labial et génital (types 1 et 2) chez l'homme (Mohammed, 2017).

II.1.8. Conservation :

Pour une bonne conservation du miel, pendant de nombreux mois, il faut faire attention à 3 facteurs : l'humidité, la chaleur et la lumière. Si celui-ci est soumis à une température trop

importante, il s'en suivra une dégradation des sucres, une perte d'arôme et une augmentation de l'acidité (Blanc, 2010).

Le miel doit être conservé à 15°C, à l'abri de la lumière, de l'air et de l'humidité et doit être préférentiellement consommé dans l'année qui suit sa récolte (Clément, 2006).

Au cours du vieillissement et à la température ordinaire, on note des transformations très sensibles sur une période de un à deux ans :

- la coloration s'intensifie ;
- l'acidité libre augmente ;
- la teneur en enzyme diminue (Assie, 2004).

II .2.La propolis

II.2.1. Définition de la propolis :

La propolis (Figure 03), également appelée colle d'abeille, est une matrice complexe naturelle synthétisée par les abeilles à partir de produits collectés dans les bourgeons des arbres ou d'autres sources botaniques (telles que le peuplier, saule, bouleau, orme, aulne, hêtre, conifère, marronnier suc, résine, mucilage et treilli) (Annexe 07) et enrichies par leurs sécrétions (cire et sécrétions salivaires principalement) (Cuvillier, 2015 ; Sforcin, 2016 ; Oryan *et al.*, 2018).

Le mot propolis est dérivé du grec, dans lequel pro signifie "à la entrée" à "et polis " city ", indiquant que ce produit naturel est utilisé par les abeilles comme ciment pour garder l'humidité et la température stables dans la ruche toute l'année, et sceller les fissures ou les espaces ouverts et protéger leurs ruches contre l'infection par des bactéries et des champignons (Sforcin, 2016 et Al-Ghamdi, 2017)

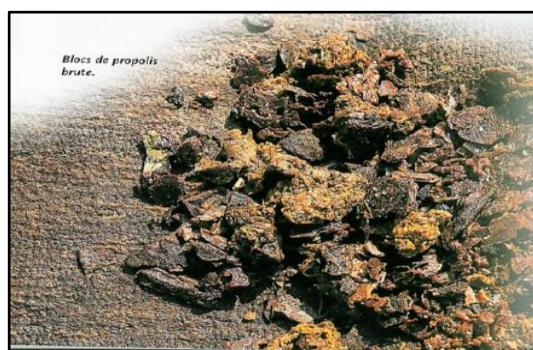


Figure 03 : propolis brute (Sauvager, 2014 ; Amigou, 2016)

II.2.2. La récolte de la propolis :

II.2.2.1. Par les abeilles :

La récolte de la propolis est faite par un nombre restreint d'abeilles ouvrières butineuses. Ces ouvrières sont très spécialisées dans cette activité puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de la colonie (El housseini , 2013).

La récolte qui ne répond pas à des règles bien définies et constantes, dépend de nombreux facteurs :

-Facteurs saisonniers : la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison (c'est à dire au printemps), soit, le plus souvent, à la fin de la miellée ou à l'approche de l'automne (au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage) (Segueni, 2011).

-Facteurs géographiques : il a été constaté que les ruches situées dans les régions boisées propolisent plus que les ruches de plaines (Cuvillier, 2015).

-Facteurs climatiques (la température): les abeilles récolteuses de propolis déploient leur activité au cours des journées chaudes (température supérieure à 20°C) et en particulier pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne) (Cuvillier, 2015).

-Facteurs liés à la race d'abeille: il est reconnu que les caucasiennes et certaines autres races d'Asie mineures propulsent, en général, davantage que les autres (Ferhoum, 2010).

II.2.2.2. Par l'homme au niveau de la ruche :

La propolis peut être récoltée selon deux techniques diverses (Annexe05):

- Raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse. La propolis alors dure et friable se détache mieux (Bruneau ,2015).

- Utilisation de différents dispositifs: grille moulée en matière plastique ou en métal. On pose cette grille comme couvre cadres. Les abeilles s'empressent d'obturer ces trous de propolis (Evangelist-Rodrigues et *al.*, 2001). Cette dernière technique est la meilleure.

II.2.3. Utilisation de la propolis

II.2.3.1. Par les abeilles :

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert de mastic de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour :

- assurer une meilleure isolation thermique ;
- obturer les fissures ;
- réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid ;

- recouvrir les corps étrangers (souris, cétoines, frelons, etc.) qu'elles ne peuvent pas évacuer ;
- réparer les rayons et renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire que l'abeille sécrète ;
- stériliser les alvéoles avant la ponte (Proste ,2005).

II.2.3.2.Par l'Homme :

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

a. Le cosmétique

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et le cosmétique (Clémentine, 2015). Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés.

Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications (Ferhoum, 2010).

b. La médecine : La propolis est utilisée dans divers traitements tels que:

- les problèmes cardio-vasculaires ;
- l'appareil respiratoire (pour diverses infections) ;
- les soins dentaires (Ferhoum, 2010) ;
- la propolis est une substance médicale active et importante dans le traitement des brûlures, de la neuro-dermatite, des ulcères de jambe, herpès génital, prurit et potentiellement actif contre les dermatophytes (Oryan et *al.*, 2018) ;
- La propolis est un espoir contre le cancer (constituée essentiellement de Polyphénols) (Martha, 2014) ;
- Le goitre est l'affection thyroïdienne la plus fréquente au monde. Sa guérison est lente et les rechutes sont nombreuses. Les propriétés immunomodulatrices de la propolis permettent de diminuer la durée de traitement de la thyroïdite auto-immune et du goitre (Domerego et *al.*, 2017) ;

La propolis a une action directe sur le pancréas endocrine. L'effet attendu est hypoglycémiant ce qui est intéressant dans le traitement du **diabète** (Nolwenn, 2011) ;

- On utilise la propolis sous forme de spray ou d'inhalation pour soigner la toux, la laryngite et les maux de gorge (Fournier, 2009) ;
- Le miel peut être employé seul ou en association avec de la propolis pour réhydrater la peau, guérir des plaies bénignes ou des coups de soleil. Cette association favorise la cicatrisation (Laurent, 2005) ;
- La propolis, seule ou associée à du miel, a une action **antiparasitaire** et des effets antiseptiques pour lutter contre certains parasites comme le ténia. (Fournier, 2009) ;

- La pommade à la propolis est très indiquée pour soulager les démangeaisons et régénérer la peau lésée (Domerego *et al.*, 2017) ;
- Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire (Ferhoum, 2010).

c. Technologie alimentaire

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture (Mizuno, 2002). Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (Ferhoum, 2010).

II.2.4 .Composition :

La composition de la propolis révèle plus de 180 constituants, tous n'ayant pas été identifiés (Domerego *et al.*, 2009). La propolis est un ensemble de matières résineuses, gommeuses et balsamiques. Comme ses origines sont variées, les proportions de ses constituants changent énormément. Cependant, On retrouve toujours des résine et des baumes, de la cire, des essences, du pollen et des éléments divers (Tableau 02) (Bruneau, 2009; Gharbi, 2011).

La composition varie en fonction des plantes butinées par l'abeille. Cependant, son activité thérapeutique et ses propriétés restent inchangées (Cuvillier, 2015).

Tableau 02 : Composition moyenne de la propolis (Bruneau, 2009).

Composants	Résines et baumes	Cires	Assenés végétales	Pollen	Autres
quantité	55%	30%	7%	3%	5%

II.2.5. Propriétés thérapeutiques:

II.2.5.1 .Effet antibactérien :

La propolis est souvent nommée « antibiotique naturel ». Ces propriétés sont étendues et importantes sur de nombreuses souches bactériennes. Son action est puissante, elle agit en effet sur *Staphylococcus aureus* (Trusheva *et al.*, 2010), les *streptocoques* (*Streptococcus mutans* responsable des caries dentaires et *Streptococcus sobrinus*), *Paenibacillus alvei*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis* ou encore sur les Gram négatifs comme les *salmonelles*, *proteus mirabilis* ou *Helicobacter pylori*, responsable d'ulcère gastroduodéal (Kim *et al.*, 2011). En revanche, on note une faible activité de la propolis sur *Escherichia coli* et les *Pseudomonas* (Ghedira *et al.*, 2009 ; Cuvillier, 2015).

Les différentes études mécanistiques suggèrent que la propolis et/ou ses composés pourraient inhiber la croissance bactérienne par blocage de la division cellulaire, par une désorganisation du cytoplasme, par une inhibition de la synthèse protéique ou par une inhibition du processus d'adhésion (Scazzocchio et *al.*, 2006 ; Farooqui et Farooqui ,2010)

Certaines études ont montré que des souches résistantes, voire multi résistantes aux antibiotiques, étaient sensibles à la propolis (Raghukumar et *al.*, 2010). Il a également été montré que la propolis, lorsqu'elle est prise en association avec certains antibiotiques, augmente leur efficacités (streptomycine, ampicilline, gentamycine, cloxacilline, etc .) (Cardinault, 2012).

II.2.5.2. Activité antivirale :

Les études ont montré que la propolis et/ou ses constituants étaient efficaces contre de nombreux virus : myxovirus, poliovirus, coronavirus, rotavirus et adénovirus (Schnitzler et *al.*,2010 ; Cardinault et *al.*, 2012). Ainsi, la propolis et certains de ses constituants (apigénine et chryisine) possèdent un effet prophylactique contre le virus de la grippe (Liu et *al.*, 2008).

La propolis de peupliers et l'un de ses principaux composés, l'ester phényléthylique d'acide caféique (**CAPE**), ont un potentiel **anti-VIH** (comme agent anti-intégrase du virus) (El housseini, 2013).

II.2.5.3. Activité antifongique :

La propolis a une activité antifongique importante, c'est ce qui permet aux cadavres présents dans la ruche, dont les abeilles ne peuvent se débarrasser, de ne pas moisir (Ghedira et *al.*, 2009).

Elle a une activité fongicide contre les germes appartenant au genre *Candida*, mais aussi contre les champignons de type *Aspergillus* (Ozcan ,2004) et *Mycrosporium* ainsi que contre les levures (Dalben-Dota et *al.*, 2010).

II.2.5.4. Effet antiparasitaire :

Selon certaines études, la propolis serait efficace contre la plupart des parasites répandus essentiellement dans les pays tropicaux et subtropicaux, tels que :

- les *Trichomonas* → Trichomonose uro-génitale ;
- le *Trypanosoma cruzi* → Maladie de Chagas ou trypanosomiase américaine ;
- les *Leishmania* → Leishmaniose ;
- le *Gardia lamblia* →Lambliaose ou parasitose intestinale humaine (Abdel-fattah et Nada, 2007).

De plus, il a été démontré qu'elle aurait une action inhibitrice contre le *Toxoplasma gondii*, connu pour être l'agent responsable de la **toxoplasmose** (El housseini, 2013).

II.2.6. Conservation :

La propolis est un produit facile à conserver, quelle que soit la forme sous laquelle elle se présente. Il est, toutefois, préférable de la conserver dans des récipients hermétiques, à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur. Pour bénéficier de toutes ses propriétés, il est recommandé d'utiliser la propolis aussi fraîche que possible (Nolwenn, 2011).

II.2.7. Toxicité :

Les études en rapport avec la toxicité de la propolis sont rares. Elle ne sera pas toxique pour les hommes et les animaux, si elle est consommée en quantités raisonnables (Segueni, 2011). Cependant, Il peut exister des cas d'allergies de contact (dermatose et eczéma) (Gardana et Simonetti ,2011).

II.3. La gelée royale :

II.3.1. Définition de la gelée royale :

La gelée royale est la substance élaborée dans la ruche, elle est, entre autre, destinée à l'alimentation des reines .Elle est fabriquée en très faible quantité par la colonie, et elle demande un savoir-faire particulier à l'apiculteur pour la recueillir. Il s'agit d'une sécrétion crémeuse, blanchâtre à jaunâtre, à l'odeur discrètement piquante et au goût acide dû à son pH avoisinant 3-4. Elle est consommée comme complément alimentaire, mais elle est également utilisée en cosmétique et dans l'industrie pharmaceutique (Bogdanov, 2011; Bruneau, 2011 ; Han et *al.*, 2011).

II.3.2. Fabrication de la gelée royale :

La gelée royale est sécrétée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des jeunes abeilles nourrices, au stade où ces glandes sont les plus développées. Elle est fabriquée à partir des protéines et des nutriments du pollen qu'elles ont ingérés (Gharbi, 2011).

On distingue deux types de gelée royale : celle destinée à toutes les larves durant leurs premiers jours de développement et celle destinée uniquement aux larves de reines (Cherbuliez et Domerego, 2003).

II.3.3. Récolte de la gelée royale :

La récolte consiste à prélever directement dans la ruche les cellules royales produites régulièrement (Jean-Prost, 2005). Pour une grande production de gelée royale, il est nécessaire de suivre plusieurs étapes (Jean-Prost, 2005 ; Marchenay et Bérard, 2007) :

- rendre la ruche orpheline : Sans reine (tuée ou déplacée) ;
- installer des cellules naturelles ou artificielles ;

Pour récolter la gelée royale, il est d'abord nécessaire de retirer les larves avec une pince. La substance royale est récoltée à la spatule ou aspirée à la seringue ou au compte-goutte à piston (Figure 04). Il faut ensuite retirer les débris de cire et autres impuretés à la pince et filtrer la gelée royale (Jean-Prost, 2005).

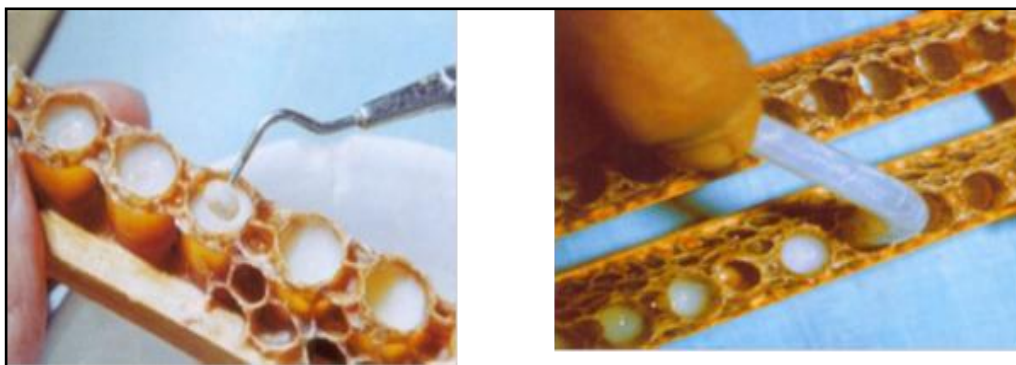


Figure 04: Récolte de la gelée royale (Clément, 2006).

II.3.4. Composition de la gelée royale :

La gelée royale est théoriquement riche en éléments nutritifs, d'où son intérêt pour la reine, Cet intérêt est dû à une composition variée (Annexe08), mais aussi à la présence des molécules spécifiques de la gelée royale. Les différences entre les gélées royales sont beaucoup moins marquées que pour le miel (Gharbi, 2011).

En fait, la composition moyenne de la gelée royale est comme rapportée dans le tableau 03.

Tableau 03 : Composition moyenne de la gelée royale (Clément et al ., 2011).

Composants	Eau	Glucide	Protide	Lipide	Autres
Quantité	66%	15%	13%	4%	2%

II.3.5. Propriétés thérapeutiques :**II.3.5.1. Effet antibactérien :**

Les scientifiques ont montré une efficacité de la gelée royale sur *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli* avec des concentrations minimales inhibitrices respectives de 1,7% et 2,2% (Boukraâ *et al.*, 2009). La gelée royale a montré des effets inhibiteurs *in-vitro* sur : *Enterococcus faecalis*, *Bacillus subtilis*, *Micrococcus varians*, *Pseudomonas fluorescens* et *Bacillus larvae* (Gharbi, 2011 ; Cuvillier, 2015).

II.3.5.2. Effet antiviral et antifongique :

Elle présente également une activité antivirale, utile dans les traitements des hépatites ou dans le cas de gripes en stimulant le système immunitaire. En effet, son action directe sur les virus n'a pas été clairement démontrée (Blanc, 2010).

II.3.5.3. Effet cicatrisant :

La gelée royale aide à lutter contre les agressions extérieures et contre le vieillissement de notre organisme, notamment au niveau des phanères et de la peau (Cuvillier, 2015).

II.3.6. Conservation :

Après récolte, la gelée Royale est placée en flacon de verre hermétique puis stockée au froid (température inférieure à 5°C), à l'abri de l'humidité et de la lumière. La conservation peut être de plusieurs mois. On trouve également de la gelée royale sous forme lyophilisée en capsule ou en gélule, en ampoule sous vide, en flacon, en comprimé ou mélangée avec du miel (Cuvillier, 2015).

Partie

Expérimentale

Chapitre I

Matériels et Méthodes

I.1. Objectifs :

Les mammites cliniques sont parmi les pathologies majeures liées à la production laitière bovine, qui entraînent une perte de production considérable et un impact sur la santé public.

Par conséquent, l'objectif de ce travail est de faire une étude comparative de l'activité antibactérienne entre quelques produits de la ruche (miel, propolis et gelée royale), utilisés indépendamment ou en association vis-à-vis des souches d'*E.coli*, ainsi que de les comparer par rapport aux antibiotiques testés et de déterminer leurs CMI et leur CMB. Ceci est dont le but de trouver un nouveau moyen de lutte.

I.2. Cadre de l'étude :

Notre partie expérimentales a été réalisée au laboratoire de microbiologie, du département de biologie appliquée, université de Chikh Laarbi Tebessi de Tébessa, durant une période de 3 mois allant du 1^{er} février jusqu'à fin Avril 2018.

I.3. Matériel et méthodes :

I.3.1. Matériel:

I.3.1.1. Echantillon du miel : deux variétés du miel ont été récoltées à partir de deux endroits différents (Tableau 04 et figure 05).

Tableau 04 : Renseignements des différents miels utilisés.

N° d'échantillon	Types de Miel	Région	Origine florale	Date de récolte	Le mode d'extraction	Couleur (marron)
M1	Multifloral	Batna	Toutes fleurs	04-2017	Manuelle	Claire
M2	Multifloral	Tizi Ouzo	Toutes fleurs	05-2017	Manuelle	Foncé



Figure05 : Les différents miels utilisés.

I.3.1.2. Echantillons de la propolis :

Deux échantillons ont été obtenus auprès des mêmes apiculteurs des wilayas originaires des échantillons du miel (Figure 06).



Figure 06 : Les différentes propolis utilisées

I.3.1.3. Echantillons de la gelée royale :

Un échantillon a été obtenu de la même ruche origine du miel et de la propolis, auprès de l'apiculteur de la wilaya de Batna (G1) (EL maadher).

Le deuxième échantillon est obtenu de la France (GF) dans un flacon hermétique contenu dans un emballage opaque avec des renseignements indiquant les conditions de conservation adéquate (Figure 07).



Figure 07 : Echantillons de gelée royale algérienne et française.

I.3.1.4. Souches bactériennes :

05 souches d'*E.coli*, isolées à partir de mammites cliniques bovines, et une autre de référence. Elles ont été fournies par le laboratoire de recherche de la gestion des ressources animales locales, de l'école nationale supérieure vétérinaire d'Alger (Tableau 05 et figure 08).

Tableau 05: Souches bactériennes.

Nom	Nombre
<i>Escherichia coli</i> (25922)	01
<i>Escherichia coli</i>	05



Figure 08: Souches conservées sur gélose nutritive inclinée.

1.3.1.5. Les antibiotiques :

Les antibiotiques testés sont sélectionnés parmi les molécules actives actuellement sur les entérobactéries et ceux qui sont utilisés le plus couramment par les vétérinaires praticiens dans le traitement des mammites (Tableau06).

Tableau 06 : Liste des antibiotiques utilisés.

Famille		Antibiotiques	Code	Charge de disque	Diamètre critique (mm)		
					S ≥	I	R ≤
β-lactamines	Pénicillines	Ampicilline	*AMP	10 µg	14	-	14
		Amoxyclav (amoxicilline+acide clavulanique)	*AMC	30µg	19	-	19
	Cephalosporines (Cephem)	Céphalotine	CEP	30 µg	18	15-17	14
Cyclines		Tétracycline	TE	30 µg	15	12-14	11
Quinolones		Ofloxacine	*OFX	5 µg	22	20-21	19
Sulfamides		Thrimethoprim-sulfamethoxazole	**SXT	25 µg	14	12-13	11

Valeur critique tirées à partir : d'Eucast, 2015*, d'Eucast 2017** et CLSI, 2015.

I.3.1.6. Matériel nécessaire pour la bactériologie :

- **Milieux de culture** :(Annexe09).
 - **Gélose**
 - ✓ Gélose Mueller-Hinton(MH)
 - ✓ Gélose biliée au vert brillant et au rouge neutre (VRBL).
 - ✓ Gélose nutritive (GN).
 - **Bouillon**
 - ✓ Bouillon nutritif
- **Verreries et appareillages** : (Annexe 10).

I. 3.2. Méthodes :

I.3.2.1.Prélèvement :

Les échantillons du miel et de la propolis ont été stockés dans des récipients en verre, à température ambiante et à l'abri de la lumière.

En revanche, la gelée royale a été stockée à une température de réfrigération dans un flacon fermé hermétiquement et recouvert d'un papier aluminium empêchant l'altération ultérieure du produit.

1.3.2.2. Recherche des coliformes thermo-tolérants dans l'échantillon du miel :

Le but de cette étape préliminaire est de sélectionner, à l'avance, l'échantillon du miel qui présente les propriétés antibactériennes fiables pour notre étude. De ce fait, pour enlever ce doute, nous avons procédé à la recherche des *E.coli* dans nos échantillons.

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

- **Les étapes**

-Deux boîtes de Pétri ont été coulées aseptiquement de VRBL et solidifiées.

-Elles ont étéensemencées, à l'aide d'une anse de platine, à partir de chaque échantillon du miel (Figure09).

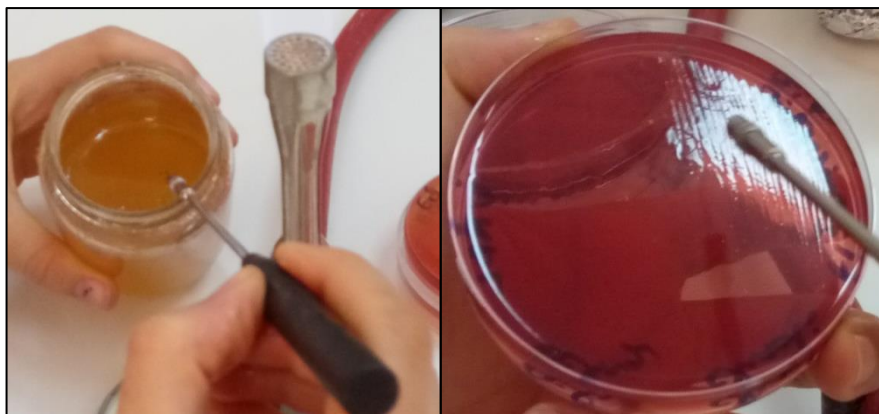


Figure 09 : Ensemencement du miel.

- Ensuite les boîtes sont incubées à 44°C, pendant 24 à 48 Heures (coliformes thermotolérants).

-La 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

1.3.2.3. 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, en 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 approprié, 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 10).

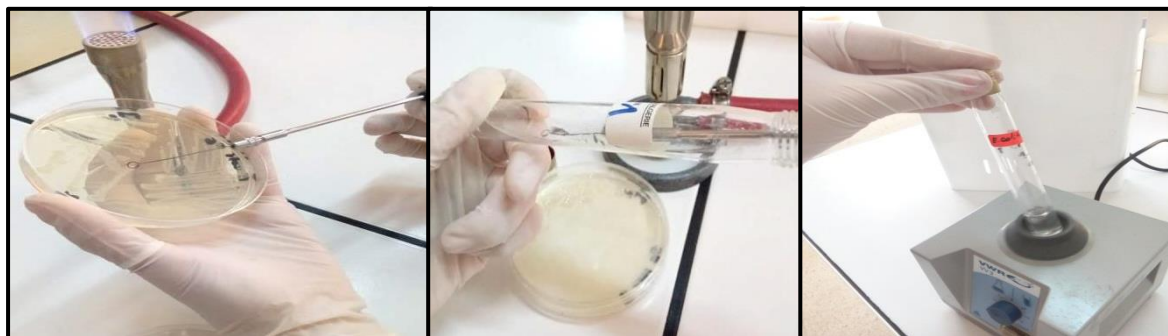


Figure 10 : Préparation de l'inoculum.

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 11).

- 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.

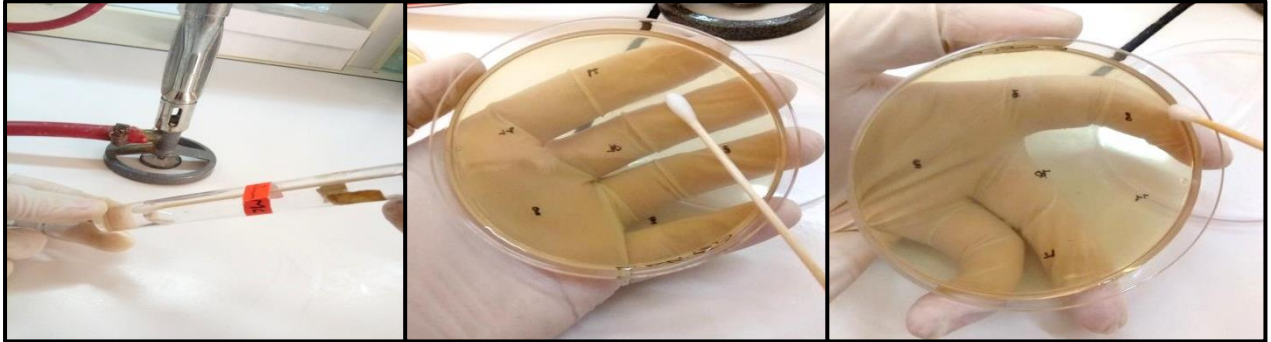


Figure 11 : Ensemencement sur gélose Muller Hinton.

c- Application des disques d'antibiotiques :

- Il est préférable de ne pas mettre plus de 6 disques d'antibiotique 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 12).

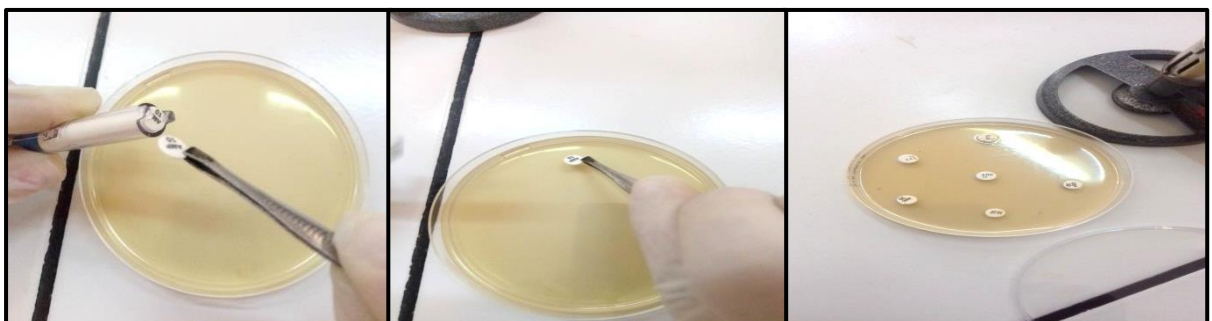


Figure 12: Application des disques d'antibiotiques.

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.

1.3.2.4. Evaluation de l'activité antibactérienne des échantillons utilisés :

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 disques ainsi que les échantillons.

a. Préparation des disques :

- Habituellement, les antibiotiques testés sont présentés sous forme de disques de 6 mm de diamètre. Par conséquent, pour les préparer, il faut respecter les mêmes conditions. Couper papier Wattman (autres papiers filtres) en disques de 6 mm.
- Les disques sont stérilisés par autoclavage pendant 20 min à 120 °C dans une boîte de Pétri en verre contenant 10 ml d'eau distillée (Figure13).



Figure 13: Préparation des disques.

✓ **Préparation des échantillons :**

1. Propolis :

• **Extraction de la propolis :**

Nous avons fait l'extraction éthanolique de la propolis ; pour un extrait à 30% de propolis :

- 3 grammes de propolis dépourvue des impuretés et coupées en petits morceaux, sont ajoutés à 9 millilitres d'éthanol pur, dans un flacon préalablement lavé, séché et stérilisé.
- Ensuite, le flacon est hermétiquement fermé et brièvement agité.
- La préparation doit être agitée une ou deux fois par jour.
- Le mélange est rangé dans un endroit sombre et frais.
- La propolis doit être laissée tremper dans l'éthanol au moins une semaine.

• **Filtration :**

- Après une semaine, la préparation est prête, elle est filtrée à travers un filtre fin et propre en tissu, de préférence plié en plusieurs couches pour accroître son efficacité (Figure 14).
- Le filtrat est un liquide, de couleur brun foncé légèrement rougeâtre, clair et ne doit pas contenir de particules (FAO, 2017).
- Par la suite, nous avons obtenu les extraits suivants : extrait éthanolique de la propolis de Batna (**EEP1**) et celui de Tiziouzou (**EEP2**).



Figure 14 : Filtration du mélange (éthanol + propolis).

- **Stérilisation du filtrat :**

Le filtrat est chauffé au bain-marie à 50° C pendant 15 minutes (Figure 15).



Figure 15 : Stérilisation du filtrat.

- Le filtrat est conservé dans des bouteilles sombres ou couvertes au papier aluminium, entreposées dans un endroit frais et sombre.

2. Les miels:

Ils sont utilisés purs ou mélangés, volume à volume, aux autres produits (à l'extrait éthanolique de la propolis de la même ruche, à la gelée royale et aux deux en même temps).

3. La gelée royale (d'origine Algérienne):

Elle est utilisée pure ou mélangée, volume à volume, aux autres produits (à l'extrait éthanolique de la propolis de la même ruche, au miel et aux deux en même temps).

Les différents échantillons ainsi que leurs synergies sont récapitulés dans le tableau suivant (Tableau 07) :

Tableau 07: les différents échantillons utilisés et leurs associations.

Les échantillons	Les différentes synergies
M1	M1+EEP1
M2	M2+EEP2
EEP1	M1+G1
EEP2	EEP1+G1
G1	EEP1+M1+G1

*EEP: Extrait éthanolique de la propolis, M : miel, G : gelée royale

b-Application des disques :

-Après homogénéisation du produit ou du mélange, 20µl de cet élément sont alors prélevés à l'aide d'une micropipette et déposés sur les disques stériles préalablement préparés (On peut faire aussi la méthode d'imprégnation (Kartal *et al.*, 2003; Gonsales *et al.*, 2006; Choi *et al.*, 2006).

-Les disques, imprégnés de produits à tester, sont saisis à l'aide d'une pince stérile et sont égouttés puis appliqués à la surface des boîtes précédemment ensemencées, en appuyant légèrement pour assurer le contact avec le milieu (Figure16).

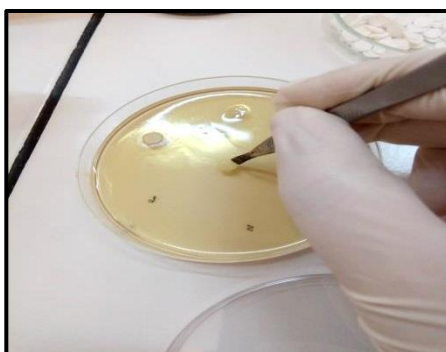


Figure 16: Application des disques des échantillons.

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 croissantes 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 (Ahmed et *al*, 2014) :**

-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^{ème} 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 ajouté 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'œil nu (turbidité).

Ces étapes sont répétées pour chaque échantillon du miel.

• **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 (Ahmed et *al*, 2014) :

-Ensemencer une boîte de gélose nutritive à partir de chaque tube qui n'a pas présenté de trouble (culture négative) pendant l'étape précédente.

-Incuber les boîtes pendant 24 heures à 37°C.

-Enfin , la dilution pour laquelle la boîte reste stérile (culture négative) est considérée comme la CMB du miel étudié

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.

Chapitre II

Résultats

II .Résultats :

II.1.Recherche des coliformes thermo-tolérants dans l'échantillon du miel :

Les résultats relatifs à cette recherche bactériologique sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau 08 : Résultats de la recherche des coliformes thermo-tolérants.

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

La recherche des coliformes thermo-tolérants a montré l'absence de ces derniers dans les deux échantillons du miel.

II.2. Résultats du test de sensibilité aux antibiotiques et à quelques produits de la ruche:

II.2.1.Sensibilité aux antibiotiques :

Les résultats relatifs au profil de sensibilité des *E.coli* aux antibiotiques testés sont rapportés dans le tableau 09 et illustrés par la figure19.

Tableau09: Pourcentage de sensibilité des *E. coli* isolées à partir des mammites cliniques vis à vis de 06 antibiotiques.

Antibiotique	Valeur critique	Sensible		Résistant		Intermédiaire	
		Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Amoxy/clav (amoxicilline+acide clavulanique)	19	3	60	2	40	0	0
Ampicilline	14	3	60	2	40	0	0
Céphalotine	15-17	1	20	1	20	3	60
Thrimethoprim-sulfamethoxazole	12-13	3	60	2	40	0	0
Ofloxacine	20-21	5	100	0	0	0	0
Tétracycline	12-14	3	60	2	40	0	0

D'après les résultats du tableau ci-dessus, la sensibilité globale des *E. coli* isolées de mammites cliniques montre que 40 % des souches présentent une résistance à l'Ampicilline, au Thrimethoprim-sulfamethoxazole, à la Tétracycline et à l'association amoxicilline+acide clavulanique.

La résistance est, également, observée pour la Céphalotine (20 %). Par ailleurs, aucune résistance n'a été notée dans le cas d'Ofloxacin.

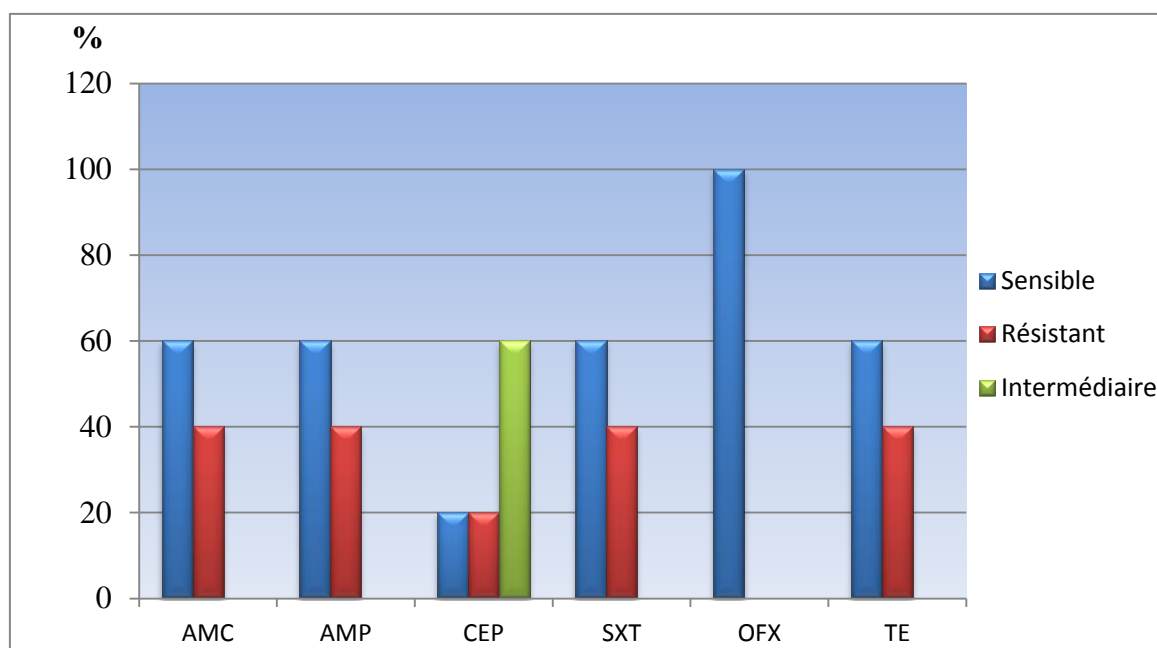


Figure 17: Pourcentage de sensibilité et de résistance des *E. coli* aux antibiotiques.

II.2.2. Comparaison de l'effet antibactérien entre des produits de la ruche :

II.2.2.1. Effet du miel et de la propolis :

a. De la même ruche :

Les résultats comparatifs entre l'effet antibactérien du miel et celui de l'extrait éthanolique de la propolis sont présentés dans les tableaux (10 et 11) et illustré par les figures 20 et 21.

- **M1+EEP1**

Tableau 10 : Effet du miel 1 et de la propolis 1 sur des souches d'*E. Coli* isolées à partir des mammites cliniques.

Souches \ Echantillons	M1	EPP1
<i>E.coli1</i>	26,00±2,83	13,00±1,41
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	9,00±1,41
<i>E.coli3</i>	11,00±1,41	10,50±0,71
<i>E.coli4</i>	22,00±1,41	7,50±0,71
<i>E.coli5</i>	22,50±0,71	8,50±0,71

*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 11.

L'analyse de la variance, des résultats obtenus dans notre essai, a indiqué un effet miel et propolis ($F = 5,678$, $P < 0.05$) significatif sur le diamètre d'inhibition.

Par la suite, la comparaison des moyennes des 2 échantillons a été faite par le test de Newman-Keuls qui les classent en 02 groupes par ordre décroissant, comme suit : M1 >EEP1.

Par conséquent, nous constatons que la meilleure inhibition sur *E.coli* a été enregistrée par l'échantillon de miel avec une inhibition maximale de 26,00±2, 83 alors que la plus faible moyenne (7,5 mm ±0.71) est allouée à l'EEP1 dans le groupe 02.

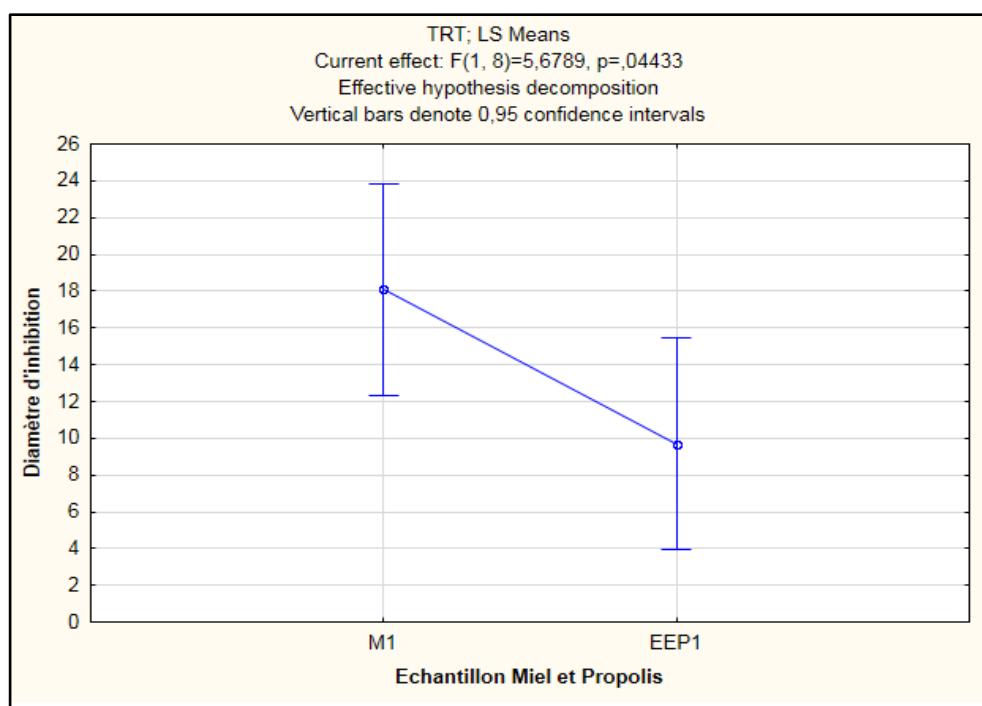


Figure 18: Diamètre d'inhibition en fonction du miel1 et de la propolis1.

- M2+P2

Tableau 11 : Effet du miel 2 et de la propolis 2 sur des souches d' *E. coli* isolées à partir des mammites cliniques.

Echantillons Souches	M2	EPP2
<i>E.coli1</i>	28,00	17,00±1,41
<i>E.coli2</i>	18,00±2,83	8,50±0,71
<i>E.coli3</i>	17,00±1,41	8,00
<i>E.coli4</i>	27,00±1,41	7,50±0,71
<i>E.coli5</i>	27,00±1,41	7,50±0,71

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

L'analyse de la variance, des résultats obtenus, a indiqué que l'effet miel et propolis ($F = 20,345$, $P < 0.05$) sur la zone d'inhibition est significatif.

Par la suite, selon le test de Newman-Keuls a mis en évidence, pour les échantillons utilisés, les groupes suivants par ordre décroissant : $M2 > P2$.

De ce fait, nous voyons qu'une excellente inhibition sur *E.coli* a été enregistrée par le miel 2 et que la plus haute moyenne est de 28 mm ±0 En revanche, la plus faible moyenne (7,5±0.71) est attribuée à la propolis dans le groupe 02.

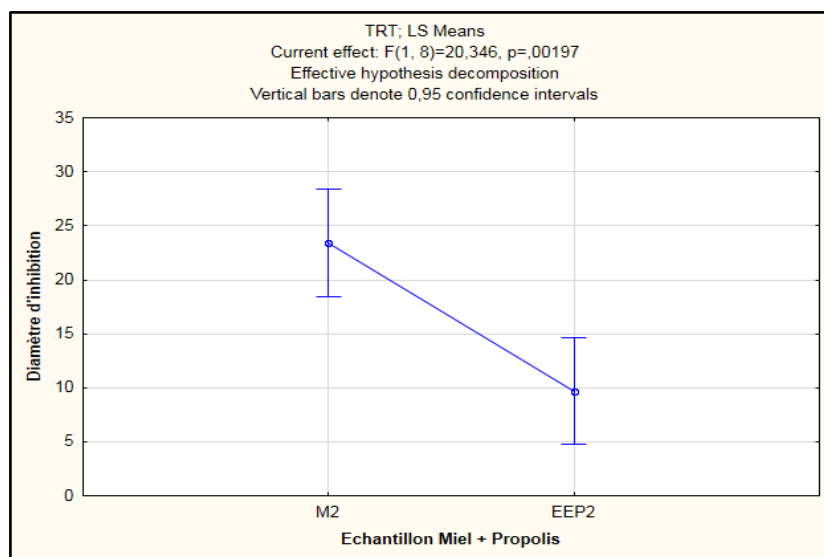


Figure 19: Effet du miel et de la propolis sur le diamètre d'inhibition.

b. De Ruches différentes :

Les résultats relatifs de la comparaison entre des échantillons du miel et de la propolis sont rapportés dans les tableaux 12 et 13.

- **M1+M2**

Tableau12 : Effet antibactérien du miel sur des *E.coli* isolée à partir des mammites cliniques.

Échantillons Souches	M1	M2
<i>E.coli1</i>	26,00±2,83	28,00
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	18,00±2,83
<i>E.coli3</i>	11,00±1,41	17,00±1,41
<i>E.coli4</i>	22,00±1,41	27,00±1,41
<i>E.coli5</i>	22,50±0,71	27,00±1,41

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

L'analyse de la variance, des résultats obtenus, montre que l'effet miel ($F = 1,75$, $P > 0,05$) sur la zone d'inhibition est non significatif.

Ce résultat trouve sa confirmation dans le test de Newman-Keuls qui révèle la même chose pour cette variable.

En fait, ceci témoigne que le miel 1 et le miel 2, de deux origines différentes, ont approximativement le même effet antibactérien vis-à-vis d' *E.coli*.

- **P1+P2**

Tableau13 : Effet antibactérien de la propolis sur des souches d' *E.coli* isolées à partir des mammites cliniques.

Echantillons Souches	EEP1	EEP2
<i>E.coli1</i>	13,00±1,41	17,00±1,41
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	8,50±0,71
<i>E.coli3</i>	10,50±0,71	8,00
<i>E.coli4</i>	7,50±0,71	7,50±0,71
<i>E.coli5</i>	8,50±0,71	7,50±0,71

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

L'analyse de la variance a démontré que l'effet propolis ($F = 1.6871$, $P > 0.05$) est non significatif. Ce résultat trouve sa certitude dans le test de Newman-Keuls qui révèle la même chose pour cette variable.

De ce fait, il classe les propolis utilisées dans un même groupe (Elles ont presque le même effet), portant elles ont une provenance différente.

II.2.2.2. Effet du miel, de la propolis et de la synergie :

Les résultats relatifs de l'étude comparative entre l'effet du miel, de la propolis et de leurs synergies sont rapportés dans les tableaux suivant :

- **M1, EEP1 et EEP1+M1**

Tableau14 : Comparaison entre M1, EEP1 et de l'effet synergique vis-à-vis des souches d'*E.coli*

Echantillons Souches	M1	EEP1	EEP1+M1
<i>E.coli1</i>	26,00±2,83	13,00±1,41	18,00±2,83
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	9,00±1,41	10,50±0,71
<i>E.coli3</i>	11,00±1,41	10,50±0,71	11,00±1,41
<i>E.coli4</i>	22,00±1,41	7,50±0,71	16,50±0,71
<i>E.coli5</i>	22,50±0,71	8,50±0,71	19,00±1,41

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

Lors de la comparaison des échantillons, l'anova a indiqué une différence significative entre l'effet d'EEP1 et d'EEP1+M1 ($F=6,86$, $p<0,05$), mais pas entre celui de M1 et d'EEP1+M1 ($F=0,65$, $p>0,05$).

De ce fait, le test de Newman-Keuls a montré les groupes suivants par ordre croissant : $EEP1 < EEP1+M1$.

Ceci signifie que l'activité antibactérienne de l'EEP1 vis-à-vis d'*E.coli* est plus faible par rapport au 2^{ème} groupe composé d'EEP1+M1. On revanche, Le miel et sa synergie partage presque le même effet (Figure22).

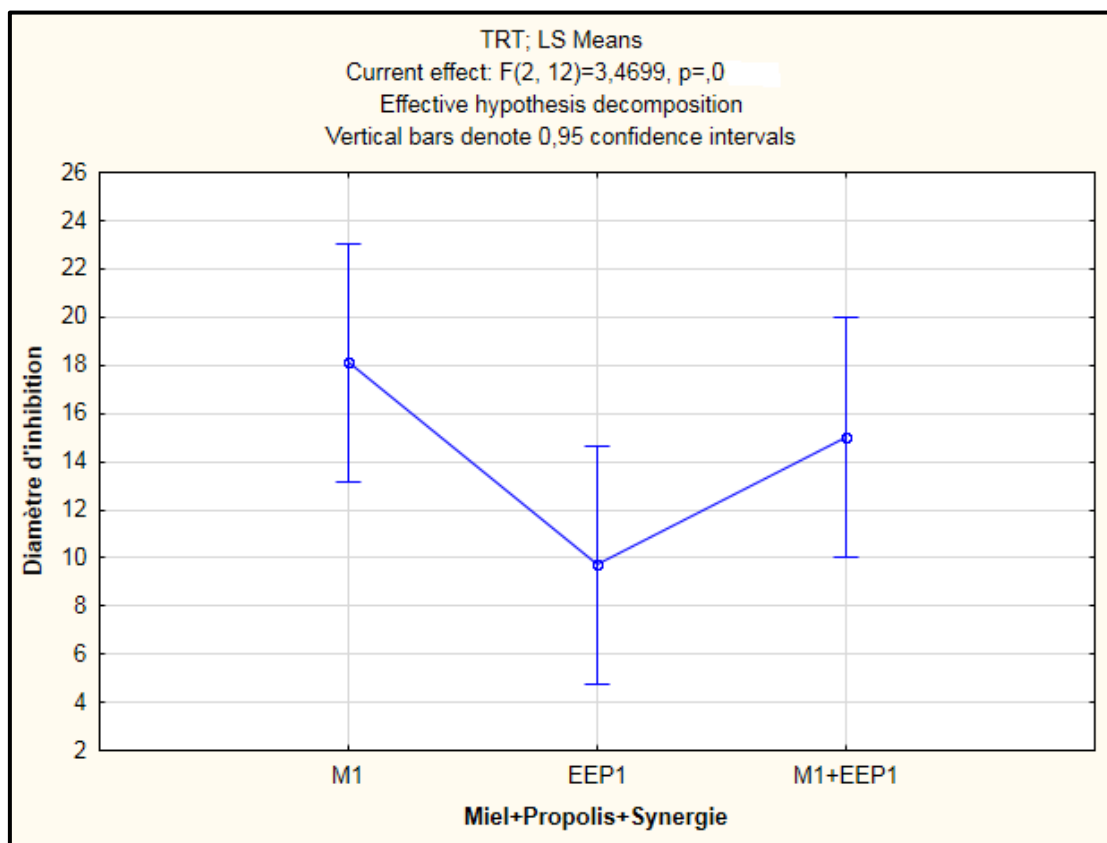


Figure20: Zone d'inhibition en fonction du miel1, de la propolis1 et de la synergie.

- **M2, EEP2 et EEP2+M2**

Tableau15 : Comparaison entre M2, EEP2 et de l'effet synergique vis-à-vis des souches d'*E.coli*

Echantillons Souches	M2	EEP2	EEP2+M2
<i>E.coli1</i>	28,00	17,00±1,41	24,50±0,71
<i>E.coli2</i>	18,00±2,83	8,50±0,71	12,00
<i>E.coli3</i>	17,00±1,41	8,00	9,00
<i>E.coli4</i>	27,00±1,41	7,50±0,71	20,00±1,41
<i>E.coli5</i>	27,00±1,41	7,50±0,71	21,00±1,41

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

L'effet miel, propolis et synergie est significativement différent sur la zone d'inhibition lorsqu'on a utilisé une analyse Anova ($F=7,978$, $P<0,05$).

Le test post hoc de Newman-Keul a mis en évidence, pour les échantillons utilisés ainsi que pour leur synergie, les groupes suivants par ordre décroissant : M2, EEP2+M2>EEP1.

De ce fait, la différence de l'effet antibactérien est statiquement significative entre le groupe composé de M 2 et l'EEP2+M2 et celui de l'EEP2 .Ceci veut dire que cette bactérie est plus

sensible au miel et à la synergie ; et qu'ils partagent à peu près le même effet ; que l'extrait éthanolique de la propolis (Figure23).

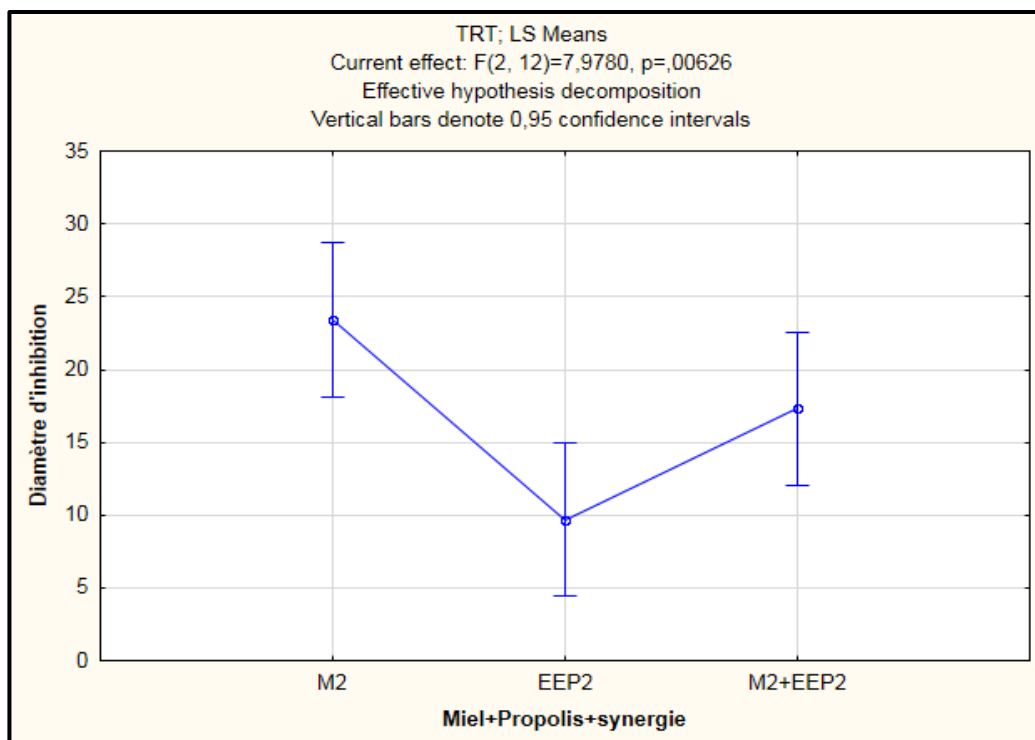


Figure 21: Diamètre d'inhibition en fonction du miel2, de la propolis2 et de la synergie.

II.2.2.3. L'activité antibactérienne du miel, de la propolis et de la gelée royale :

Les résultats de l'effet antibactérien des échantillons utilisés sur des souches d'*E.coli*, isolées à partir de mammites cliniques, sont regroupés dans le tableau 16 et 17.

- **M1, EEP1 et GR1**

Tableau 16 : Comparaison entre l'effet du miel1, de la propolis1 et de la gelée royale vis-à-vis des souches d'*E.coli*.

Echantillons	M1	EEP1	G1
<i>E.coli1</i>	26,00±2,83	13,00±1,41	11,00±1,41
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	9,00±1,41	7,00±1,41
<i>E.coli3</i>	11,00±1,41	10,50±0,71	8,50±0,71
<i>E.coli4</i>	22,00±1,41	7,50±0,71	8,50±0,71
<i>E.coli5</i>	22,50±0,71	8,50±0,71	7,00±1,41

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

Lors de l'étude comparative, l'analyse de la variance a indiqué une différence significative entre l'effet du miel, de la propolis et de la gelée royale ($F=6,41$, $P<0,05$) sur le diamètre d'inhibition.

De même, le test de Newman-Keuls a montré une différence significative entre le groupe composé de M1 et celui d'EEP1, G1 ($M1>EEP1$, G1).

Cela explique que l'effet de la gelée royale et de la propolis est inférieur à celui du miel. Ce dernier garde toujours l'activité antibactérienne la plus puissante sur *E.coli* avec un diamètre d'inhibition maximale de $26 \pm 2,83$ (Figure 24).

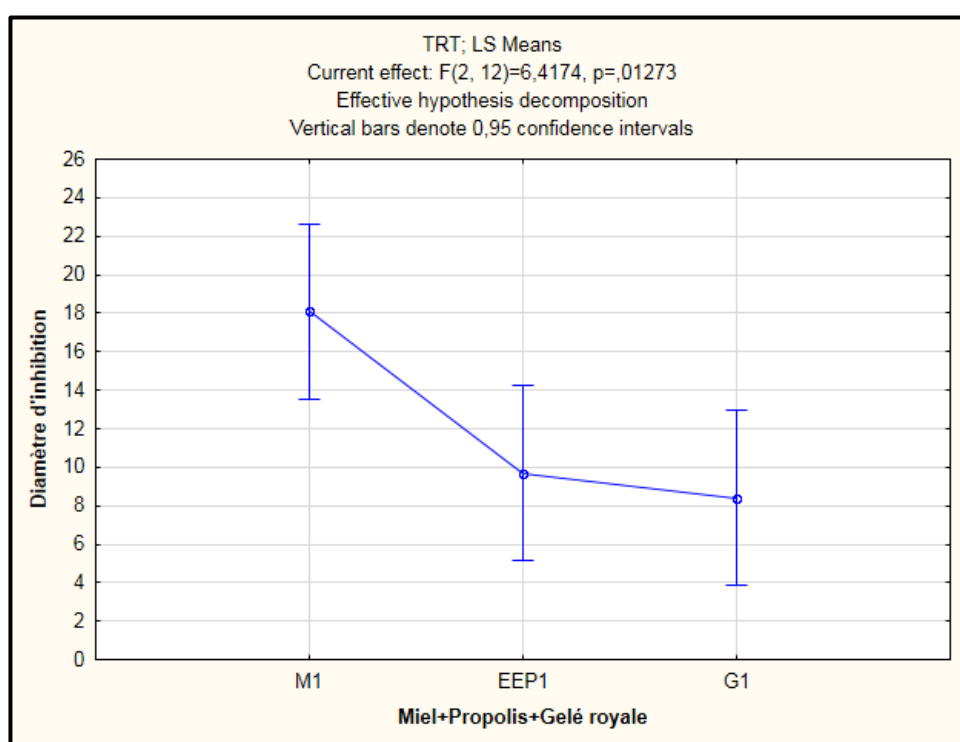


Figure 22 : Diamètre d'inhibition en fonction du miel, de la Propolis et de la Gelée royale.

- **G1, M1, EEP1 et leurs synergies :**

Tableau 17: Comparaison entre l'effet du miel, de la propolis et de la gelée royale et leurs synergies vis-à-vis des souches d'*E.coli*.

Echan Souches	M1	EEP1	G1	M1+G1	EEP1+G1	G1+EEP1+M1
<i>E.coli1</i>	26,00±2,83	13,00±1,41	11,00±1,41	22,00±2,83	11,00±1,41	21,00±1,41
<i>E.coli2</i>	9,00±1,41	9,00±1,41	7,00±1,41	19,50±0,71	7,50±2,12	15,00±1,41
<i>E.coli3</i>	11,00±1,41	10,50±0,71	8,50±0,71	8,00	8,50±2,12	12,50±0,71
<i>E.coli4</i>	22,00±1,41	7,50±0,71	8,50±0,71	10,50±0,71	10,00±1,41	10,50±0,71
<i>E.coli5</i>	22,50±0,71	8,50±0,71	7,00±1,41	10,00±1,41	8,50±0,71	15,50±0,71

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

Lors de la comparaison, l'anova a indiqué une différence significative ($F=3,44, P>0,05$) entre le miel 1, la propolis 1, la gelée royale 1 et leurs synergies sur le diamètre d'inhibition.

A cet effet, le test de Newman-Keuls a montré que la différence d'inhibition est statistiquement significative entre le groupe composé de M1, M1+EEP1, M1+G1, M1+G1+EEP1 et celui d'EEP1, G1 et EEP1+G1 et que l'ordre des groupes est dans le sens décroissant (groupe 01 > groupe 02) (figure 25).

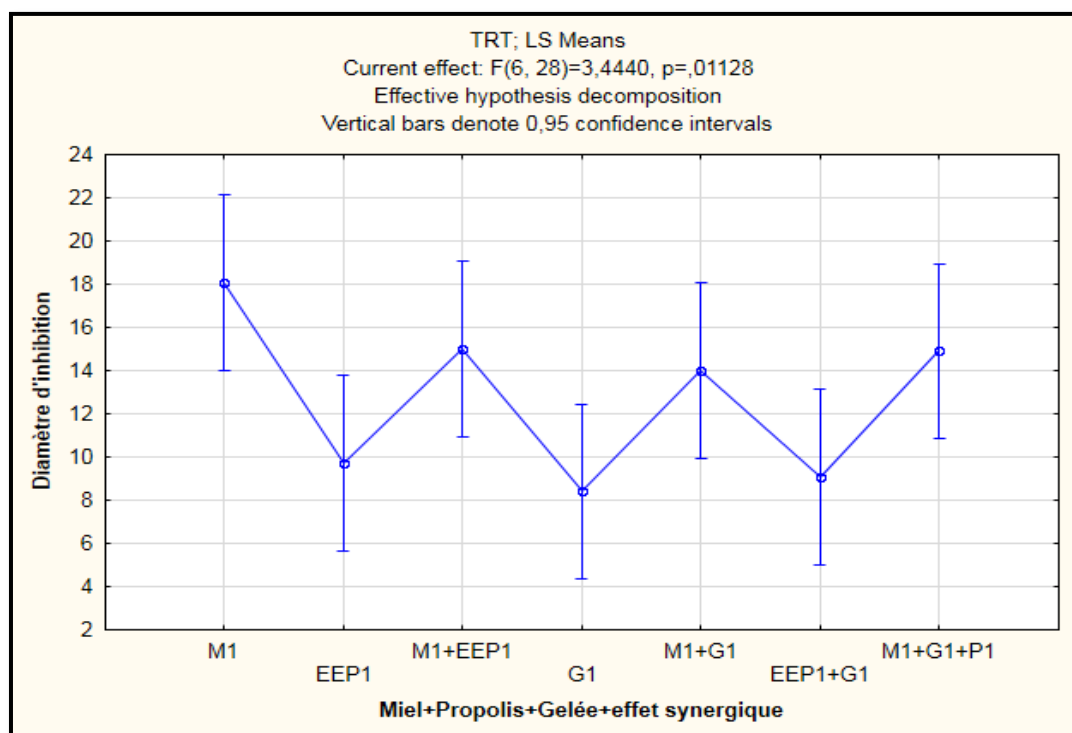


Figure 23: Diamètre d'inhibition en fonction de quelques produits de la ruche et de leurs synergies.

- **G1 et GF :**

Tableau 18 : effet gelée royale sur des souches d'*E.coli* isolées à partir des mammites cliniques

Echantillons Souches	GF	G1
<i>E.coli1</i>	14,00	11,00±1,41
<i>E.coli2</i>	9,50±0,71	7,00±1,41
<i>E.coli3</i>	10,00	8,50±0,71
<i>E.coli4</i>	9,00±1,41	8,50±0,71
<i>E.coli5</i>	9,50±0,71	7,00±1,41

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

L'analyse de la variance a montré que l'effet Gelée royale ($F = 2,91$, $P > 0,05$) est non significatif sur la zone d'inhibition. Ce résultat retrouve sa certitude dans le test de Newman-Keuls qui révèle la même chose pour cette variable

De ce fait, la gelée royale d'origine française partage le même effet antibactérien avec celle d'origine algérienne vis-à-vis d'*E.coli*, avec un diamètre d'inhibition maximale de 14 ± 0 .

II.2.2.4. La comparaison entre l'effet du miel et de l'antibiotique :

La comparaison des antibiotiques a été faite par rapport au produit de la ruche le plus efficace qui s'est avéré le miel 2 (le choix de l'échantillon ici est en fonction du son classement selon le test de Newma-Keuls et les diamètres d'inhibition enregistrés). Les résultats sont rapportés dans la courbe suivante :

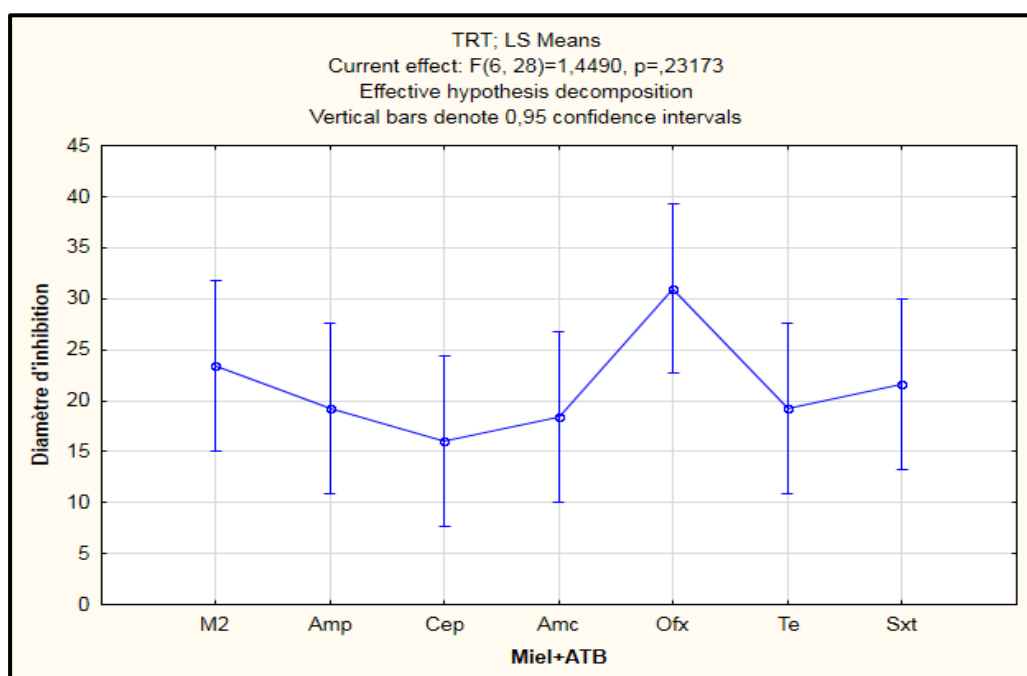


Figure 24: Diamètre d'inhibition en fonction du miel et de l'ATB.

D'après La courbe ci-dessus, elle indique que l'inhibition du miel numéro 02 à l'état pur, avec sa moyenne maximale $28 \text{ mm} \pm 0$, semble être très proche à tous les antibiotiques mentionnés sur la courbe (Pas de différence significative, selon l'Anova, $p > 0,05$).

A l'issu de cette étude comparative des moyennes, Le test de Newman et Keuls classe ces antibiotiques avec l'effet du miel en 1 seule groupe par ordre décroissant, comme suit :

OF , M2 , Sxt, Te, Amp, Amc, Cep.

Ceci montre que le miel a une petite faveur par rapport aux 05 antibiotiques précédemment cités, donc, il peut constituer une alternative thérapeutique.

II.3. Détermination de la CMI et la CMB:

Nous avons choisi le produit de la ruche le plus efficace, qui s'est révélé le miel.

De ce fait, les résultats relatifs à la CMI et à la CMB des différents échantillons du miel ont été mentionnés dans les tableaux suivants :

Tableau 19: Détermination de la CMI des miels pour *Escherichia coli* 01 et 02.

Souches	Miels	Dilutions								CMI (%)
		Net	1/2	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	
<i>E.coli</i> 1	M 1	-	-	-	+	+	+	+	+	≤25
	M 2	-	-	-	-	+	+	+	+	≤12,5
<i>E.coli</i> 2	M 1	-	+	+	+	+	+	+	+	≤net
	M 2	-	-	+	+	+	+	+	+	≤50

Il en ressort que les 2 miels testés présentent une activité bactériostatique sur *E.coli*.

De même, nous constatons que la concentration minimale inhibitrice varie en fonction des échantillons du miel et des souches (25%, 12,5%, Net et 50%).

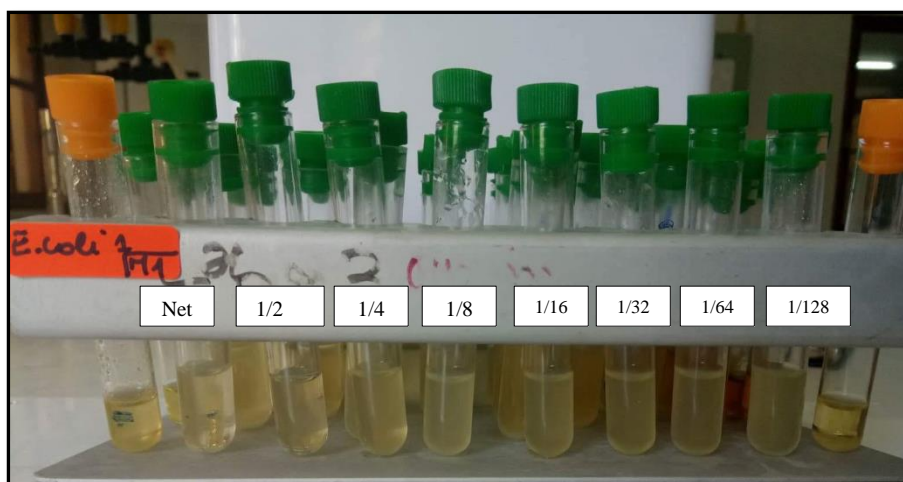


Figure 25 : CMI du miel 1 pour *E.coli*1.

Tableau 20: Détermination de la CMB des miels pour *Escherichia coli* 01 et 02.

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

Ces résultats, nous ont permis de constater que l'activité bactéricide varie en fonction des échantillons du miel et des souches d'*E.coli* (Net et 50%) et que le miel à l'état pur reste le meilleur choix pour cette activité.

Chapitre III

Discussion

III. Discussion :

Les mammites cliniques restent une pathologie dominante sévissant dans les élevages laitiers en Algérie et représentent, d'après plusieurs auteurs, l'ennemi numéro un de l'industrie de la production laitière.

Par conséquent, elles font l'objet d'une consommation importante d'antibiotiques pour leurs traitements mais aussi pour leurs préventions (Angoujard, 2015). Cet usage élevé a joué un grand rôle dans le développement de l'antibiorésistance bactérienne. C'est pour cette raison que la recherche de nouvelles molécules plus efficaces et sans effet secondaire s'impose et on s'oriente vers les molécules naturelles (Nedji, 2015).

Les produits de la ruche sont très appréciés pour leur activité antibactérienne (Tan *et al.*, 2009). Ils ont attiré beaucoup d'attention, ces dernières années, comme ingrédients utiles appliqués dans la médecine alternative.

De ce fait, La puissante activité *in vitro* du miel contre les bactéries résistantes aux antibiotiques et les résultats prometteurs obtenus lors de l'application du miel sur des plaies (Simon *et al.*, 2009) ont fait l'objet de plusieurs recherches qui ont tenté de caractériser les pouvoirs bactéricides et bactériostatiques du miel (Mandal *et al.*, 2010; DebMandal et Mandal, 2011; Kačániová *et al.*, 2011; Alvarez-Suarez *et al.*, 2013). Ainsi, la propolis et la gelée royale comptent parmi les produits naturels les plus convoités, en raison de leurs propriétés inhibitrices et thérapeutiques (Kim et Chung, 2011; Silva *et al.*, 2012).

Devant ce constat, la connaissance des germes responsables et l'effet des produits de la ruche ainsi que celui des antibiotiques sur ces derniers, présentent un grand intérêt pour construire une nouvelle stratégie de lutte.

Les résultats de la présente étude seront discutés par partie :

En fait, pour l'étude de la sensibilité aux antibiotiques, *E. coli* a acquis des résistances à de nombreuses molécules, en particulier à l'Ampicilline, à la Tétracycline, au Triméthoprim-sulfaméthoxazole et à l'association amoxicilline+acide clavulanique. La résistance est, également, observée pour la Céphalotine.

Les résultats de ce dernier sont inférieurs à ceux obtenus par Gay *et al.*, (2010) qui rapportent une fréquence de résistance de 32 % au Céphalotine. Par contre, ils sont supérieurs à ceux rapportés par Botrel *et al.*, (2010) qui obtiennent des taux de résistances de 0.7 %.

En parallèle, nos résultats sont différents de ceux rapportés par Nam *et al.*, (2009) qui obtiennent une sensibilité de 100%.

Par ailleurs, les résultats de la Tétracycline, de l'Ampicilline et du Triméthoprim-sulfaméthoxazole sont supérieurs par rapport à ceux obtenus par Fairbrother et *al.*, (2010) qui obtiennent des taux de résistances de 30 % ,26% et 10% respectivement.

Les résultats de l'association amoxicilline+acide clavulanique sont égaux à ceux obtenus par Nam et *al.*, (2009) qui ont enregistré des taux de résistances de 40 % . Par contre, ils sont supérieurs à ceux rapportés par Botrel et *al.*, (2010) qui obtiennent des taux de résistances de 0.8 %,et ils sont inférieurs à ceux obtenus par Gay et *al.*, (2010) qui rapportent une fréquence de résistance de 59 %.

Le pourcentage de résistance, obtenu dans notre étude, vis-à-vis de l'Ampicilline, de l'amoxicilline+acide clavulanique, de la Tétracycline , est dû à l'utilisation abusive et à leur large disponibilité sur le marché (Kadja et *al.* , 2013).

Les résistances de cette bactérie à l'Ampicilline et à l'association Amoxicilline+Acide clavulanique auront pour explication une capacité d'hyperproduction des Béta-lactamases par ces bactéries (Sedrati ,2014).

Cependant, aucune résistance n'a été notée (100 % de sensibilité) vis-à-vis de l'Ofloxacine. Les résultats de l'Ofloxacine sont semblables à ceux obtenus par Ohnishi et *al.*, (2011) ainsi qu' à ceux rapportés par Fairbrother en 2011 et 2014. Cette sensibilité, selon Nam et *al.*, (2009), est liée à la rareté de leurs utilisations dans le traitement des pathologies mammaires vu leur cherté.

Pour l'effet anti bactérien de nos produits de la ruche choisis vis-à-vis d'*E.coli*. Les résultats ont montré que les échantillons de miel et de la propolis ont présenté une activité antibactérienne contre toutes les bactéries examinées , avec une activité antimicrobienne plus prononcée du miel.

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 (Pacias 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, valeur du pH, le plus souvent faible, inhibe la multiplication de la bactérie (Torres et *al.*, 2004 ; Couquet, 2013). En outre, Le peroxyde d'hydrogène est considéré comme la principale inhibitive du miel (Mandel *et al.*, 2011).

En plus, Patrick *et al.*, (2012) et Viuda-Martos *et al.*, (2008) pensent 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, 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 (Tegos *et al.*, 2002; Donadieu, 2008; 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 Les échantillons de miel utilisés dans notre étude (Batna et Tizi ouzou) présentent une activité antimicrobienne très rapprochée, malgré leurs provenances différentes (statistiquement font partie du même groupe) et elle est très élevée.

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

La diversité florale mellifère riche des deux régions semble jouer un rôle important dans les teneurs des composés phénoliques, influençant ainsi l'activité antimicrobienne de ces deux échantillons (Gülçin *et al.*, 2010 ;Khalil *et al.*, 2011; Cimpoi *et al.*, 2012).

Selon Jing *et al.*, (2014) et Akca *et al.*, (2016) et Onyeka *et al.*, (2018), d'autres facteurs, en grande partie l'espèce de l'abeille, la méthode de récolte, de traitement et de 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.

Pour les échantillons de la propolis, Nous avons enregistré les mêmes constatations que le miel, malgré leurs origines différentes.

Les résultats obtenus par Seidel *et al.*, (2008) et Neto *et al.*, (2017) sont, également, différents des nôtres et ont donné des différences d'efficacité des propolis utilisées vis à vis des souches testées.

La conjointure des deux produits a donné des effets synergiques ou même juste a augmenté la susceptibilité des isolats bactériens à la propolis, cela veut dire que le miel a amélioré l'effet de la propolis. Par contre, l'effet du miel seul était meilleur que celui du mélange miel- propolis.

Néanmoins, Kowalski et Makarewicz, (2017) ont trouvé que le mélange miel propolis a une activité plus accentuée sur les souches d' *E.coli* pathogènes que le miel seul .

Ils ont prouvé que le mélange miel –propolis contient une quantité supérieure de composés phénoliques doués de propriétés antibactériennes, plus importante que la quantité contenue dans le miel à part.

En revanche, lorsque le miel est combiné à la propolis,, cela a amélioré son effet. Il est possible qu'une telle action synergique résulte (Noori *et al.*, 2012) de l'effet du peroxyde d'hydrogène (H₂O₂) du miel qui est un facteur antimicrobien prédominant (Onyeka *et al.*, 2018).L ' H₂O₂ pourrait favoriser l'oxydation des composés phénoliques de la propolis. Les produits de cette réaction peuvent exercer une activité antibactérienne encore plus forte (Ramos *et al.*, 2006).

Arrivant à la gelée royale, nos résultats ont montré que les miels ont affecté les bactéries d'une façon plus claire que celle due à la gelée royale et à la propolis.

Contrairement à nos résultats, Boukraa (2008) a montré que la gelée royale a un effet antimicrobien supérieur de celui du miel.

De même , Attalla *et al.*, (2007) ont trouvé que la gelée royale est moins active comparée à la propolis sur les *E.coli*. D'après l'auteur , ceci peut être attribué à la concentration d'origine (environ 65% de teneur en eau).

Par rapport à nos resultats , L'effet faible de la gelée royale, en le comparant au miel , peut être lié ,d'un côté ,aux composants impliqués dans l'activité antimicrobienne de la gelée royale qui est principalement un peptide nommé la Royalisine qui possède un effet antibactérien contre les bactéries à gram positif (Boukraa, 2008).

Les mêmes constatations ont été rapportées par Moselhy *et al.*, (2013) et Fratini *et al.*, (2016) qui ont prouvé que la gelée royale est plus efficace sur les bactéries à Gram positifs que sur les bactéries à Gram négatifs.

D'un autre côté, Les conditions de stockage pour l'emploi de la gelée royale est un point critique pour maintenir inchangées ses propriétés ; elle est sensible à la lumière et à la chaleur et subit une oxydation en contact direct avec de l'air (Kheyri et al., 2012 ; Zhang et al., 2012 ; Buttstedt et al., 2013).

La gelée royale est un produit fragile et rapidement altérable, Attalla et al., (2007) démontre que l'efficacité de la gelée royale sur les germes varie en fonction de la période de collecte ; l'effet augmente avec les produit récemment collectés .

Concernant les conditions de conservations de notre gelée royale sont moins connues jusqu'à l'obtention et le stockage à notre niveau.

Par ailleurs, les résultats obtenus de la synergie montrent qu'il y'a amélioration de l'effet de la gelée royale après ajout du miel .Par contre, la gelée royale n'a pas intensifié l'effet du miel.

Selon Dinkov,(2017) le mélange de la gelée royale et du miel possède un effet antibactérien supérieur par rapport à celui de l'utilisation indépendante du miel.

Dinko Dinkov et Todor Stoyanchev ,(2014) dans une étude de la synergie entre miel et gelée royale, ont constaté que le mélange miel- gelée royale a un effet supérieur à celui de chacun seul et ils ont expliqué ceci à partir des données qui ont montré que les protéines avec haute affinité de liaison pour les polyphénols du miel sont ceux de la gelée royale contenant La proline (Siebert, 2006), et à partir de cela se forme des liaisons hydrogènes entre les groupes hydroxyles de composés phénoliques et les peptides (Hategekimana et al., 2011), induisant la formation de polyphénolprotéines insolubles ,à forte activité inhibitrice (Melliou et Chinou,2005).

Pour l'effet synergique de la gelée royale et de la propolis, nos résultats ont montré que cette association n'améliore pas leur effet initial. L'explication du phénomène a été faite en se basant sur les données précédentes.

La propolis est faiblement efficace et même inefficace sur les bactéries à gram négatifs (Ghasemi et al., 2017) et cela est dû à la pénétration bloquée des constituants de la propolis dans la cellule bactérienne, en raison de l'efflux pompes présentes dans la membrane plasmique de la Bactérie à Gram négatifs (Rahman et al .,2010).

De même , Parmi les composants les plus actifs qui sont impliqués dans l'activité antimicrobienne de la gelée royale sont les peptides nommés la Royalisine qui possèdent un effet antibactérien contre les bactéries à gram positif (Boukraa, 2008).

Selon Shen *et al.*, (2010), la gelée royale a donné des résultats très peu significatifs sur les bactéries à gram négative .

Au vu de tout ça, les deux produits n'ont pas pu interagir pour intensifier leur activités antibactériennes sur les souches testées.

Par ailleurs, la comparaison, entre l'effet antibactérien de la gelée royale algérienne et française, a montré qu'il n'y a pas de différence entre l'effet des deux échantillons, malgré qu'ils proviennent de deux endroits différents, on suppose que ses résultats reviennent à la sécrétion de ce produit par les glandes hypopharyngiennes et les glandes mandibulaires des abeilles nourricières (Jean-Prost, 2005), dont la composition ne varie pas en fonction des produits collectés de la nature comme le miel et la propolis.

L'abeille algérienne appartenant est représentée par *Apis mellifera intermissa*. La race *intermissa* est la plus répandue et son aire de répartition s'étend sur toute la méditerranée (y compris la France) (Barour *et al.*, 2011; Loucif-Ayad *et al.*, 2014).

En ce qui concerne la comparaison entre l'effet de l'antibiotique et du miel, ce dernier présente des effets proches de ceux des antibiotiques, ce qui était démontré par Merah *et al.*, (2010) qui a 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 suivants :

La composition du miel riche en glucose et pauvre en eau libre disponible pour le développement des microorganismes. Le miel agit donc de manière osmotique, en provoquant une forte déshydratation des germes qui n'ont plus alors suffisamment d'eau pour survivre (Couquet *et al.*, 2013)

Les flavonoïdes présentent également une action antibactérienne. Le mécanisme d'action implique la dégradation de la membrane cytoplasmique de la bactérie, qui conduit à une perte d'ions potassium et les dommages provoqués aboutissent à l'autolyse cellulaire (Cushnie et Lamb (2005).

Le pH du miel est compris entre 3 et 6 ; il est donc suffisamment acide pour ralentir ou inhiber le développement de nombreux microorganismes pathogènes. De ce fait, il renforce les propriétés antibactériennes du miel (Lequet, 2010 ; Ibrahim *et al.*, 2012).

Des quantités élevées de H₂O₂ augmentent l'activité oxydative et font la formation des produits qui causent des dommages à la membrane bactérienne ainsi que les protéines et les acides nucléiques (Faustino et Pinheiro, 2015).

Il faut noter que les mécanismes d'actions précis du miel contre les pathogènes microbiens ne sont pas encore complètement compris. Cependant, les progrès récents dans les techniques de protéomique et de génomique ont permis l'identification de certaines cibles cellulaires pour le miel.

Nos résultats obtenus de la CMI (25%,12.5%, Net et 50%) et CMB (Net, 50%) pour *Escherichia coli* ont montré que ceux-ci varient en fonction des échantillons de miel et des souches

Nos résultats sont différents, comparés à ceux rapportés par Omayya et Akharaiyi, (2010) qui ont trouvé une CMI de 5%.

La même chose enregistre avec Bourabah *et al.*, (2014) qui ont obtenu une activité accentuée sur les souches testées avec des CMI de 11-13%, par apport à nos résultats.

Osho et Bello, (2010) ont obtenu des résultats similaires à nos résultats avec une inhibition de 25% et 100%.

Nos résultats sont supérieurs à ceux obtenus par Mandal *et al.*,(2010) qui ont donné des CMB (17,5%. 25%).

Dans notre cas le miel à l'état pur reste le meilleur choix pour détruire complètement les souches qualifiées de résistantes.

C*onclusion*

Et perspectives

Conclusion et perspective

L'émergence des souches microbiennes multi-antibio-résistantes ; un phénomène qui a apparu avec l'invention et l'utilisation abusive des antibiotiques, notamment dans le cas des mammites bovines. Ceci constitue un défi aux chercheurs qui multiplient leurs efforts pour trouver des solutions à ce phénomène qui menace la santé humaine et animale.

La présente étude étant la première contribution à l'évaluation de l'activité antibactérienne de quelques produits de la ruche vis-à-vis des souches *d'E.coli* isolées à partir de mammites cliniques bovines et de la comparer par rapport aux antibiotiques testés.

En fait, l'étude de la sensibilité, *in vitro*, des *Escherichia coli* a révélé une résistance remarquable pour les pénicillines, les cyclines et les sulfamides.

Par ailleurs, cette étude a pu fournir des données récentes sur le miel, la propolis et la gelée royale d'origine algérienne et celle d'origine française, qui ont montré un effet antibactérien en regard des souches testées, qui sont pathogènes.

On a démontré également que le miel est plus efficace que la propolis et la gelée royale et que leurs synergies avec le miel a augmenté considérablement leurs effets sur *E.coli*.

De ce fait, La combinaison des produits de la ruche pourrait mener au développement de nouveaux agents antimicrobiens à large spectre avec un potentiel d'empêcher l'émergence de souches bactériennes résistantes.

Ces résultats demeurent prometteurs et pourraient servir de base pour des études cliniques ultérieures afin de confirmer l'efficacité antibactérienne de ces produit naturel et de proposer leur utilisation en tant qu'agent antibactérien alternatif effectif, palliant aux effets secondaires des antibiotiques et aux résistances bactériennes accrues.

En perspective, nos résultats obtenus restent préliminaires et méritent d'être exploités et complétés. Pour cela, on compte faire :

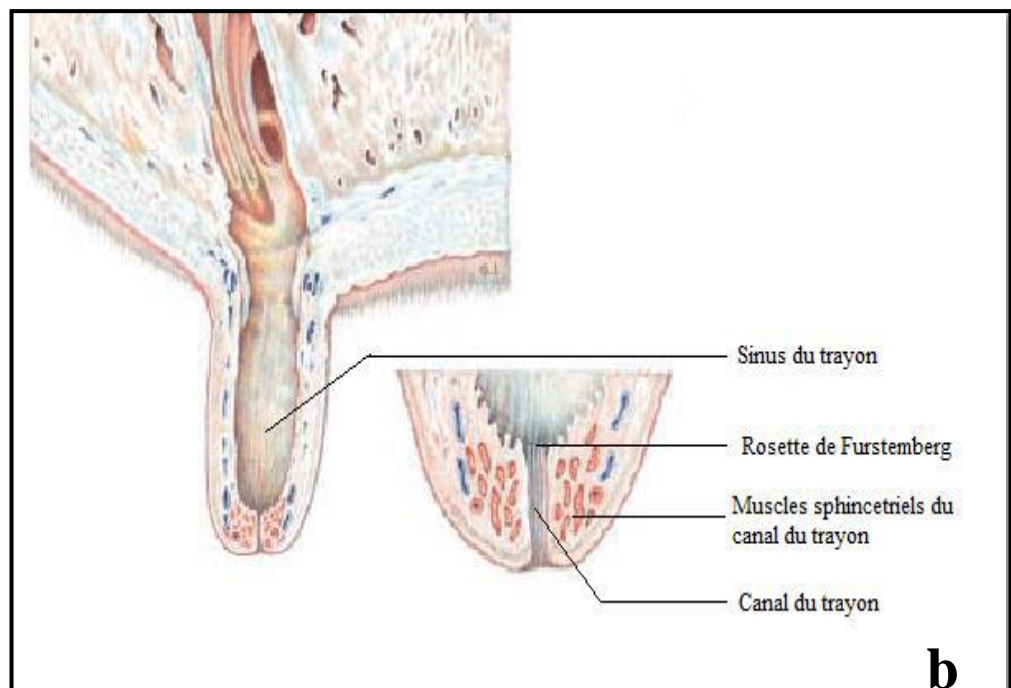
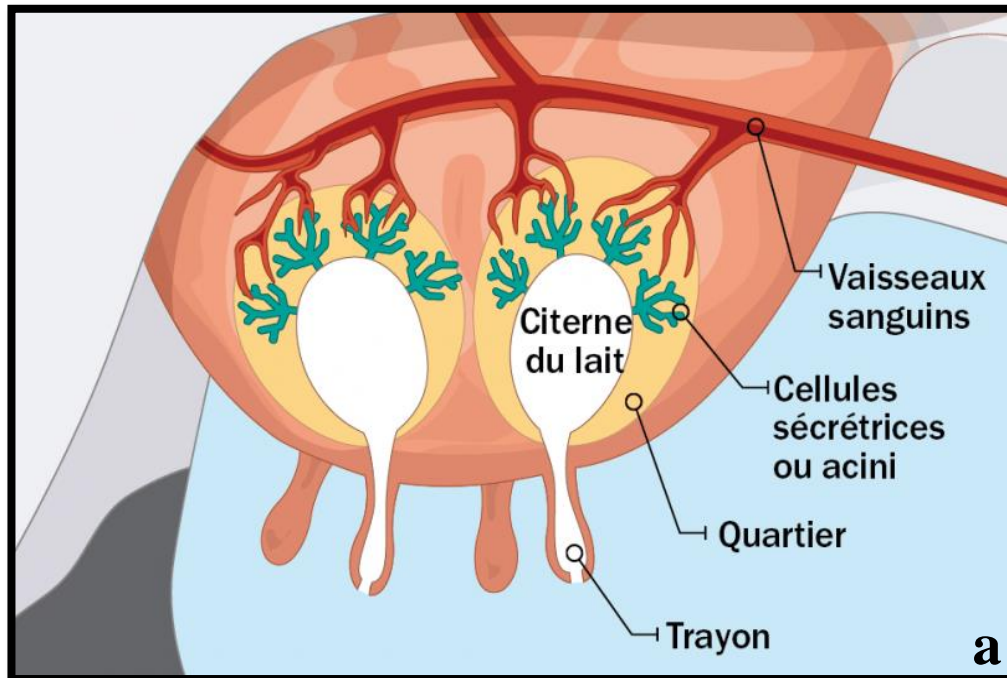
- étude comparative des produits de la ruche en fonction de leurs compositions chimiques pour faire l'extraction des molécules les plus actives sur les isolats cliniques ;
- un essai sur des cas cliniques afin d'évaluer l'efficacité réelle de ces agents antibactériens d'origine naturelle.

A*nnexes*

Annexe

Annexe 01 : a : anatomie de la mamelle (Dico du lait, 2017).

b : Anatomie du trayon (coupe longitudinale) (Budras, 2003).

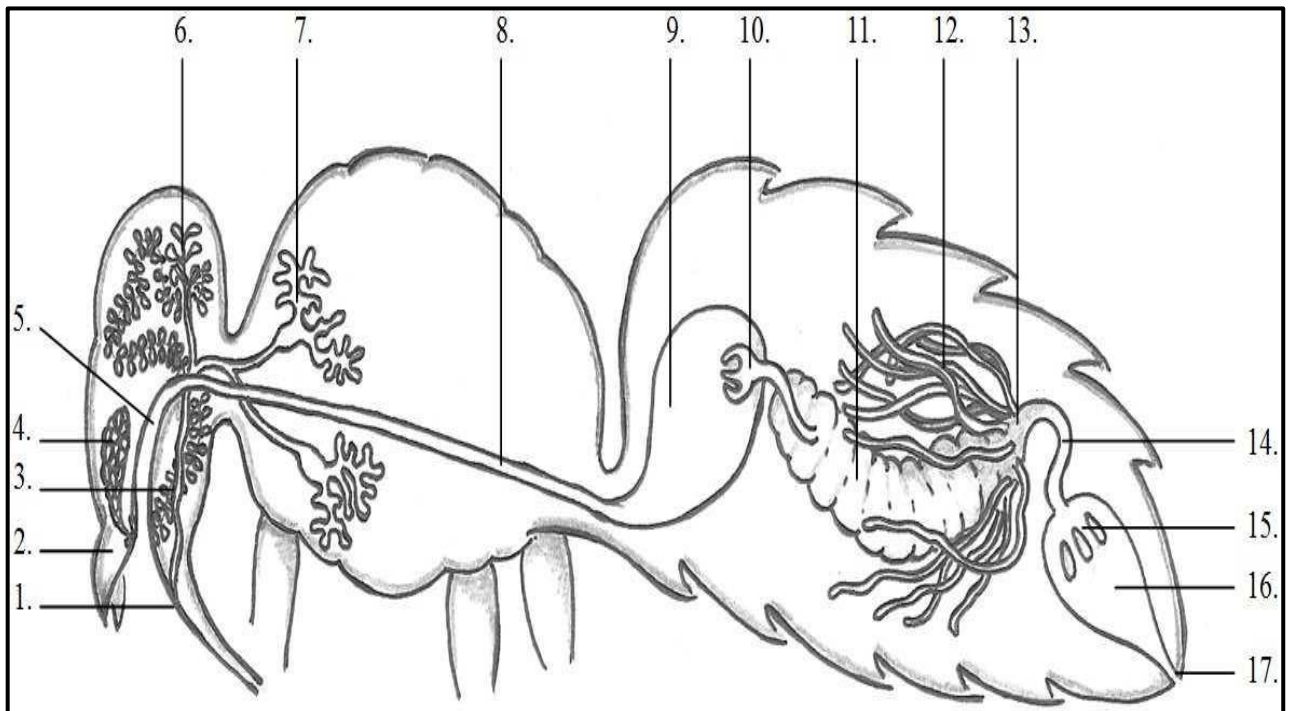


Annexe

Annexe 02: Classification des germes de mammites (Angoujard, 2015).

	Genre	Espèces	Réservoirs
Germes pathogènes majeurs	<i>Streptococcus</i>	<i>agalactie</i> <i>dysgalactie</i> <i>bovis uberis</i>	Mamelle Cavité buccale Génitale Tube digestif Vagin, peau
	<i>Enterococcus</i>	<i>faecalis</i> <i>faecium</i>	Fèces, peau
	<i>Staphylococcus</i> à coagulase +	<i>S.aureus</i> <i>S.intermedius</i> <i>S.hyicus</i>	Peau, trayon Muqueuse
	Entérobactéries	<i>Escherichia coli</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	Fèces Litière
	Anaérobies	<i>Arcanobacterpyogenes</i>	Bovins, peau. Muqueuses.
	<i>Pseudomonas</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Sol, fèces, eau
	Mycoplasma	<i>Mycoplasma bovis</i> <i>Mycoplasma bovinigenitaitum</i>	Bovins
	Autres	<i>Mycobacterium bovis</i> <i>Nocardiaasteroides Bacillus aereus</i>	Bovins Environnement
Germes pathogènes mineurs	Staphylocoques à coagulase –	<i>S.capiris</i> <i>S.chromogenes</i> <i>S.cohnii</i> <i>S.epidermis</i> <i>S.haemolyticus</i> <i>S.hominis</i> <i>S.saprophyticus</i> <i>S.sciuri</i> <i>S.warneri</i> <i>S.xylosus</i>	
	Corynébactéries	<i>Corynebacterium bovis</i>	Bovins

Annexe 03: Schéma de l'appareil digestif de l'abeille (Lequet, 2010).



1. Appareil buccal.

2. Glandes hypopharyngiennes (×2) .

3. Glandes salivaires céphaliques (×2).

4. Glandes salivaires thoraciques (×2).

5. Canal collecteur.

6. Mentum.

7. Pharynx.

8. Œsophage.

9. Jabot.

10. Proventricule

11. Ventricule.

12. Pylore.

13. Tubes de Malpighi (environ 200).

14. Intestin grêle.

15. Glandes rectales

16. Ampoule rectale 17. Anus

Annexe

Annexe 04 : La récolte du miel. **a :** Couteau à désoperculer **b:** Intérieur de la cuve d'un extracteur (Cavelier, 2013)



Annexe 05: La récolte de la propolis. **a :** Propolis grattée des cadres .**b:** Grille de récupération de propolis en plastique (Sauvager, 2014).









Annexe

Annexe06: Composition moyenne du miel (Lobreau-Callen et Clément, 2000).

Composition	Pourcentage total	Type de composés	Principaux composants
Hydrates de carbone	75 à 80 %	Monosaccharides	Fructose (38 %), glucose (31 %)
		Disaccharides	Maltose (7,3 %), isomaltose, saccharose (1,3 %)
		Polysaccharides (1,5 à 8 %)	Erllose, raffinose, (mélézitose, kojibiose, dextrantriose, mélibiase)...
Eau	15 à 20 % (moyenne 17 %)		
Substances diverses	1 à 5 % (moyenne 3,5 %)	Acides organiques (0,1 à 0,5 %)	Gluconique (0,1 à 4 %), (maléique), (succinique), (oxalique), (glutamique), (pyroglutamique), (citrique), (glucuronique), formique (0,01 à 0,05 %)...
		Protéines, peptides et acides aminés (0,2 à 2 %)	Matières albuminoïdes, matières azotées, la défensine-1, (proline, tyrosine, leucine, histidine, alanine, glycine, méthionine, acide aspartique)...
		Vitamines	B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8 ou H, B9, C
		Enzymes provenant des glandes hypopharyngiennes	Amylases α et β , gluco-invertase, glucose-oxydase
		Enzymes provenant du nectar	(Catalase, amylases, phosphatases acides)
		Minéraux	K, Ca, Na, Mg, Mn, Fe, Cu, Se, S, Cl, Zn (Co, B, Si, Cr, Ni, Au, Ag, Ba, P, Cs)
		(Acétylcholine)	
Arômes		Esters	Méthylantranilate, acétates, méthyléthylcétone...
		Aldéhydes et acétones	Formaldéhyde, acétaldéhyde...
		Alcools	Méthanol, éthanol, isobutanol, 2-phényléthanol...
Pigments		Caroténoïdes et flavonoïdes	Flavanol, catéchine, quercétine, pinocembrine, pinobanksine, lutéoline, chryisine, galangine, kaempférol, isorhamnétine, méthylflavonol
(Lipides)	Traces	Acides gras	(acide palmitique, butyrique, caprique, caproïque, valérique, oléique, linoléique)
Les substances indiquées entre parenthèses sont à l'état de traces ; les pourcentages sont donnés par rapport au poids total du miel.			

Annexe 07 : La source botanique de la propolis selon les différentes régions
(El housseini, 2013)

Photos	Nom français	Nom Anglais	Familles	Provenance	Principales propriétés
 <i>QUERCUS</i>	Chêne	Oak	Fagacées	Asie Afrique	- Anti-inflammatoire - Astringente - Analgésique - Hypoglycémiant
 <i>POPULUS</i>	Peuplier	Poplar	Salicacées	Afrique du Nord Moyen-Orient Europe	- Diurétique - Facilite l'urico- élimination - Fluidifiant - Antiseptique +++
 <i>BETULA ALBA</i>	Bouleau blanc	Birch	Bétulacées	Europe du Nord Amérique Canada	- Diurétique - Facilite l'urico- élimination - Cicatrisante
 <i>ULMUS</i>	Orme	Elm	Ulmacées	Amérique Europe Chine	- Anti-inflammatoire - Antifongique - Anti-diarrhéique - Astringente
 <i>PINUS</i>	Pin	Pine	Pinacées	Amérique du Nord Europe du Nord Russie	- Mucolytique - Cicatrisante - Astringente - Antiseptique
 <i>AESCULUS HIPPOCASTANUM</i>	Marronnier d'Inde	Horse chestnut	Hippocastanacées	Europe Turquie Balkans	- Antihémorragique - Astringente - Vasoconstricteur
 <i>FRAXINUS</i>	Frêne	Ash	Oléacées	Europe du Sud Afrique du Nord	- Antiarthritique - Antalgique - Diurétique

Annexe

Annexe 08 : Composition moyenne de la gelée royale (Martini et Seiller, 2006).

Composition	Pourcentage total	Type de composés	Principaux composants
Eau	57 à 70 % (moyenne 70 %)		
Hydrates de carbone	14 %	Monosaccharides	Glucose et fructose
		Disaccharides	Saccharose, maltose...
		Polysaccharides	Mélibiose, erlose, ribose...
Protides	13 %	Acides aminés (dont les 8 essentiels)	Proline, lysine, leucine, arginine, valine, phénylalanine...
		Peptides	Défensine (la royalisine), apisimine, jelleines I, II, III, IV...
		Protéines	MRJP1, MRJP2, MRJP 3, MRJP4
Lipides	4,5 %	Acides gras	<i>Trans</i> -10-hydroxy-2-décénoïque...
		Stérols	Cholestérol et stigmastérol
		Cires	
		Phospholipides	
Substances diverses	2 à 8 %	Minéraux	K, Na, Mg, Ca, Fe, Zn, Cu, S, P, N, C...
		Vitamines	B1, B2, B3 ou PP, B5, B6, B8 ou H, inositol, B9, (B12, C A, D, E, K)
		Enzymes	Glucose-oxydase, ...
		Acétylcholine 1mg/g	
		Hormones (gelée fraîche)	(Estradiol, testostérone et progestérone)
		Acides nucléiques (gelée fraîche)	(ADN et ARN)

Annexe 09 : Milieux de culture utilisés.

➤ *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.

➤ *Gélose bilié au vert brillant et au rouge neutre (VRBL)* ;

Composition (gramme/ litre d'eau distillée) :

- Peptone pepsique de viande : 7,0 g.
- Extrait de levure : 3,0 g.
- Lactose : 10,0 g.
- Sels biliaires : 1,5 g.
- Chlorure de sodium : 5,0 g.
- Rouge neutre : 30,0 mg.
- Cristal violet : 2,0 mg.
- Agar : 12,0 g.

pH final : 7,4 ±0,2.

➤ *Gélose de Mueller-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 ±0,1.

➤ *Bouillon nutritif (BN)* (bouillon trypticase soja) ;

Composition (gramme/ litre d'eau distillée) :

- Peptone de caséine (bovin) : 17 g.
- Peptone de soja : 3 g.
- Chlorure de sodium : 5 g.
- Phosphate : 2,5 g.
- Glucose : 2,5 g.
- Eau purifiée : 1 L.

➤ *Eau physiologique*

Composition (gramme/ litre d'eau distillée) :

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

pH final : 7.

Annexe 10: Matériels utilisés au laboratoire (Appareillages et Verrerie).

1. *Appareillages*

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

2. *Verrerie*

- ✓ Bêchers (25 ml, 50 ml, 250 ml, 500 ml, 1000 ml).
- ✓ Boîtes de Pétri en verre.
- ✓ Flacons en verre de 250 ml.
- ✓ Tubes à essai stérile.
- ✓ Tubes secs.
- ✓ Eprouvette.

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.
- ✓ Barreau magnétique

Annexe 11: Analyses statistiques (variance et test de Newman et Keuls) des différentes comparaisons.

Comparaison M1+EEP1

Analyse de la variance

- **Effet miel et propolis :**

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	62,2004	0,000048
TRT	176,400	1	176,400	5,67887	0,044339
Error	248,500	8	31,0625		

Test de Newman-Keuls :

- **Classement des échantillons : Miel et propolis :**

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		****

Comparaison M2+EEP2

Analyse de la variance

- **Effet miel et propolis :**

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	23,0625		

Test de Newman-Keuls :

- **Classement des échantillons : Miel et propolis**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)				
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		****

Comparaison de M1+M2 :

Analyse de la variance

- **Effet miel :**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4243,600	1	4243,600	94,82905	0,000010
TRT	78,400	1	78,400	1,75196	0,222203
Error	358,000	8	44,750		

Test de Newman-Keuls

- **Classement des échantillons de Miel :**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)			
Homogenous Groups, alpha = ,05000			
Error: Between MS = 44,750, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
1	M1	17,80000	****
2	M2	23,40000	****

Analyse de la variance

- **Effet propolis :**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	940,9000	1	940,9000	87,93458	0,000014
TRT	0,0000	1	0,0000	0,00000	1,000000
Error	85,6000	8	10,7000		

Comparaison M1, P1 et EEP1+M1 :**Analyse de la variance**

- **Effet EEP1 et EEP1+M1 :**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)					
Sigma-restricted parameterization					
Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	1525,225	1	1525,225	149,1663	0,000002
TRT	70,225	1	70,225	6,8680	0,030618
Error	81,800	8	10,225		

Test de Newman-Keuls :

- **Classement des échantillons :**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)				
Homogenous Groups, alpha = ,05000				
Error: Between MS = 10,225, df = 8,0000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
1	EEP1	9,70000	****	
2	M1+EEP1	15,00000		****

Analyse de la variance :

- Effet M1 et M1+EEP1 :

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	74,60742	0,000025
TRT	24,025	1	24,025	0,65441	0,441935
Error	293,700	8	36,712		

Test de Newman-Keuls :

- Classement des échantillons :

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet)			
Homogenous Groups, alpha = ,05000			
Error: Between MS = 36,712, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1
2	M1+EEP1	15,00000	****
1	M1	18,10000	****

Comparaison M1, EEP1 et G1 :**Analyse de la variance :**

- Effet M1, EEP1 et G1 :

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	2184,067	1	2184,067	101,1142	0,000000
TRT	277,233	2	138,617	6,4174	0,012727
Error	259,200	12	21,600		

Test de Newman-Keul :

- **Le classement :**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (M1+P1+G1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 21,600, df = 12,000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
3	G1	8,40000	****	
2	EEP1	9,70000	****	
1	M1	18,10000		****

Comparaison G1 ,M1 ,EEP1 avec l'Effet synergique :

Analyse de la variance :

- **Effet G1 , M1 ,EEP1 avec l'Effet synergique :**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet2) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	4588,033	1	4588,033	225,5948	0,000000
TRT	377,367	5	75,473	3,7110	0,012496
Error	488,100	24	20,337		

Test de Newman-Keuls:

- **Classement des échantillons:**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (Spreadsheet2) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 20,337, df = 24,000				
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	1	2
3	G1	8,40000	****	
5	EEP1+G1	9,10000	****	
2	EEP1	9,70000	****	
4	M1+G1	14,00000		****
6	M1+G1+P1	14,90000		****
1	M1	18,10000		****

Comparaison de GF et G1:**Analyse de la variance:**

- **Effet GF et G1:**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (GF et G1) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	883,6000	1	883,6000	257,9854	0,000000
TRT	10,0000	1	10,0000	2,9197	0,125881
Error	27,4000	8	3,4250		

Test de Newman-Keuls:

- **Classement:**

Newman-Keuls test; variable Diamètre d'inhibition (GF et G1) Homogenous Groups, alpha = ,05000 Error: Between MS = 3,4250, df = 8,0000			
Cell No.	TRT	Diamètre d'inhibition Mean	
2	G1	8,4000	****
1	GF	10,4000	****

Comparison ATB + Miel:**Analyse de la variance:**

- **Effet ATB+Miel:**

Univariate Tests of Significance for Diamètre d'inhibition (Spreadsheet) Sigma-restricted parameterization Effective hypothesis decomposition					
Effect	SS	Degr. of Freedom	MS	F	p
Intercept	15815,31	1	15815,31	191,1051	0,000000
TRT	719,49	6	119,91	1,4490	0,231726
Error	2317,20	28	82,76		

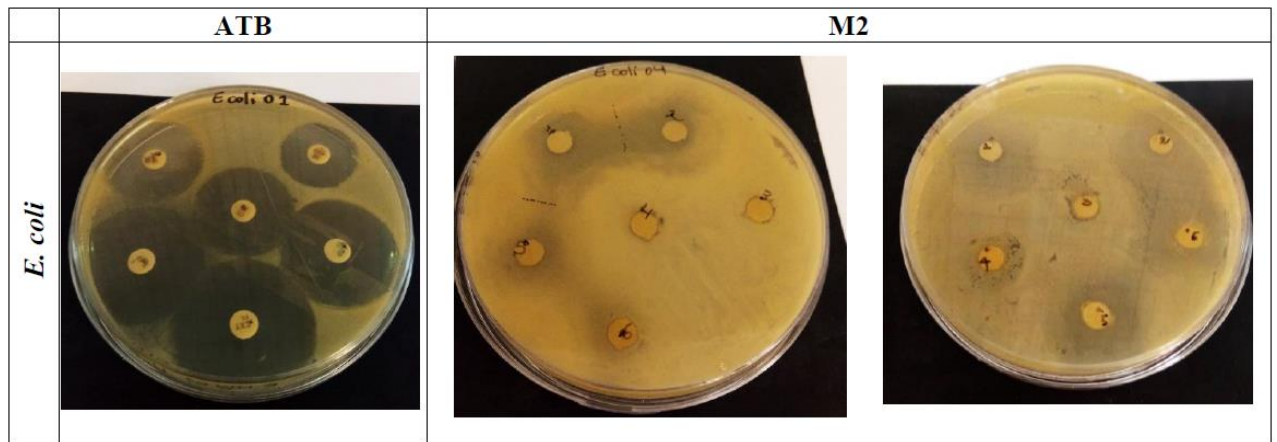
Test de Newman-Keuls :

- **Classement :**

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	16,0000	****
4	Amc	18,4000	****
2	Amp	19,2000	****
6	Te	19,2000	****
7	Sxt	21,6000	****
1	M2	23,4000	****
5	Ofx	31,0000	****

Annexe

Annexe 12 : Antibiogramme comparative du Miel 1 et des antibiotiques utilises.



Références bibliographiques

A

- Abdel-Fattah NS., Nada OH ., 2007. Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol*, (2 Suppl): p691-710.
- Afrouzan H., Tahghighi A., Zakeri S., Es-haghi A., 2018. Chemical Composition and Antimicrobial Activities of Iranian Propolis. *Iranian biomedical journal*, p50.
- Al-Ghamdi AA., Bayaqoob NI., Rushdi AI., Alattal Y., Simoneit BR., El-Mubarak H., Al-Mutlaq K F.,2017. Chemical compositions and characteristics of organic compounds in propolis from Yemen. *Saudi journal of biological sciences*,p1094-1103.
- Akca A., Akca G., Topçu F., Macit E., Pıkdöken L., Özgen I. 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., Alea A., Elsajed M., Yousef A., Esan A., Mohamad Q., 2017. Antimicrobial effect of different types of honey on *Staphylococcus aureus*. *Saudi Journal of Biological Sciences*, p1255 – 1261.
- Al-Mamary M., Al-Meerri A., Al-Habori M., 2002. Antioxidant activities and total phenolics of different types of honey. *Nutrition Research*, p 1041-1047.
- Alvarez-Suarez J.M., Giampieri F., Battino M., 2013. Honey as a source of dietary antioxidants: structures, bioavailability and evidence of protective effects against human chronic diseases. *Curr. Med. Chem*,p621-638.
- Al-Waili NS., HAQ A., 2004. Effect of honey on antibody production against thymus dependent and thymus-independent antigens in primary and secondary immune responses. *J Med Food*, p491–494.
- Angoujard L., 2015. Enquête sur le diagnostic et le traitement des mammites de la vache laitière par les vétérinaires de terrain en France en 2015. Thèse du Doctorat : Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France, p 121.
- Amigou A., 2016. Les résidus de médicaments vétérinaires et des pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse du Doctorat : Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, France, p 165.

Références bibliographiques

- Assie B., 2004. Le miel comme agent cicatrisant. 79 p. Thèse Pour Le Diplôme D'état De Docteur En Médecine. Toulouse : Toulouse III.
- Attalla K., Owayss A., Mohanny, K M. 2007. Antibacterial activities of bee venom, propolis, and royal jelly produced by three honey bee, *Apis mellifera* L., hybrids reared in the same environmental conditions. *Annals of Agric. Sci. Moshtohor*, p895-902.

B

- Barour C., Tahar A., Baylac M., 2011. Forewing shape variation in Algerian honeybee populations of *Apis mellifera intermessa* (Buttel-Reepen, 1906) (Hymenoptera: Apidae): A landmark based geometric morphometrics analysis. *African Entomology*, p 11-22.
- Belhaj O., El abbadi I., Ouchbani T., 2016. Contribution à l'étude de l'activité antibactérienne du miel naturel d'origine marocaine. *Revue Marocaine des Sciences Agronomiques et Vétérinaires*, 4(3).
- Bidaud O., Houffschmitt P., Viguerie Y., 2010. Etiologie des mammites bovines en France entre 2005 et 2007. *Services techniques Intervet*.
- Blanc M., 2010. Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Univ. Limoges, 142 p.
- Blowey RW, Edmondson P., 2010. Mastitis control in dairy herds. Second edition. CABI, wallingford, United Kingdom, 272 p.
- Bogdanov S., 2001. Royal Jelly, bee brood: composition, health, medicine:a review. *Lipids*. P 3, 8.19.
- Bogdanov S., Blumer.P., 2001. propriétés antibiotique naturel de miel, centre suisse de recherche apicole. (5),p 219-222.
- BogdanovS., Bieri K., Kilchaman U., Gallaman P., 2005. Miels monofloraux Suisses .ALP Forum 23 : p1-55
- Bogdanov S., Jurendic T., Sieber R. et Gallmann P., 2011. Honey for Nutrition and Health: a Review. *American Journal of the College of Nutrition*, p 677-689.
- Bogni Cristina et al., (2017). "War against mastitis: Current concepts on controlling bovine mastitis pathogens." *Revista Argentina de microbiología*.
- Bosquet G., Ennuyer M., Goby L., Leiseing E., Martin S., Salat O., Sanders P., Seegers H., Serieys F., 2005. Le praticien face au ciblage du traitement en lactation des mammites. «

Références bibliographiques

Ouvrons-le dossier », conférence de consensus organisée par le laboratoire Boehringer Ingelheim : 45p

- Boukraâ L., Sulaiman SA., 2009. Rediscovering the antibiotics of the hive Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov, p 206-13.
 - Boukraa L., Niar A ., benbarek H ., benhanifia M., 2008. Addictive action of royal jelly and honey against *Staphylococcus aureus*. Journal of medicinal food, p 190-192.
 - Boukraa L., Meslem AM., Benhanifia M ., Si Mohamed H ., 2009. Synergistic Effect of Starch and Royal Jelly against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, the journal of alternative and complementary medicine volume, p 755–757.
 - Boutet P., Detilleux J., Motkin M. et al., 2005. Comparaison du taux cellulaire et de la sensibilité antimicrobienne des germes responsables de mammites subclinique bovine entre les filières conventionnelle et biologique. Ann. Méd. Vét, p149: 173.
 - Brudzynsk K., 2006. Effect of hydrogen peroxide on antibacterial activities of Canadian honeys. Canadian Journal of Microbiology, Volume 52. N° 12, p 1228-1237.
 - Bruneau E., 2004 .Les produits de la ruche .Ed : RUS TICA, p 354-384.
 - Bruneau E., 2009. *Chapitre IX : Les produits de la ruche in Clément Het al. Le Traité Rustica de l'apiculture Editions Rustica, Paris, p 354-387.*
 - Bruneau E., 2011. Chapitre IX : Les produits de la ruche. In: Clément et al. Le traité rustica de l'apiculture. Éditions Rustica, Paris, p354-387.
 - Bruneau E. ,2015. La propolis, un cadeau de la ruche. L'essentiel du programme européen miel. Journée d'information organisée aux facultés Notre-Dame de la Paix à Namur (faculté de Médecine), 8p.
 - Bosquet G., Faroult B., Labbe J-F., Le page P., Serieys F., 2013. Référentiel vétérinaire 2013 pour le traitement des mammites bovines. SNGTV, Paris, France, 100p.
 - Botrel M-A., Haenni M., Morignat E., Sulpice P., Madec J-Y., Calavas D., 2010. Distribution and Antimicrobial Resistance of Clinical and Subclinical Mastitis Pathogens in Dairy Cows in Rhone-Alpes, France. In : *FOODBORNE PATHOGENS AND DISEASE*, vol : 7 (5).
 - Bourabah A. et al ., 2014 Antimicrobial activity of Algerian honey on subclinical mastitis pathogens isolated from goat's milk, *Veterinary World* 7(4): p248-252.
-

Références bibliographiques

C

- Cardinault N., Cayeux., Du sert P., 2012. La propolis : origine, composition et propriétés.phytothérapie,p 298-304.
- Cavelier E., 2013. Le miel : composition et techniques de production ,121p.
- Cherbuliez Th., Domerego R., 2003. L'apithérapie - Médecine des abeilles. Edition amyres, 255p.
- Choi Y., Noh D., Cho S., Suh H., Kim K., Kim J., 2006. Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. *Lwt-Food Science and Technology*,p 756-761.
- Cimpoi C., Hosu A., Miclaus V., Puscas A. 2012. Determination of the floral origin of some Romanian honeys on the basis of physical and biochemical properties. *Spectrochim Acta A Mol. Biomol.Spectrosc.*, p 149-154.
- Clément H., 2006 .Le Traité Rustica de l'Apiculture. Editions Rustica/FLER. Paris, 528p.
- Clément H., 2009.L'abeille sentinelle de l'environnement. Paris, Alternatives, 144 p.
- Clément H., ConteYL., Barbancon J.-M., Vaissière B., 2011. Le traité rustica de l'apiculture. (Rustica éditions, 2011).
- Clémentine L., 2015. La cosmétique biologique, un retour aux sources.Thèse de doctorat, Lille, 76p.
- CLSC (Clinical and Laboratory Standards Institute) ., 2015.performance standards for anti-microbial disk susceptibility tests, M100-S25,Vol.35(3).
- Couquet Y., Alexis D., Marie-Laure R.,"Les propriétés antibactériennes et cicatrisantes du miel." *Actualités pharmaceutiques* 52.531 (2013), p22-25.
- Cushnie TPT, Lamb AJ. 2005. Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *Staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *J Ethnopharmacol*,p243-8.
- Cuvillier A., 2015. Miel, Propolis, Gelée royale. Les abeilles alliées de notre système immunitaire.Thèse pour le diplôme d'état de docteur, Université de Lille 2. Faculté des Sciences Pharmaceutiques, p90.

D

- Dalben-Dota KF., Faria MG., Bruschi ML., et al., 2010. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. *J Altern Complement Med* ,p 285-90

Références bibliographiques

- Deb Mandal M., Mandal S., 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pac. J.Trop. Biomed.*, p154-160.
- 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.
- Descottes. B., 2009. Cicatrisation par le miel, l'expérience de 25 ans. *Phytothérapie*, vol. 7, n°2, p. 112-116.
- Dico du lait ., 2017. Les abécédaires de la filière laitière .Disponible sur : <http://dico-du-lait.fr/p/production-de-lait/>.
- Dinkov D., Stoyanchev T., 2014. Antibacterial effect of Royal gelly, mix from Royal jelly and rape honey (1: 100), rape and oak honeydew honeys against *Escherichia coli* (ATCC 25922). *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, p321-326.
- Djaafri F., Rezzoug S., Ounis K., 2014. Caractérisation physico-chimique et effet antibactérien de quelques types de miels. *Thèse en vue de l'obtention du diplôme d'Ingénieur d'Etat en Agronomie : Technologie alimentaire*. Université Kasdi Merbah d'Ouargla, p 82.
- Djabri B., Bareillen N., Beaudeau F., Seegers H., 2002. Quarter milk somatic cell count in infected dairy cows: a meta-analysis. *Veterinary Research*, p23.
- Dogan B., Klaessig S., Rishniw M., Almeida RA., Oliver SP., Simpson K., et al., 2006. Adherent and invasive *Escherichia coli* are associated with persistent bovine mastitis. *Veterinary Microbiology*, p270-282.
- Domerego R., Blanchard C., Imbert G.2017. Les remèdes de la ruche – Miel, pollen, propolis, gelée royale.éditions Alpens,127P.
- Domerego R., Imbert G., Blanchard C., 2009. Les remèdes de la ruche Editions Alpens, Monaco, 95p
- Dominique J., Octobre 2001.Prévention des mammites, Idées reçues sur leTarisement. VRAI ou FAUX.- A la pointe de l'élevage, p22 -24.
- Donadieu Y., 2008. *La Propolis* Editions Dangles, Paris, 90p.
- Drutel A., 2017. Cellules somatiques du lait de chèvres. Un moyen de défense pour la mamelle. Loire Conseil Elevage.
- Dumas PL., Faroult B., Serieys F., 2004. Assurer le traitement en exploitation laitière : expérience et perspectives de l'action G.T.V. Partenaire. Journées Nationales des G.T.V,p 71-75.
- Durand S., 2000.Les infections par les herpes virus 2,3 et 4 chez les bovins. Thèse de

Références bibliographiques

Doctorat, Nancy I, Faculté de pharmacie, 76 p.

- Durel L., Faroult B., Lepoutre D., Brouillet P., Le page Ph., 2004. Mammites des bovins (cliniques et subcliniques). Démarches diagnostiques et thérapeutiques. La Dépêche Technique. Supplément technique 87 à la Dépêche Vétérinaire du 20 Décembre 2003 au 2 Janvier 2004, 39 p.

E

- Eicher R., Sutter-Lutz B., Berger L., 2003. Contrôler les mammites à *Staphylococcus aureus*. *Le point vétérinaire*, 228p : 50-54.
- El-Arab AME., Girgis SM., Hegazi EM., El-Khalek ABA., 2006. Effect of dietary honey on intestinal microflora and toxicity of mycotoxins in mice BM *Complementary Altern. Med.* 6(6).
- El housseini N., 2013. Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Thèse de doctorat, Nantes, Faculté de chirurgie dentaire, 110 p.
- Eucast (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ., 2015. breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, 111 p.
- Eucast (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) ., 2017. breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters, 125 .
- Evangelist-Rodrigues A., Carneiro M., 2001. Analyse comparative de la qualité de la propolis collectée à travers des blocs de bois et une toile plastique dans la région du marais de parajo. Congrès Brésilien d'Apiculture, p108-112.

F

- Fairbrother JH., 2014. Mammite bovine à *Escherichia coli* ; identification et caractérisation de la persistance. Thèse en vue de l'obtention du grade de maitre : Science Vétérinaire.
- Fairbrother J. H., Francoz D., Nadeau E., Messier S., 2010. *Escherichia Coli* is Associated With Persistent Mammary Infection In Canadian Dairy Cows. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, p714-715.

Références bibliographiques

- Fairbrother JM., Nadeau E., 2010. Colibacillosis. In Infectious and Parasitic Diseases of Livestock. Lefèvre PC, Blancou J, Chermette R, Uilenberg G, eds. Lavoisier. Vol. 2, Chapter,p 917-945.
- Farooqui T, Farooqui A., 2010.Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. *Curr Nutr Food*,p 186–99
- Faroult B., Arzul P., 2005. Tariesement des vaches laitières : approche sanitaire et ootechnique. *Supplément technique n°95 de la dépêché vétérinaire du 14 au 20 mai 2005*. 35 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.
- Foucras G., Corbieres F., Meyer G., Schelcher F., 2006.Mammites et troubles dysimmunitaires du peripartum chez la vache : mythe ou realite ? *Le Nouveau Praticien Vét*, p33-39.
- Fournier R., 2009. *ABC de l'Apithérapie Se soigner grâce aux abeilles* .Paris, Editions Grancher, 140p.
- François L., 2017. «La texture du miel. *Journal aliments naturels et biologiques*»
- Francoz D., Roy J., Labrecque O., 2007. Les mammites à mycoplasmes chez les bovins : page 23. Actualités sur une infection en pleine progression. *Bulletin GTV*, 2007, p 39.
- Fratini F., Cilia G., Mancini S., Felicioli A. 2016. Royal Jelly: An ancient remedy with remarkable antibacterial properties. *Microbiological research*,p 130-141.

G

- Gardana C., Simonetti P., 2011. Evaluation of allergens in propolis by ultra-performance liquid chromatographytandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* ,p 1675–82.
- Gay E., Chazel M., Danielle M., Haenni M., Calavas D., Madec J. Y., & Jouy E. 2010. Apport du Résapath à la problématique de l'antibiorésistance en santé animale: analyse des données recueillies en 2008 sur Escherichia coli dans les différentes filières animales. *Bulletin épidémiologique afssa*,p 6-9.

Références bibliographiques

- Gedilaghine V., 2005. La rationalisation du traitement des mammites en exploitation laitière. Conception et réalisation d'une enquête d'évaluation de la mise en place de l'action G.T.V partenaire dans le département de la manche. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. Ecole National Vétérinaire d'Alfort, France, p 106.
- Ghasemi F., Eshraghi S., Andalibi 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).
- Gharbi M., 2011. Les produits de la ruche: Origines - Fonctions naturelles Composition, Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire, Vetagro sup Campus Veterinaire de Lyon.
- Ghazi K., 2009. Qualité hygiénique et sanitaire du lait cru de vache dans la région de Tiaret. Impact des mammites sur la glande mammaire, p188.
- Ghedira K., Goetz P., Lejeune R., April 2009. *Propolis*. Phytothérapie Springer, Volume 7, p 100-105.
- Giesecke W.H., 1985. The effect of stress on udder health of dairy cows. *Onderstepoort Journal of Veterinary Research*, p175-193.
- Gonsales G.Z., Orsi R.O., Fernandes J.A., Prodigues P., Funari S.R., (2006). Antibacterial activity of propolis collected in different regions of Brazil. *J. Venom. Anim. Toxins. Incl. Trop. Dis.*, p276-284.
- Gout J., 2009: Le miel. Editions Jean-Paul Gisserot, Paris, 64p.
- Gülhan V-U., Sibel S., Mehmet U., 2008. Composition and in vitro antimicrobial activity of Populus buds and poplar-type propolis. *World J Microbiology and Biotechnology*, p1011 – 1017.
- Gülcin H., Alici A., Cesur M., 2005. Determination of in vitro antioxidant and radical scavenging activities of propolis. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, p 281-285.
- Gurezou M N., Nadji N., 2002. Etude comparative entre quelques miels locaux et autre importés. Mémoire d'obtention d'ingénieur d'état en agronomie. Université de Djelfa.

H

- Halasa T., Huijps K., Østerås O., Hogeveen H., 2007. Economic effects of bovine mastitis and mastitis management: a review. *Veterinary Quarterly*, p 18-31.

Références bibliographiques

- Han B., Li C., Zhang L., Fang Y., Feng M., Li J., 2011. Novel royal jelly proteins identified by gel-based and gel-free proteomics. *J. Agric. Food Chem.*, p10346-10355.
- Hanzen CH., Castagin J., 2002. Les mammites, cours à distance, Univ. Liège –Bel.
- Hanzen CH., 2015-2016. Physio-anatomie et propédeutique de la glande mammaire Symptomatologie, étiologie et thérapeutiques. Approches individuelles et de troupeau des mammites. *Service de Thériogenologie des animaux de production*. Université de Liège : Faculté de Médecine Vétérinaire, p 170.
- Hazem A., Popescu C., Crisan I., Popa M., Chifiriuc C., Pircalabioru G., Lupuliasa D., 2017. ANTIBACTERIAL EFFICIENCY OF FIVE PROPOLIS EXTRACTS ON PLANKTONIC AND ADHERENT MICROBIAL STRAINS. *FARMACIA*, p.813-818.
- Hegazi AG., 2001. *Biological activity of royal jelly in Apimondia* (2001).
- Hillerton JE., Berry EA., 2003. The management and treatment of environmental streptococcal mastitis. *The Veterinary clinics of North America. Food animal practice*, vol : 19 (1), p 157-169.
- Hirsh DC ., Maclachlan NJ., Walker RL., 2004. *Veterinary microbiology*. Second Edition. Blackwell Publishing Oxford, 536 p.
- Houssa Emile Sègbégnon., 2006. Evaluation de la prévalence et des causes des mammites subclinique en élevage bovin laitier intensif dans la zone périurbaine de Dakar (cas des fermes de niacoulrab et de wayembam). université Cheikh anta diop de Dakar. école inter-états des sciences médecine vétérinaire, 129p.

I

- Ibrahim-khalil M., Moniruzzaman M ., Boukraa L., Benhanifia M., Asiful-Islam Md., Nazmul-Islam Md., Siti-Amrah S., Hna-Gan S., 2012. Physicochemical and Antioxidant properties of Algerian honey. *Molécules*, vol.17, n°9, p. 11199-11215.

J

- Jean-Prost P., Le Conte., 2005. *Apiculture. Connaître l'abeille, conduire le rucher 7ème édition*, Tec & Doc Lavoisier, 698p.

Références bibliographiques

- jing P., Xu W., Yi H., Bai L., Yuan R., 2014. An amplified electrochemical optasensor for thrombin detection based on Pseudobioenzyme Fe₃O₄ – Au nano composites and electro active hemin/G-quadruplex and signal enhances. *Analyst*,p 1756 – 1761.
- Joshi S.R., Pechhacker H., Willam A. and von der ohe W. (2000). Physico-chemical characteristics of Apis dorsata, Apis cerana and Apis mellifera honey from Chitwan district, central Nepal. *Apidologie*,p 367-375.

K

- Kacaniova M., Fatrcova-Sramkova K., Nozkova J., Melich M., Kadasi-Horakova M., Knazovicka V., Felsociova S., Kunova S., Mariassyova M., 2011. Antiradical activity of natural honeys and antifungal effect against *Penicillium genera*. *Journal of Environmental Science and Health Part B-Pesticides Food Contaminants and Agricultural Wastes*, p92-96.
- Kadja M ., Kane Y., Banah V., & Kaboret Y. 2013. Sensibilité Aux Antibiotiques Des Bactéries Associées Aux Mammites Cliniques Des Petits Ruminants Dans La Région De Dakar. *Annales des Sciences Agronomiques*, p 205-216.
- Kartal M., Yıldız S., Kaya S., Kurucu S., Topcu G., 2003. Antimicrobial activity of propolis samples from different regions of Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*,p 69-73.
- Khaldi., F.2016. Etude de certains facteurs de risque des mammites bovines dans quelques élevages de la région de Tiaret. Mémoire de Magistere. Université Ibn Khaldoun Tiaret : Faculté de Science Vétérinaire, 111p.
- Khalil M., Alam N., Moniruzzaman M., Sulaiman S., Gan S., 2011. Phenolic acid composition and antioxidant properties of Malaysian honeys. *J. Food Sci.*,p921-928.
- Kheyri H, Cribb BW, Reinhard J, Claudianos C, Merritt DJ., 2012. Novel actin rings within the secretory cells of honeybee royal jelly glands. *Cytoskeleton (Hoboken)* ;69:1032-9.
- Kim MJ *et al.*, 2010. Antimicrobial effect of Korean propolis against the mutans *streptococci* isolated from Korean J. *Microbiol*,p161-164.
- Kim Y.H., Chung H.J., 2011. The effect of Korean propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. *New biotechnology*,p713-718.

Références bibliographiques

- Koç AN., Silici S., Kasap F., Hörmet-Oz HT., Mavus-Buldu H., Ercal BD.,2011.Antifungal activity of the honeybee products against *Candida spp.* And *Trichosporon spp.*J. Med. Food,p128-34.
- Kowalski S., Makarewicz M., 2017. Functional properties of honey supplemented with bee bread and propolis. *Natural product research*,p 2680-2683.
- Kwakman PHS ., te Velde AA., de Boer L., Speijer D., Vandenbroucke-Grauls CMJE.,Zaat SAJ., 2010.How honey kills bacteria FASEB J,p82.
- Kwakman PHS., te Velde AA., de Boer L., Vandenbroucke-Grauls CMJE., Zaat SAJ., 2011. Two major medicinal honeys have different mechanisms of bacterial activity PLoS One. 6(3):e17709.

L

- Laurent O., 2005.Les bienfaits du Miel, Paris, Editions De Vecchi S.A, 101p.
- Le page P., Bosquet G., Theron L., Labbe J-F, *et al.*, 2014 Traitement et prévention des mammites bovines : actualités. Supplément technique, Dépêche Vétérinaire, 136, 39 p.
- LeperlierI., 2000.Médicaments vétérinaires et traitement des mammites : De la theorie a la pratique et de la pratique a la théorie. Journées Nationales des *G.T.V.*, Tours 2004,631-640.
- LOBREAU-CALLEN D., CLEMENT M.-C., MARMION V. Les miels. Techniques de l'ingénieur, traité Agroalimentaire, n° F 7000, p. 1-20.
- Lequet L., 2010. Du nectar à un miel de qualité : contrôles analytiques du miel et conseils pratiques a l'intention de l'apiculteur amateur, Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon ,195p.
- Liu AL, Wang HD, Lee SM, et al.,2008.Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro anti-viral activities. *Bioorg Med Chem* 16: 7141–7
- Lévesque P., 2006. La classification des mammites. Le producteur du lait québécois.p04
- Loucif-Ayad W., Achou M., Legout H., Alburaki M., Garnery L., 2014. Genetic assessment of Algerian honeybee populations by microsatellite markers. *Apidologie*, DOI: 10.1007/s13592-014-0331-0.

Références bibliographiques

M

-
- Madec JY., 2014. Les enjeux associés aux antibiotiques utilisés en élevage Le Nouveau Praticien Vétérinaire .In : élevage et santé, vol: 7(26), p.13-17.
 - Makhloufi C., Kerkvliet D., Ricciardelli D'albore G., Choukri A., Samra R., 2011. Characterization of Algerian honeys by palynological and physicochemical methods. *Apidologie* 41:509-521.
 - Mandal S., DebMandal M., Pal N.K., Saha K., 2010. Antibacterial activity of honey against clinical isolates of *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Salmonella enterica* serovar *Typhi*. *Asian Pac. J. Trop. Med.*, p961-964.
 - Mandal D., Mandal S., 2011. Honey: its medicinal property and antibacterial activity. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,p154-160.
 - Marchenay P., Berard L., 2007. *L'homme, l'abeille et le miel*. Paris, De Borée. 223 p.
 - Martha J., 2014. *La propolis verte du Brésil*. Mémoire fin de cycle 1, Brésil, Apithérapie ,23p.
 - Martini M-C., Seiller M., 2006. *Actifs et additifs en cosmétologie*. 3e édition. Paris : Editions Tec & Doc ; Cachan : Éditions Médicales internationales, XXVIII-1051 p.
 - Miranda-Morales RE., Rojas-Trejo V., Segura-Candelas R., Sanchez Gonzalez EM., Castor et al., 2012. Prevalence of pathogens associated with bovine mastitis in bulk tank milk in Mexico *Ann N Y Acad Sci*,p 300-302.
 - Mizuno M., Iinuma M., Kato H., 2002. Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*,p 20-28.
 - Mohammed F ., 2017. Etude in vitro de l'effet antibactérien et antifongique de quelques produits de la ruche. Mémoire en vue d'obtention du diplôme de magister. Université IBN KHALDOUN-TIARET, 106p.
 - Moselhy W. A., Fawzy A. M. Kamel A .,2013 An evaluation of the potent antimicrobial effects and unsaponifiable matter analysis of the royal jelly *Life Science Journal* ;10(2).
 - Morais M. Moreira L. Xesus F. Estevinho L.M., 2011. «Honeybee- collected pollen from five Portuguese natural parks: Palynological origin, phenolic content, antioxidant properties and antimicrobial activity». *Food and chemical Toxicology*, vol.49, p. 1096-1101.

Références bibliographiques

N

- Nam H M., Lim SK., Kang H. M., Kim J. M., Moon J. S., Jang K. C., Jung S. C., 2009. Prevalence and antimicrobial susceptibility of gram-negative bacteria isolated from bovine mastitis between 2003 and 2008 in Korea. *Journal of dairy science*, p 2020-2026.
- Nedji N., 2015. Effets des acaricides sur l'abeille domestique *Apis mellifera intermissa* et analyse de l'activité antimicrobienne de la propolis et du miel. *Thèse de Doctorat 3^{ème} cycle en Biologie Animale Environnementale*. Université Badji Mokhtar d'Annaba, p 133.
- Neto M., Tintino S., da Silva A., do Socorro Costa M., Boligon A., Matias E., Coutinho .,2017. Seasonal variation of Brazilian red propolis: Antibacterial activity, synergistic effect and phytochemical screening. *Food and Chemical Toxicology*,p572-580.
- Noirterre P ., 2006. Suivis de comptages cellulaires et d'examens bactériologiques lors de mammites cliniques chez la vache laitière. Etude expérimentale au centre d'élevage lucien bizet de poisy, p98.
- Nolwenn E., 2011. *De la fleur a l'abeille, de l'abeille au miel, du miel au l'homme: miel et autre produits de la ruche*. Thèse de doctorat, Nantes, Faculté de pharmacie, 206 p.
- Noori A. L., Al-Ghamdi A., Ansari M. J., Al-Attal Y., Salom K. 2012. Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *International journal of medical sciences*,p 793.

O

- Ohnishi M., Sawada T., Hirose K., Sato R., Hayashimoto M., Hata E., Kato H.,2011. Antimicrobial susceptibilities and bacteriological characteristics of bovine *Pseudomonas aeruginosa* and *Serratia marcescens* isolates from mastitis. *Veterinary microbiology*, 154(1-2), 202-207.
- Omoya F.O., Akharaiyi F.C.A., 2010. Pasture honey for antibacterial potency on some selected pathogenic bacteria *J. Nat. Prod.* p 05-11.

Références bibliographiques

- Onyeka O., Okeke M., Ezejiofor C., Ndubuisi J., 2018. Antimicrobial Activity of Honeys from Nsukka and Ugwuaji in Enugu State, on Selected Pathogenic Bacteria Isolated from Wound. *Advances in Analytical Chemistry*, p 6-9.
- Osho A., and Bello O.O., 2010. Antimicrobial effect of honey produced by *Apis Mellifera* in some common human pathogens. *Asian Journal of Experimental Biological Sciences*, p875 – 880.
- Oryan A., Alemzadeh E., Moshiri A., 2018. Potential role of propolis in wound healing: Biological properties and therapeutic activities. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, p98, 469-483.
- Ouchemoukh S., Louaileche H., Schweitzer P., 2007. Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control*, p18, 52–58.
- Ozcan M., 2004. Inhibition of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. *Journal of medicinal food*, p 114-116.

P

- Pasiakos N., Kiriakou 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*, p 513-518.
- Passey S, Bradley A, Mellor H., 2008. *Escherichia coli* isolated from bovine mastitis invade mammary cells by a modified endocytic pathway. *Veterinary Microbiology*. p 151-164.
- Phelps A., 1989. Survey shows global extent of mastitis incidence, costs. *Feedstuffs*, 61(41):11.
- Poirier E., 2007. L'antibiorésistance, acquise des bactéries de la glande mammaire et des Intestins en fonction des traitements intramammaires de tarissement chez les bovins laitiers. Thèse de Doctorat : Vétérinaire. Ecole Nationale Vétérinaire, Montréal, p 139.
- Pol M., Ruegg PL., 2007. Treatment practices and quantification of antimicrobial drug usage in conventional and organic dairy farms in Wisconsin. *J. Dairy Sci.* p249-261.
- POUTREL B., 2004 Le diagnostic des mammites pour et par le vétérinaire praticien, intérêt et limites. *Journées Nationales des G.T.V.*, Tours p 805-810.
- POUTREL B., 2014. Généralités sur les mammites de la vache laitière. Processus infectieux, épidémiologie, diagnostic, méthodes de contrôle. *Rec. Med. Vet.*, p497-511.
- Proste P- J., 2005. Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher. Yeves Le Conte, *Edition Lavoisier*.

Références bibliographiques

- PUYT J-D., GUERIN-FAUBLEE V., ARCANGIOLI M-A., PROUILLAC C., 2013. *Vademecum d'antibiothérapie bovine*. Editions Med'Com, Paris, France. 190 p.

R

- Raghukumar R., Vali L., Watson D et al. , 2010. Antimethicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of 'pacific propolis' and isolated prenylflavanones. *Phytother Res* 24: 1181–7.
- Ramos F.A., Takaishi Y., Shirotori M., Kawaguchi Y., Tsuchiya K., Shibata H., Higuti T., Tadokoro T., (2006) Antibacterial and antioxidant activities of quercetin oxidation products from yellow onion (*Allium cepa*) skin. *J Agric Food Chem* 54,p 3551–7357.
- Remy D., 2005. Traitement des mammites suraigues. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes, p29-37.
- Remy D., 2010.les mammites France agricole Editions.p259.

S

- Saini V., McClure JT., Leger S., Dufour A., Sheldon G., Scholl DT., Barkema HW., 2012. Antimicrobial use on Canadian dairy farms. *J. Dairy Sci.* 95:1209–1221.
- Salat O., Lhermie G., Bastien J., 2007. Démarches pratique de traitement des infections mammaires a staphylocoques aureus. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes, p :783-794.
- Sandgren CH., Waller KP., Emanuelson UF., 2008. Therapeutic effects of systemic or intramammary antimicrobial treatment of bovine subclinical mastitis during lactation. *Vet. J.* 175:108-117
- Sanz ML., Polemis N., Morales V., Corzo N., Drakoularakou A., Gibson GR., Rastall R A., 2005. In vitro investigation into the potential prebiotic activity of honey oligosaccharides. *Journal of agricultural and food chemistry*,p2914-2921.
- Sauvager, F. 2014 .La propolis : définition, récolte, propriétés et utilisation ,67p.
- Sawant A., Sordillo LM., Jayarao BM., 2005. A survey on antibiotic usage in dairy herds in Pennsylvania. *J. Dairy Sci.* 88:2991-2999.
- Scazzocchio F., D'Auria FD., Alessandrini D., Pantanella F., 2006. Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol Res* 161: 327–33

Références bibliographiques

- Schmit T-Van de Leemputte E., Salat O., 2007. Antibiothérapie raisonnée lors de mammites aiguës. *Le Point Vétérinaire*, 36(252) : 34-36.
- Schnitzler P., Neuner A., Nolkemper S., Zundel C., Nowack H., Sensch KH., Reichling J., 2010. Antiviral activity and mode of action of propolis extracts and selected compounds. *Phytother Res* 24(Suppl 1): S20–S8.
- Schukken YH., Bronzo V., Locatelli C., Pollera C., Rota N., Casula A., Testa F., Scaccabarozzi L., March R., Zalduendo D., Guix R., Moroni P., 2014. Efficacy of vaccination on *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci intramammary infection dynamics in 2 dairy herds. *J. Dairy Sci.* 97, 5250-5264.
- Schweitzer P., 2000. La couleur des miels. Syndicat National D'apiculture.
- Schweitzer P., 2004. Le monde des miellats. *Revue l'abeille de France* N°908 Laboratoire d'analyse et d'Ecologie Apicole, 02p.
- Sedrati T., 2014. Isolement et identification des entérobactéries responsables des mammites cliniques en Algérie. *Magister, E.N.S.V d'El-Harrach*, Alger, p 100.
- Seegers H., Menard JL., Fourichon C., 1997. Mammites en élevage bovin laitier : importance actuelle, épidémiologie et plans de prévention. *Rencontres Rech Ruminants*, 4, 233-242.
- Seegers H., Billon D., Roussel PH., Serieys F., Leguenic M., Baudet H, et al., 2007. Aspects économiques et indications du traitement des antibiotiques non systématique au traitement des vaches laitières. *Journées Nationales des G.T.V.*, Nantes : 753-763.
- 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, 299p
- Sérieys F., Seegers H., 2002. L'intervention du vétérinaire face à un problème de mammites: 2-Adapter les méthodes à l'évolution de l'épidémiologie. *Journées nationales des GTV, Tours. SNGTV, Paris*, 147-156.
- Serieys F., 2003. *Streptococcus uberis*, l'espèce préoccupante. *Le Point Vétérinaire*, 239 p.
- Serieys F., Traitement ciblé des mammites : enjeux et faisabilité. *Point Vet.*, 2004, 35(246), 54-59.
- Sforcin JM., 2016. Biological properties and therapeutic applications of propolis. *Phytother. Res. PTR* 30, 894–905.

Références bibliographiques

- Shyaka A., Kadja M., Kane Y., Kaboret Y., Alambedji RB ., 2010. Diagnostic des mammites cliniques et subcliniques en élevage bovin laitier intensif. Cas de la ferme de Wayembam (Sénégal).
- Silici S., Kutluca S., 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology.*; 99:69–73.
- Silva J.C., Rodrigues S., Feás X., Estevinho L.M., 2012. Antimicrobial activity, phenolic profile and role in the inflammation of propolis. *Food Chem Toxicol.*, **50**: 1790-1795
- Simon A., Traynor K., Santos K., Blaser G., Bode U., Molan P., 2009. Medical honey for wound care--still the 'latest resort'? *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, **6(2)**:165-73.
- Smith B., 2008. Mammary gland health and disorders. Large animal internal medicine. Fourth edition: 1112-1119.
- 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.* 158:353-357.

T

- Tan H ., Rahman R ., Gan S., Halim A., Asma'Hassan S., Sulaiman S., Kirnpal-Kaur B., 2009. The antibacterial properties of Malaysian tualang honey against wound and enteric microorganisms in comparison to manuka honey. *BMC complementary and alternative medicine*, 9(1), 34.
- Tegos G., Stermitz F., Lomovskaya O., Lewis K., 2002. Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 46(10), 3133-3141.
- Torres A., Garedew G., Schmlöz E., Lamprecht I., 2004. «Calorimetric investigation of the antimicrobial action and insight into the chemical properties of “angelita” honey, a production of the stingless bee *Tetragonisca angustula* from Colombia». *Thermochemica Acta*, vol.415, n°1-2, 7, p.107-113.
- Tosi E A., Ciappini M C., Cazzolli A F., Tapiz LM., 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA 41 (2006) PAGE 110-120.*
- Trucheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova V. ,2010. Antibacterial mono- and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis

Références bibliographiques

Chemistry Central journal, 4(1),8.

- Tomczak C., 2010. Utilisation du miel dans le traitement des plaies. Revue Bibliographique Thèse de doctorat vétérinaire, Université Claude Bernard, Lyon.
- Teyssier P., 2005. Le miel : objectif qualité. Fruits & Abeilles, p275-277.

V

- Van de leemput E., 2007. Analyse bactériologique du lait. Conférence organisée par le laboratoire Pfizer pour les vétérinaires en exercice, Nantes.
- Van den Berg AJ. , Van den Worm E., Van Ufford HC., Halkes SB., Hoekstra MJ.,Beukelman CJ., 2008. An in vitro examination of the antioxidant and anti-inflammatory properties of buckwheat honey J. Wound Care. 17(4):172-174.
- Vangroenweghe F., Duchateau L., Boutet P., Lekeux P., Rainard P., Paape MJ., *et al.*, 2005. Effect of carprofen treatment following experimentally induced *Escherichia coli* mastitis in primiparous cows. *Journal of Dairy Science*, p 2361-2376.
- Villard S., 2017. Les infections mammaires chez la vache laitière. Démarche dans le cadre du diagnostic collectif. Thèse pour le Doctorat Vétérinaire. L'université CLAUDE-BERNARD - LYON I, France,110 p.
- 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).

W

- Watts J., Lowery D., Teel J., Rossbach S., 2000. Identification of corynebacterium bovis and other coryneforms isolated from bovine mammary glands. *Journal of Dairy Science*.83 (10):2373-9.

Y

- Yahia Mahammed S., Yahia mahammed W., 2015. Analyses physico-chimique du miel de quelque miel de la wilaya : Ain Defla , Djendel, Bathia , Bourached et Miliana. Mémoire pour l'obtention du diplôme de Master. Université de Bejaia.88p

Références bibliographiques

Z

- Zhang L., Fang Y., Li R., Feng M., Han B., Zhou T., Li J., 2012. Towards posttranslational modification proteome of royal jelly. *J Proteomics*; p41
- Zwald AG., Ruegg PL., Kaneene JB., Warnick LD., Wells SJ., Fossler C., Halbert LW., 2004. Management practices and reported antimicrobial usage on conventional and organic dairy farms. *J. Dairy Sci.*, p191-201.



Université Larbi Tébessi - Tébessa



RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE 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 : Lais Soerjo

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

N° de carte d'étudiant : 131711990

Année universitaire : 2017 / 2018

Domaine : Sciences de la nature et de la vie

Filière : Sciences biologiques

Spécialité : Microbiologie appliquée

Intitulé du mémoire : Etude comparative de l'effet antibactérien de quelques produits de la vieillesse à vie des souches d'Escherichia coli isolées des communautés cliniques tunisiennes

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 : 2018 Jan 19

Signature de l'étudiant(e) :



Université Larbi Tébessi - Tébessa

RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE 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 : *Si Saïd Louil*

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

N° de carte d'étudiant : *34016610 / 2013*

Année universitaire : *2014 / 2015*

Domaine : *Sciences de la nature et de la vie*

Filière : *Sciences biologiques*

Spécialité : *Microbiologie appliquée*

Intitulé du mémoire : *Etude comparative de l'effet antibactérien de quelques produits de la ruche vis-à-vis desouches d'Escherichia coli isolées des mammites 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 *2015* *19*

Signature de l'étudiant(e) :

[Signature]