



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
RÉPUBLIQUE ALGÉRIENNE DÉMOCRATIQUE ET POPULAIRE

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
MINISTÈRE DE L'ENSEIGNEMENT SUPÉRIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE



Université des Frères Mentouri Constantine
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département : Microbiologie

قسم : ميكروبيولوجيا

Mémoire présenté en vue de l'obtention du Diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes

Intitulé :

Identification d'une souche cariogène *Streptococcus sp* et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche

Présenté et soutenu par :

Le : 13 /06/2017

REBAI Hadjer

SAIDI SIEF Chourouk

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI A.

(Pr- UFM Constantine)

Rapporteur : AIT ABDELOUAHAB N.

(MA- UFM Constantine)

Examinatrice : ARABET D.

(MC- UFM Constantine)

Année universitaire
2016 – 2017

A decorative border with a repeating floral motif, featuring stylized flowers and leaves, framing the text.

Remerciements

Avant tout, nous remercions notre Dieu de nous avoir donné la volonté, le courage et la force pour compléter ce travail.

Nous tenons à remercier notre encadreur Mme. Ait Abdelouahab N. maitre assistance à la faculté des sciences de la nature et de la vie de l'université des Frères Mentouri de Constantin pour son aide, sa disponibilité et ses conseils tout au long de ce travail.

Nous tenons à remercier vivement Mr; Hamidchi A. professeur à la faculté des sciences de la nature et de la vie de Constantine, pour l'honneur de présider ce jury.

Nous voudrions à exprimer nos vifs remerciements à Dr; Arabet D. pour accepter d'examiner ce travail.

Nous exprimons nos sincères remerciements au chef de service de bactériologie du Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine Mr; Benlabed K. pour nous avoir accueilli dans son laboratoire.

À toute l'équipe du service de bactériologie au CHU de Constantine et en particulier : Housna et Meriem pour ses aides et ses orientations.

Un grand merci à Mme; Boulkroune R. vraiment les mots ne suffisent pas pour vous exprimer notre remerciements, vous étiez toujours avec nous dès le début de notre travail. Nous n'oublions pas vos encouragements dans les moments difficiles de notre pratique et vos conseils qui nous orientent toujours vers le juste, c'était un grand plaisir de vous connaître, merci beaucoup Mme.

Sans oublier de remercier nos professeurs de la faculté de science de la nature et de la vie pour l'aide précieuse qu'ils nous apportés, en particulier : Dr; Boubekri K. Dr; Bouzeraib L. Dr; Bouchloukh W. et Dr; Sakhri N.

Enfin, un grand merci à nos familles et à toutes les personnes qui nous ont aidé de près ou de loin à l'élaboration de ce travail.

Dédicace

*Je commence au nom de Dieu, tout puissant qui m'a donné
la force, la santé et le courage pour réaliser ce précieux
travail.*

Je dédie ce modeste travail

*À ma chère maman , symbole de sacrifice, de tendresse et
d'amour. Je te remercie pour tout le soutien et l'amour que tu
m'as apportés depuis mon enfance en espérant que ta
bénédictioin m'accompagnera toujours.*

*À mon cher papa que Dieu te fasse miséricorde et t'accorde le
paradis éternel.*

*À mes jolies sœurs : Chams, Riham, Kaouthar et mes chers
frères : Mohsine et Amir.*

*À mon âme sœur Amel qui est toujours avec moi pour me
donner une dose d'espoir et d'optimisme.*

À mes très chères amies : Ahlem, Boutheina et Romaiissa.

À toute ma famille paternelle et maternelle.

*À tous ceux qui me sont chers et à toutes les personnes que
j'aime... À tous ceux qui m'ont aidée de près ou de loin.*

Merci

Chourouk

Dédicace :

Je dédie ce mémoire de fin d'études à :

La personne la plus chère de ma vie, ma mère

Aucun mot, aucune dédicace ne peut exprimer mon attachement, mon amour à toi « mama ». Tu étais toujours avec moi, tes conseils m'ont toujours guidée vers la réussite.

Je n'oublierai pas les sacrifices, les encouragements et le soutien sans faille que tu m'as apportés durant toute la durée de mes études.

A mon cher père

Merci papa pour ton aide, ta patience, ta compréhension et tous tes efforts pour mon éducation et ma formation.

Je vous aime beaucoup mes chers parents et je ferai toujours le maximum pour rester à la hauteur de votre confiance. Que Dieu vous protège.

A mes deux chers frères : « Walid et Imad »

Merci d'être toujours à mes côtés, par votre présence et votre amour.

Mes amies: *Amina, Jamila, Amel, Fatima, Hanen, Alia, Chourouk, Manel, Khawla, Amira et toutes les autres.*

A mes enseignants

Je vous exprime ma profonde gratitude.

Aux familles Rebai et Ounesse.

A toutes les personnes qui me connaissent.

A toute la promotion de Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes 2016/2017.

Hadjer

Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antibactérienne du miel de colza et de la propolis récoltés dans la région de Constantine vis-à-vis d'une bactérie cariogène *Streptococcus sp.* Celle-ci provient d'un prélèvement effectué au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis de Constantine chez un patient atteint d'un abcès dentaire. Pour identifier les principes actifs du miel de colza et de la propolis responsables de leur effet antibactérien sur cette souche, des analyses physico-chimiques ont été effectuées :

- pour le miel, il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH, de l'acidité libre, des teneurs en cendres et en polyphénols.
- concernant la propolis, il s'agit de la mesure du taux de pertes pendant le séchage, du pH, des teneurs en cendres et en polyphénols.

Les résultats obtenus indiquent que le miel de colza a une teneur en eau de 19%, une conductivité électrique de 0,189 mS/cm, un pH de 4,4, une acidité libre de 16 meq/kg, une teneur en cendres de 0,23% et montrent une présence de polyphénols.

La propolis présente un taux de pertes pendant le séchage de 2,5%, un pH de 5,0, une teneur en cendres de 3% et une teneur en polyphénols de 1,2%.

L'évaluation de l'effet antibactérien du miel et de la propolis a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme obtenu à l'aide de la souche isolée et identifiée comme étant *Streptococcus mitis/oralis*) en utilisant des concentrations de miel à 25, 50, 75 et 100% et de la propolis à différents pourcentages d'éthanol : 60, 70, 80 et 95%.

Les résultats obtenus révèlent que le miel de colza présente une faible activité inhibitrice obtenue seulement à la concentration de 25%. Par contre, la propolis a montré une bonne activité inhibitrice aux pourcentages 70, 80 et 95 et particulièrement au pourcentage 95.

Mots clés : miel, propolis, caractéristiques physico-chimiques, effet antibactérien, carie dentaire, bactéries cariogènes.

Abstract

The purpose of our study is to evaluate the antibacterial activity of rapeseed honey and propolis harvested from the Constantine region against a cariogenic bacterium *Streptococcus mitis/oralis* isolated and identified at the University Hospital Center Ibn Badis of Constantine. The isolation of the cariogenic strain was performed from a sample taken in a patient with a tooth abscess. Physico-chemical analyzes were carried out to identify the active ingredients of rapeseed honey and propolis responsible for their antibacterial effects. For honey, these are: water content, electrical conductivity, pH, free acidity, ash content and polyphenol content. In the case of propolis we have made the following analyzes : The rate of losses during drying, pH, ash content and polyphenol content. The results obtained show that rapeseed honey has a water content of 19%, an electrical conductivity of 0.189 mS / cm, a pH of 4,4, a free acidity of 16 meq / kg, an ash content of 0.23 % And a presence of polyphenols. Propolis had a loss rate during drying of 2,5%, a pH of 5,0, a 3% ash content and a polyphenol content of 1.2%. Evaluation of the antibacterial effect was carried out using the agar diffusion method (aromatogram) using 25%, 50%, 75% and 100% honey concentrations and propolis at various percentages Ethanol 60%, 70%, 80% and 95%. The results obtained show that the rapeseed honey exhibits a low inhibitory activity obtained only at a concentration of 25%. On the other hand, propolis showed good inhibitory activity in the percentages 70%, 80% and 95%, and particularly in the percentage 95%.

Key words: honey, propolis, physicochemical characteristics, antibacterial effect, dental caries, cariogenic bacteria.

ملخص

الهدف من دراستنا هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للعسل المستخرج من زهرة الكولزا والبروبوليس التي تم حصادها من منطقة قسنطينة، ضد أحد أنواع البكتيريا المسببة لتسوس الأسنان *Streptococcus mitis/oralis* والتي تم عزلها وتحديد نوعها في المستشفى الجامعي "ابن باديس" بقسنطينة. تم عزل هذه البكتيريا من عينة لمريض مصاب بتسوس الأسنان.

لتحديد المكونات النشطة في العسل والبروبوليس المسؤولة عن تأثيرها المضاد للبكتيريا، قمنا بإجراء مجموعة من التحاليل الفيزيائية والكيميائية.

بالنسبة للعسل قمنا بتحليل محتوى الماء، التوصيل الكهربائي، ودرجة الحموضة، الحموضة الحرة، محتوى الرماد، ومحتوى البوليفينول.

أما بالنسبة للبروبوليس قمنا بالتحاليل التالية : معدل فقدان أثناء التجفيف، درجة الحموضة، محتوى الرماد ومحتوى البوليفينول.

تظهر النتائج أن عسل الكولزا يحتوي على نسبة من ماء تقدر ب 19٪، والتوصيل الكهربائي 0،189 ملي / سم، ودرجة الحموضة 4.4، وحموضة الحرة 16 مل مكافئ / كلغ، أما نسبة محتوى الرماد فتقدر ب 0.23 ٪ بالإضافة إلى وجود مادة البوليفينول.

البروبوليس لديها نسبة فقدان أثناء التجفيف قدرت ب 2.5٪، ودرجة حموضة 5.0، و 3٪ من محتوى الرماد، و 1.2٪ من محتوى البوليفينول.

تم تقييم تأثير العسل والبروبوليس المضاد للبكتيريا عن طريق تقنية الانتشار في الوسط الجيلوزي، وذلك باستخدام عدة تخفيفات من العسل (25٪، 50٪، 75٪ و 100٪) والمستخلص الإيثانولي للبروبوليس (60٪، 70٪، 80٪ و 95٪).

النتائج المتحصل عليها أظهرت أن عسل الكولزا له نشاط منخفض فقط في التركيز 25٪. أما بالنسبة للبروبوليس فقد أظهرت تأثيرا جيدا ضد نمو البكتيريا في جميع نسب التركيز 70 ٪، 80٪ و 95٪ مع كفاءة عالية في النسبة 95٪.

كلمات البحث: العسل، البروبوليس، خصائص فيزيوكيميائية، تأثير مضاد للبكتيريا، تسوس الأسنان، والبكتيريا المسوسة للأسنان.

Liste des abréviations

aw : activité de l'eau.

BCC : bouillon de cœur cervelle.

CI₅₀ : concentration inhibitrice 50%.

EEP : extrait éthanolique de la propolis.

GOX : glucose oxydase.

HMF : hydroxy-méthyl-furfural.

IR : indice de réfraction.

Meq : milliéquivalents.

MH : Mueller Hinton.

PAE : pellicule acquise exogène.

PC1A : la plaque Combo Panel type 1A.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Principaux composants du miel en pourcentage	4
Tableau 2 : Les différents composants de la propolis	9
Tableau 3 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des miels	36
Tableau 4 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques de la propolis	37
Tableau 5 : Sensibilité de <i>Streptococcus mitis/oralis</i> vis-à-vis des antibiotiques testés	39
Tableau 6 : Résultats de l'identification automatisée (la plaque PC1A)	41
Tableau 7 : Les profils de sensibilité aux antibiotiques (la plaque PC1A)	42
Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition de la souche <i>Streptococcus mitis/oralis</i> provoquée par le miel	43
Tableau 9 : Diamètre d'inhibition de la souche <i>Streptococcus mitis/ oralis</i> provoqué par la propolis	45

Liste des figures

Figure 1 : La propolis	8
Figure 2 : Schéma de Keyes	11
Figure 3 : Echantillon de miel de colza et de propolis	20
Figure 4 : Le réactif de Latex A et l'enzyme d'extraction des antigènes StrepSlide II	28
Figure 5 : Préparation des plaques de galeries	29
Figure 6 : Disques de papier Watman n° 3	30
Figure 7 : Concentrations du miel	30
Figure 8 : Extrait éthanolique de la propolis	31
Figure 9 : Mesure de la densité optique à l'aide d'un densitomètre	31
Figure 10 : Ensemencement sur le milieu Mueller Hinton	32
Figure 11 : Miel avant l'ajout de chlorure de fer (FeCl ₃)	35
Figure 12 : Miel après l'ajout de chlorure de fer (FeCl ₃)	35
Figure 13 : Aspect des colonies sur la gélose au chocolat	38
Figure 14 : Aspect microscopique des cellules de <i>Streptococcus mitis/oralis</i>	38
Figure 15 : La sensibilité de la souche <i>Streptococcus mitis/ oralis</i> aux antibiotiques testés	39
Figure 16 : La galerie d'identification automatisée avant incubation	40
Figure 17 : La galerie d'identification automatisée après incubation	40
Figure 18 : Zone d'inhibition de <i>Streptococcus mitis/ oralis</i> provoquée par le miel	43
Figure 19 : Zone d'inhibition de <i>Streptococcus mitis/ oralis</i> provoquée par la propolis	44
Figure 20 : Témoin : L'effet de l'éthanol sur <i>Streptococcus mitis/ oralis</i>	44

SOMMAIRE

Résumés

Liste des abréviations	i
Liste des tableaux	ii
Liste des figures	iii

Introduction	1
---------------------------	----------

Partie I : ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le miel et la propolis	3
1. Le miel	3
1.1. Définition	3
1.2. Production	3
1.3. Composition chimique	4
1.4. Caractéristiques physico-chimiques	4
1.4.1. Densité	4
1.4.2. Viscosité	5
1.4.3. Conductivité électrique	5
1.4.4. Indice de réfraction	5
1.4.5. Potentiel d'hydrogène	5
1.5. Propriétés thérapeutiques	5
1.5.1. Activité anti-oxydante	5
1.5.2. Activité anti-inflammatoire	6
1.5.3. Activité antidiabétique	6
1.5.4. Activité cicatrisante	6
1.5.5. Activité antibactérienne	6
1.6. Miel de colza	6
1.6.1. Origine végétale	7
1.6.2. Principales caractéristiques du miel de colza	7
1.6.3. Vertus thérapeutiques	7
2. La propolis	7

2.1. Définition	7
2.2. Production	8
2.3. Composition chimique	8
2.4. Caractéristiques physico-chimiques	9
2.4.1. Consistance	9
2.4.2. Solubilité	9
2.4.3. Point de fusion	10
2.4.4. Densité	10
2.5. Propriétés thérapeutiques	10
2.5.1. Activité anti-oxydante	10
2.5.2. Activité anti-inflammatoire	10
2.5.3. Activité anticancéreuse	10
2.5.4. Activité cicatrisante	10
2.5.5. Activité antibactérienne	10
II. Action antibactérienne du miel et de la propolis sur les bactéries cariogènes	11
1. L'incidence de la carie dentaire	11
1.1. Définition	11
1.2. Facteur bactérien	12
1.2.1. Biofilm dentaire	12
1.2.2. Les principales bactéries cariogènes	13
1.3. Facteur alimentaire	15
2. L'action antibactérienne du miel sur les bactéries	15
2.1. L'effet osmotique	16
2.2. L'acidité	16
2.3. Le peroxyde d'hydrogène	16
2.4. Le système non peroxyde	17
2.4.1. La bee-defensine 1	17
2.4.2. Le méthylglyoxal	17
3. L'action antibactérienne de la propolis sur les bactéries	18

Partie II : ÉTUDE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes	20
1. Matériel	20
1.1. Miel et propolis	20
1.2. La souche bactérienne	20
1.3. Milieux et bouillons de culture	20
2. Méthodes	20
2.1. Analyses physico-chimiques	21
2.1.1. Analyses physico-chimiques du miel	21
2.1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis	23
2.2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis	26
2.2.1. Souche d'étude	26
2.2.2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur <i>Streptococcus mitis/oralis</i>	29
II. Résultats et discussion	33
1. Analyses physico-chimiques	33
1.1. Analyses physico-chimiques du miel	33
1.1.1. Teneur en eau et indice de réfraction	33
1.1.2. Mesure de la conductivité électrique	33
1.1.3. Détermination du pH	34
1.1.4. Détermination de l'acidité libre	34
1.1.5. Détermination de la teneur en cendres	35
1.1.6. Détermination de la teneur en polyphénols	35
1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis	36
1.2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage	36
1.2.2. Détermination du pH	36
1.2.3. Détermination de la teneur en cendres	37
1.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols	37
2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis	38

2.1. Identification du germe	38
2.1.1. Examen macroscopique	38
2.1.2. Examen microscopique	38
2.1.3. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques	39
2.1.4. Test d'agglutination au latex	40
2.1.5. Identification automatisée par le MicroScan® WalkAway 96	40
2.2. Etude de l'effet antibactérien	42
2.2.1. L'effet antibactérien du miel	43
2.2.2. L'effet antibactérien de la propolis	44
Conclusion	46
Bibliographie	
Annexes	

INTRODUCTION

Introduction

Le miel et la propolis sont deux exemples de substances naturelles produites par les abeilles « *Apis mellifera* », présentant des propriétés thérapeutiques et biologiques significatives (Eslami et *al.*, 2016).

Grâce à leur composition chimique riche en substances actives telles que les flavonoïdes et les composés polyphénoliques, le miel et la propolis possèdent des propriétés médicinales distinctes, y compris antimicrobiennes, la cicatrisation des plaies et des brûlures... (Cuvllier, 2015 ; Wen-Jie et *al.*, 2014).

Récemment, des études ont porté sur l'utilisation de ces propriétés antibactériennes pour traiter différentes maladies, notamment en dentisterie pour prévenir la carie dentaire (El Housseini, 2013 ; Yue Yew, 2015) qui est l'une des maladies chroniques les plus répandues dans le monde et qui est causée par les bactéries de l'espèce *Streptococcus mutans* représentant le principal facteur qui initie les caries et les bactéries du genre *Lactobacillus* impliquées dans le développement ultérieur de la carie. Les caries peuvent également être causées par d'autres espèces, y compris les espèces du groupe mitis (Agrawal et *al.*, 2014) comme : *Streptococcus mitis* et *Streptococcus oralis*.

En conséquence, la plupart des interventions prophylactiques et thérapeutiques visent à réduire la charge bactérienne de telle sorte que la santé bucco-dentaire puisse être maintenue ou obtenue (Waldner-Tomic et *al.*, 2014). Le traitement par des moyens chimiques présente des effets indésirables de colorations dentaires, d'altération du goût, etc... Des résistances bactériennes ont été souvent décrites suite à une utilisation prolongée de ces agents chimiques (Lakhdar, 2015).

Face à ces problèmes, des produits naturels comme le miel et la propolis présentent une alternative souhaitable car ils n'ont généralement pas d'effets secondaires.

L'objectif de notre travail est d'étudier et de comparer l'effet antibactérien du miel de colza et de la propolis récoltés au niveau de la région de Constantine sur une bactérie cariogène *Streptococcus sp.* isolée chez un patient atteint d'un abcès dentaire au niveau du CHU Ibn Badis de Constantine.

Pour réaliser ce travail, nous avons adopté la méthodologie suivante :

- analyses physico-chimiques du miel et de la propolis
- isolement et identification de la bactérie cariogène *Streptococcus sp*
- étude de l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur cette souche par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme).

PARTIE I :
ÉTUDE BIBLIOGRAPHIQUE

I. Généralités sur le miel et la propolis

1. Le miel

1.1. Définition

Le miel est la substance naturelle sucrée produite par les abeilles « *Apis mellifera* » à partir du nectar des plantes ou à partir des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes des plantes. Les abeilles butinent et transforment ces différentes substances en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles sécrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et mûrir dans les rayons de la ruche (Chouia, 2014).

1.2. Production

La fabrication du miel résulte du travail des abeilles appartenant aux Hyménoptères (Irlande, 2010) toutes collectent du nectar et du pollen. De nombreux rôles sont impartis aux abeilles à l'intérieur de la ruche comme gardiennes, ouvrières ou butineuses... Chaque abeille accomplira au cours de sa vie toutes ces fonctions (Chouia, 2014).

Une butineuse effectue entre 20 et 50 voyages par jour, chacun demandant environ 15 minutes. On peut noter en particulier l'importance du rayon d'action moyen qui se situe entre 500 mètres et 2 kilomètres, en plus des conditions climatiques et de la nature du sol. La butineuse prélève le nectar sécrété par des glandes dites nectarifères, ou le miellat (Nair, 2014) excrété par les pucerons des arbres (Nicolaj, 2014).

Durant le retour à la ruche, une enzyme « l'invertase » est sécrétée dans le jabot de la butineuse et s'ajoute au nectar ce qui permet d'hydrolyser le saccharose en glucose et fructose (Balas, 2015). Dans la ruche, la butineuse transfère le nectar « pré-digéré » à des abeilles ouvrières : c'est la trophallaxie (Yue Yew, 2015). D'individu en individu, la teneur en eau s'abaisse en même temps que le liquide s'enrichit de sécrétions salivaires riches en enzymes. Simultanément, d'autres sucres qui n'existent pas au départ sont synthétisés (Balas, 2015). Ensuite, les abeilles stockent le miel dans des cellules, ou alvéoles et augmentent la température de la ruche pour le déshydrater (Nicolaj, 2014). Lorsque la teneur en eau atteint un seuil inférieur à 18%, le miel est alors emmagasiné dans d'autres alvéoles qui, une fois remplies, seront operculées. Le miel est ainsi stocké comme réserve de nourriture (Balas, 2015).

1.3. Composition chimique

La composition du miel est variable et dépend principalement de la source florale. Toutefois, un certain nombre de facteurs externes joue également un rôle, y compris les facteurs saisonniers, environnementaux et de transformation (Afroz et *al.*, 2016). Les différents composants chimiques sont présentés dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Principaux composants du miel en pourcentage (White et *al.*, 1962 cités par Makhloufi, 2011).

	Composants	Pourcentage
Eau	/	17,2
Sucres	Lévuiose (D-Fructose)	38,19
	Dextrose (D-Glucose)	31,28
	Sucrose (Saccharose)	1,31
	Maltose et autres disaccharides réducteurs	7,31
	Sucres supérieurs	1,50
	Sucres totaux	79,59
Acides	gluconique, citrique, malique, succinique, formique, etc...	0,57
Protéines	acide glutamique, alanine, arginine, glycine, leucine, isoleucine, acide aspartique, valine, histidine et lysine	0,26
Cendres	minéraux : potassium, sodium, magnésium, calcium, phosphore, fer, manganèse, cuivre, etc...	0,17
Composants mineurs	Comprenant principalement des pigments, des substances aromatiques, des alcools de sucres, des tanins, des enzymes et des diastases dont l'amylase, la peroxydase, la succino-déshydrogénase, la phosphatase et les invertases. Des vitamines dont la thiamine, la riboflavine, l'acide nicotinique, la vitamine K, l'acide folique et la biotine.	2,21

1.4. Caractéristiques physico-chimiques

Les caractéristiques physico-chimiques du miel varient selon l'origine de la plante et selon la composition des sucres (Rossant, 2011).

1.4.1. Densité

Le miel a une densité relativement élevée qui varie entre 1,40 et 1,45 g/cm³ (Chouia, 2014). C'est une donnée très utile pouvant être utilisée pour mesurer la teneur en eau des miels (Djaafri, 2014).

1.4.2. Viscosité

Elle est conditionnée essentiellement par sa teneur en eau, sa composition chimique et la température à laquelle le miel est conservé (Chouia, 2014).

1.4.3. Conductivité électrique

La conductivité électrique des miels est étroitement liée à la concentration des sels minéraux, des acides organiques et des protéines (Yaiche Achour et *al.*, 2014). Elle permet de distinguer facilement les miels de miellats des miels de nectar, les premiers ayant une conductibilité bien plus élevée que les seconds (Rossant, 2011).

1.4.4. Indice de réfraction

Il oscille entre 1,47 et 1,50 suivant sa teneur en eau à la température de 20°C. Il est souvent utilisé pour déterminer la teneur en eau (Rossant, 2011).

1.4.5. Potentiel d'hydrogène

Le miel est acide et son pH oscille en moyenne entre 3,5 et 6,0 (Rossant, 2011). Il est généralement inférieur à 4,0 dans les miels de nectar, supérieur à 5,0 dans ceux de miellat (Makhloufi, 2011).

1.5. Propriétés thérapeutiques

Le miel était utilisé depuis l'antiquité en cuisine pour sucrer les aliments et il jouait également un rôle en médecine où on l'utilisait pour soigner les brûlures et les plaies (Merabti, 2015).

1.5.1. Activité anti-oxydante

Le miel est riche en anti-oxydants enzymatiques et non-enzymatiques, comme la glucose oxydase, la catalase, l'acide ascorbique, les acides organiques, les produits de la réaction de Maillard, les acides aminés, les protéines et les composés phénoliques (flavonoïdes) (Doukani et *al.*, 2014).

Il existe ainsi un degré élevé de corrélation entre ces substances et la capacité anti-oxydante du miel (Viuda-Martos et *al.*, 2008).

1.5.2. Activité anti-inflammatoire

Les propriétés anti-inflammatoires du miel viennent de ses propriétés anti-oxydantes. Dans le cas où un stimulus inflammatoire persiste, l'activité de phagocytose provoque la libération de radicaux libres qui stimulent la production de cytokines ce qui amplifie la réponse inflammatoire. En neutralisant les radicaux libres, le miel joue un rôle anti-inflammatoire (Gharbi, 2011).

1.5.3. Activité antidiabétique

Le miel agit à plusieurs niveaux de la régularisation de la glycémie. Il participe à la modulation de l'expression de l'insuline en influençant plusieurs facteurs de sa régularisation. Le miel augmente l'expression de l'enzyme Akt qui est impliquée dans la signalisation de l'insuline (Nicolay, 2015).

1.5.4. Activité cicatrisante

C'est l'action synergique des différents composants du miel qui explique son activité cicatrisante par l'apport qu'il fait aux cellules en ressources nécessaires à leur multiplication. Les cellules vont avoir à leur disposition des glucides en grande quantité et des acides aminés nécessaires au métabolisme. Les vitamines et minéraux comme la vitamine C, le fer et le cuivre sont des cofacteurs d'enzymes qui participent, par exemple, à la fabrication des fibres de collagène (Laurent, 2014).

1.5.5. Activité antibactérienne

De nombreuses études ont démontré que le miel présentait une activité antimicrobienne contre les bactéries et les champignons. Cette activité est largement documentée sur les bacilles Gram positifs (Balas, 2015). Elle varie d'un miel à un autre et elle a été longuement traitée par plusieurs auteurs (Nair, 2014).

1.6. Le miel de colza

Le miel de colza est un miel mono floral, blanc paille, avec une granulation fine, peu parfumé ¹, il est encore nommé miel de printemps et miel crémeux ².

1. www.guide-du-miel.com/lesmiels/miel-de-colza.html

2. www.desgoutsetdescouleurs.com/le-miel-de-colza

1.6.1. Origine végétale

Le colza est une plante issue du croisement d'un chou et d'une navette. C'est la cinquième plante oléagineuse cultivée dans le monde (Schweitzer, 2002). Le colza est une culture largement répandue dans le monde, principalement dans les zones tempérées fraîches ³.

1.6.2. Principales caractéristiques du miel de colza

Le miel de colza présente des caractéristiques analytiques bien particulières : il est de coloration claire, possède un goût et un arôme fort (Bogdanov et *al.*, 2007), riche en sucres (plus de glucose que de fructose), assez acide et sa teneur en eau se situe très souvent aux alentours de 18% voire plus (Schweitzer, 2002).

1.6.3. Vertus thérapeutiques

Le miel de colza, comme toutes les autres variétés de miel, est un produit naturel aux multiples vertus thérapeutiques ⁴ :

- il contient de nombreux oligo-éléments, notamment le calcium et le bore recommandé contre les rhumatismes
- il calme les brûlures d'estomac
- il facilite le transit intestinal et soulage les hémorroïdes et les varices
- il démontre un bon effet inhibiteur vis-à-vis des bactéries (Bogdanov et *al.*, 2001).

2. La propolis

2.1. Définition

Le mot « propolis » est d'origine grecque et il signifie « pro = en avant » et « polis = cité », en référence aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche « devant la cité » (El Housseini, 2013).

La propolis est un ingrédient naturel récolté par des abeilles à partir de parties de bourgeons et d'exsudats de plantes (Nam et *al.*, 2016) (Figure 1). Elle est utilisée par les abeilles pour boucher les ouvertures (Blanc, 2010), pour imperméabiliser les parois afin d'éviter une humidité excessive et pour protéger l'entrée contre les intrus (Bruneau, 2015).

3. www.apiculteur.wordpress.com/2008/03/24

4. www.apiculture.net, 2017



Figure 1 : La propolis.

2.2. Production

Pour la production de la propolis, les espèces d'abeilles *Apis mellifera* collectent des résines et des exsudats à partir de plantes (Almeida et *al.*, 2017). Au cours de la collecte, l'abeille sécrète « la glucosidase », enzyme sécrétée par les glandes hypopharyngiennes qui hydrolyse des composés phénoliques tels que les flavonoïdes hétérosides qui seront transformés en flavonoïdes aglycones et en sucres (Najafi et *al.*, 2007).

Durant le retour à la ruche, la résine récoltée est partiellement métabolisée par l'abeille, par l'ajout de sa salive (Krell, 2004). La butineuse de propolis est déchargée de sa récolte par d'autres ouvrières, soit au trou de la ruche, soit le plus souvent à l'endroit même où la substance est utilisée (Ferhoum, 2010).

Cette production varie d'une race à l'autre et d'une colonie à l'autre. La saison, la région géographique et le climat sont également des facteurs qui régissent la récolte et la production de la propolis (Gharbi, 2011).

2.3. Composition chimique

La composition chimique de la propolis est extrêmement complexe. Elle est essentiellement à base de cire, résine et produits volatiles. La cire est sécrétée par les abeilles, les deux autres composants proviennent des sécrétions des plantes butinées lors de la collecte de la propolis (Marcucci, 1995). Cette composition est bien détaillée dans le Tableau 2.

Tableau 2 : Les différents composants de la propolis.

Composants	Caractéristiques
Flavonoïdes	Sont des constituants majeurs qui contribuent largement aux activités pharmacologiques de la propolis (Cui-ping et <i>al.</i> , 2014).
Terpénoïdes	Sont des substances volatiles, présentant une odeur résineuse caractéristique. Elles contribuent aux effets pharmacologiques de la propolis et présentent des activités anti-oxydantes, antimicrobiennes et biologiques (Huang et <i>al.</i> , 2014).
Polyphénols	On trouve principalement l'acide caféique, l'acide cinnamique, l'acide et alcool benzoïque et l'acide férulique (El Housseini, 2013).
Glucides	Sont ceux qui constituent les grains de pollen. Ils ne représentent qu'une infime proportion (Gharbi, 2011).
Hydrocarbures	Sont d'autres composants de base de la propolis, on distingue : les alcanes, les alcènes, les alcadiènes, les monoesters, les diesters, les esters aromatiques, les acides gras et les stéroïdes (Huang et <i>al.</i> , 2014).
Eléments minéraux	Il s'agit des éléments traces (Ca, K, Mg, Na, Al, B, Ba, Cr, Fe, Mn, Ni, Sr et Zn) et des éléments toxiques (As, Cd, Hg et Pb) (Cvek et <i>al.</i> , 2007).

2.4. Caractéristiques physico-chimiques

La propolis est récoltée sur une grande variété d'arbres et d'arbustes. Chaque région et chaque colonie, semble avoir ses propres sources de résine préférées. Ce qui explique la grande variation de la couleur et de l'odeur de la propolis ainsi que de sa composition (Ferhoum, 2010).

2.4.1. Consistance

La propolis est molle à 30°C. Elle est dure et cassante en dessous de 15°C, coulante et gluante entre 30°C et 60°C (Ferhoum, 2011).

2.4.2. Solubilité

La propolis est soluble de façon partielle dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme, le benzène etc... (Ferhoum, 2010). La meilleure solubilité est obtenue avec les mélanges éthanol-chloroforme ou éthanol-toluène en fonction des proportions (Nicolay, 2014).

2.4.3. Point de fusion

Le point de fusion est variable, il se situe vers 60 à 70°C en moyenne mais peut atteindre 100°C et plus (Krell, 2004).

2.4.4. Densité

La densité de la propolis est de l'ordre de 1,11 à 1,14 (Nicolaj, 2014).

2.5. Propriétés thérapeutiques

L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques de la propolis. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique (Segueni, 2011).

2.5.1. Activité anti-oxydante

La propolis a une activité anti-oxydante due à sa composition en phénols et flavonoïdes (Nicolaj, 2014). Ces deux composants sont capables de casser les réactions en chaîne sur les lipides et d'inhiber les réactions de chimio-luminescence (Marquele et *al.*, 2005).

2.5.2. Activité anti-inflammatoire

L'effet anti-inflammatoire de la propolis, proche de l'aspirine, est dose-dépendant. Les extraits aqueux donnent de meilleurs résultats. Les flavonoïdes en sont responsables (Gharbi, 2011) et semblent provoquer la disparition des douleurs et gonflements (De Bodt, 2005).

2.5.3. Activité anticancéreuse

La propolis a un effet cytotoxique qui permet d'inhiber les cellules tumorales Hela avec une CI₅₀ de 7,45 µg/ml (Ferhoum, 2010).

2.5.4. Activité cicatrisante

Les acides phénoliques et certains acides aminés sont des acteurs incontestables de la cicatrisation et de la régénération des cellules (Gharbi, 2011).

2.5.5. Activité antibactérienne

La propolis est connue pour son activité antibiotique, de nombreuses études le démontrent (Nicolaj, 2014). Son action est puissante, elle agit, en effet, sur plusieurs genres bactériens et donc son spectre antibactérien est large (Gharbi, 2011).

II. Action antibactérienne du miel et de la propolis sur les bactéries cariogènes

1. L'incidence de la carie dentaire

1.1. Définition

Étymologiquement, le mot carie dentaire provient du latin carie qui signifie pourriture (Courson et *al.*, 1998). C'est une maladie bactérienne chronique multifactorielle à germes non spécifiques qui affecte les tissus durs de la dent (Parente, 2015) sous l'action d'acides organiques issus du métabolisme des sucres fermentescibles par les bactéries cariogènes de la plaque dentaire (Yue Yew, 2015).

La carie dentaire résulte ainsi de l'interaction de quatre facteurs décrits par Keyes en Figure 2 :

- une alimentation contenant des hydrates de carbone fermentescibles
- un hôte susceptible
- une microflore buccale spécifique
- le temps durant lequel ces trois facteurs sont réunis en bouche pour interagir et provoquer une baisse du pH sous le seuil de 5,5 auquel les cristaux d'hydroxyapatite commencent à se dissoudre (Galmiche, 2011).

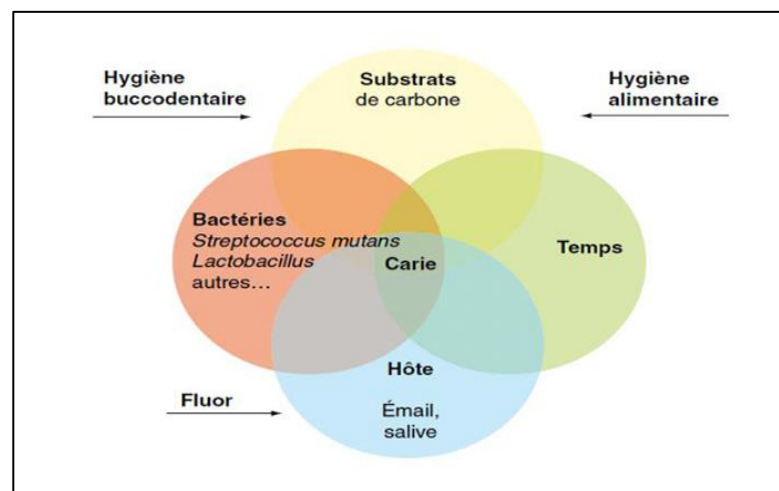


Figure 2 : Schéma de Keyes (Newburn, 1978).

1.2. Facteur bactérien

1.2.1. Biofilm dentaire

Etymologiquement, le terme « biofilm » vient du grec «bios» = vie et de l'anglais «film» = pellicule (Simain et *al.*, 2010).

Le biofilm dentaire, ou plaque bactérienne est un agrégat mou et blanchâtre qui se dépose en quelques heures sur les surfaces dentaires (naturelles, obturées ou prothétiques) et gingivales, en l'absence d'un brossage efficace (Tibi, 2010). Il est constitué d'une fraction cellulaire bactérienne majoritaire : environ 70 % (Yue Yew, 2015) où l'on compte 10^8 à 10^9 bactéries par mg de plaque (Berger, 2010) et d'une fraction acellulaire ou matrice soit 30 % qui est constituée de polysaccharides (extracellulaires et intracellulaires), de protéines, de lipides, d'oligo-éléments et d'éléments minéraux (Simain et *al.*, 2010). Celle-ci sert de structure, mais également de réserve en sucres (Veilleux, 2016).

Quatre étapes sont décrites lors de la formation d'un biofilm en général et d'un biofilm dentaire en particulier (Simain et *al.*, 2010) :

1.2.1.1. Formation de la pellicule acquise exogène (PAE)

La pellicule acquise exogène est un film protéique d'origine salivaire qui apparaît spontanément et naturellement à la surface des dents quelques minutes après le brossage (Yue Yew, 2015). Elle est exempte de microbes et formée par l'adsorption sélective sur la surface de l'émail dentaire de certains constituants de la salive et des glycoprotéines salivaires (Courson et *al.*, 1998). Son épaisseur varie de $0,1\mu\text{m}$ à $1\mu\text{m}$ ⁵.

1.2.1.2. Colonisation bactérienne

Les bactéries adhèrent à la surface dentaire par l'intermédiaire de la pellicule exogène acquise (Berger, 2010). Seul un nombre restreint de bactéries a la capacité de s'attacher directement à la PAE, essentiellement les Streptocoques du groupe *mitis* (*Streptococcus sanguis*, *gordonii*, *oralis* et *mitis*) et *Actinomyces naeslund* (Yue Yew, 2015). Cette adhérence se déroule en deux phases : une phase réversible, il s'agit d'un phénomène de surface permettant le rapprochement de deux corps selon divers processus plus ou moins intenses (Berger, 2010), puis une phase irréversible (Yue Yew, 2015) qui implique des interactions entre les adhésines qui sont des molécules spécifiques à la surface des cellules microbiennes et des molécules complémentaires présentes dans la pellicule exogène acquise (Houvion, 2014).

1.2.1.3. Maturation du biofilm

Les bactéries colonisatrices secondaires viennent recouvrir les bactéries pionnières de la colonisation par une co-adhésion (d'une bactérie libre sur une déjà fixée) ou co-agrégation (entre deux bactéries libres) (Berger, 2010).

Les cellules bactériennes fixées sur les surfaces des dents produisent des polymères extracellulaires tels que les hydrates de carbone complexes et les acides nucléiques. Ces hydrates de carbone forment une matrice protectrice (Houvion, 2014) qui augmente en épaisseur avec des modifications de gradients d'oxygène, de substrats, voire de pH (Simain et al., 2010). Ainsi, après plusieurs heures, la diminution du taux d'oxygène permet notamment le développement d'espèces anaérobies à Gram négatif appelées aussi colonisateurs secondaires tardifs : *Fusobacterium*, *Haemophilus*, *Porphyromonas*, *Veillonella*, *Prevotella*, *Treponema*... (Yue Yew, 2015).

1.2.1.4. Détachement cellulaire

Les conditions physico-chimiques environnementales vont amener certaines bactéries à se détacher du biofilm. En effet, le nombre croissant de bactéries et la dégradation enzymatique induisent un appauvrissement des ressources nutritives (Yue Yew, 2015) et favorisent le détachement des bactéries qui quittent la structure tridimensionnelle et contaminent d'autres sites constituant de véritables réservoirs de bactéries pathogènes (Simain et al., 2010).

1.2.2. Les principales bactéries cariogènes

La cavité buccale est un écosystème en perpétuelle évolution. Elle est la partie de l'organisme humain hébergeant l'une des flores microbiennes les plus diversifiées, organisée en une structure complexe appelée « biofilm » (Bellair, 2015). Les principales bactéries responsables de la carie sont :

- *Streptococcus mutans* : carie des faces lisses et proximales
- *Streptococcus mutans* et *Lactobacilles* : carie des sillons
- *Actinomyces viscosus* et *naeslundii* : carie radiculaire et colonisation de la dentine et de la racine
- Lactobacilles : colonisation de la dentine et de la racine.

La colonisation des dents commence par les streptocoques puis les actinomycètes et finalement les lactobacilles. La prédominance bactérienne varie par rapport à la profondeur de la lésion (Peluchonneau, 2011).

1.2.2.1. Les streptocoques

Les streptocoques sont des cocci à Gram positif, de 0,7 à 0,9 μm de diamètre, typiquement organisés en chaînettes. Ils sont immobiles, non sporulés, non encapsulés, catalase négative, aérobie-anaérobies facultatifs (Yue Yew, 2015) et représentent environ la moitié de la population de la salive et du dos de la langue et quelques 25% de la plaque et du sulcus gingival (Bourassa, 2004).

Les streptocoques buccaux se développent naturellement sous la forme de biofilm, constituant ainsi un ensemble de diverses communautés microbiennes attachées aux dents et aux muqueuses (Nicolas et *al.*, 2011). Ils sont organisés en quatre groupes : *mutans*, *salivarius*, *anginosus* et *mitis* (Boujemaa-Azzi, 2015). *Streptococcus mutans* est la plus virulente des espèces bactériennes de la plaque, responsable du plus grand nombre de caries des puits et des fissures ainsi que des surfaces lisses (Peluchonneau, 2011). D'autres espèces de groupe *mitis* sont aussi impliquées dans la formation de la plaque dentaire, y compris :

- *Streptococcus mitis* qui est une espèce alpha-hémolytique mésophile, se trouve le plus souvent dans la gorge, le nasopharynx et la bouche humaine. Il peut provoquer une endocardite infectieuse (Lamas et *al.*, 2003).
- *Streptococcus oralis* qui est une bactérie commensale, se trouve dans la cavité buccale humaine et il est capable de pathogénicité opportuniste. C'est une bactérie alpha-hémolytique (Reichmann et *al.*, 2011).

1.2.2.2. Les lactobacilles

Les lactobacilles sont des bacilles à Gram positif, catalase négative, aéro-anaérobies facultatifs, (Yue Yew, 2015). Ils ont une faible capacité à se lier à la pellicule entourant l'émail ce qui leur interdit tout rôle dans la lésion initiale de celui-ci (Peluchonneau, 2011).

1.2.2.3. Les actinomycètes

Ce sont des bacilles polymorphes de 0,2 à 1 μm de diamètre et de longueur variable, non mobiles, non sporulés et non alcool-acido-résistants (Chardin et *al.*, 2006).

Deux espèces majeures : *Actinomyces viscosus* et *Actinomyces naeslundii* colonisent la surface des dents et il semblerait que *A. viscosus* domine dans les caries radiculaires (Samot, 2012).

1.3. Facteur alimentaire

Il existe une corrélation directe entre l'alimentation et les problèmes carieux (Pillon, 2010). Le potentiel cariogénique d'un aliment est lié à sa teneur en hydrates de carbone fermentescibles tels que le saccharose, le glucose, le fructose, le maltose et le lactose (Yue Yew, 2015). Le saccharose est considéré comme le carbohydrate le plus cariogène car (Cury et *al.*, 2003) :

- il constitue la forme sucrée la plus courante
- il est facilement fermentescible en acides organiques par les bactéries de la plaque dentaire
- il favorise la colonisation de la cavité buccale par *S.mutans*
- il augmente la quantité de la plaque en servant de substrat par production de polysaccharides extracellulaires (Courson et *al.*, 1998).

D'autres facteurs vont influencer le potentiel cariogénique d'un aliment : son pH, son action sur le flux salivaire, sa nature physique (taille des particules, consistance, texture, viscosité) et son temps de rétention en bouche (Yue Yew, 2015).

2. L'action antibactérienne du miel sur les bactéries

L'activité antibactérienne du miel a été signalée pour la première fois en 1892 par Van Ketel (Al-Naama, 2009). Plusieurs études ont été ensuite menées afin d'expliquer les facteurs impliqués dans cette activité (Yue Yew, 2015).

L'activité antibactérienne a été attribuée à certains facteurs comme l'osmolarité élevée (a_w faible), l'acidité (pH bas) (Manyi-Loh et *al.*, 2011) ainsi qu'à la présence de plusieurs composants antibactériens appelés encore « inhibines » (Yue Yew, 2015).

L'eau oxygénée H_2O_2 appelée aussi peroxyde d'hydrogène, est considérée comme la principale inhibine contenue dans le miel (Bogdanov et *al.*, 2001).

Il existe d'autres substances antibactériennes hormis le peroxyde d'hydrogène avec différentes origines chimiques comme les acides aromatiques, les flavonoïdes (Balas, 2015) et plus récemment, le méthylglyoxal (retrouvé en particulier dans le miel de Manuka) et la bee-défensine 1 (Yue Yew, 2015).

2.1. L'effet osmotique

Le miel est une solution sursaturée de sucres, il est hypertonique (Gharbi, 2011). Ceci provoque une déshydratation osmotique ce qui laisse très peu de molécules d'eau disponibles pour les microorganismes (Balas, 2015). L'effet osmotique provoque la lyse des membranes bactériennes entraînant leur destruction (Laurent, 2014).

L'eau libre disponible pour les microorganismes est mesurée comme étant l'activité de l'eau (a_w). Les valeurs moyennes pour le miel ont été rapportées de 0,56 à 0,62 (Olaitan et al., 2007). De nombreuses espèces bactériennes ont leur croissance complètement inhibée pour une activité de l'eau comprise entre 0,94 et 0,99. Cela signifie que ces espèces ne pourraient pas se développer au sein d'un miel non dilué (Rossant, 2011). Le miel constitue donc un environnement médiocre pour la croissance bactérienne (Cortes et al., 2011).

2.2. L'acidité

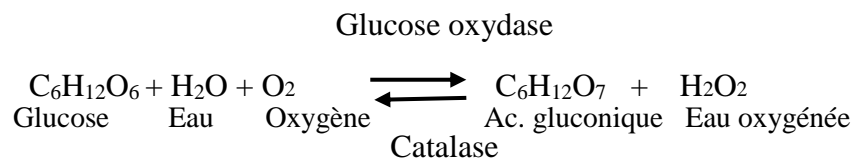
Le pH du miel varie de 3,9 à 6,0 en moyenne (Laurent, 2014). Cette acidité est due principalement à la teneur en gluconolactone / acide gluconique présente en raison de l'action enzymatique dans le nectar de maturation. Les valeurs moyennes rapportées chez le miel vont de 0,23 à 0,98% (Molan, 1992).

Le faible pH seul est inhibiteur de nombreuses bactéries pathogènes (Khan et al., 2014), les valeurs minimales de pH pour la croissance de certaines espèces pathogènes courantes sont pour *Escherichia coli* (4,3), pour *Salmonella spp* (4,0), pour *Pseudomonas aeruginosa* (4,4) et pour *Streptococcus pyogenes* (4,5) (Olaitan et al., 2007).

2.3. Le peroxyde d'hydrogène

La production de peroxyde d'hydrogène et d'acide gluconique résulte de l'oxydation de l'eau et du glucose par la glucose oxydase (Balas, 2015).

La glucose oxydase est une enzyme sécrétée par les glandes hypopharyngiennes des abeilles (Yue Yew, 2015) lors de la transformation du nectar en miel qui permet la réaction suivante (Rossant, 2011) :



Pendant la maturation du miel, la glucose oxydase est inactivée mais elle reprend son activité lorsque le miel est dilué (Paulus et *al.*, 2012).

Le peroxyde d'hydrogène est connu pour avoir des propriétés antimicrobiennes et il existe beaucoup de preuves pour suggérer que c'est ce composé qui confère une activité antimicrobienne au miel (Molan, 1992).

La catalase représente l'antagoniste de la glucose oxydase. Cette enzyme également présente dans de nombreux miels réduit l'eau oxygénée (Bogdanov et *al.*, 2001).

Les niveaux de H₂O₂ dans le miel dépendent des taux relatifs de sa production par la glucose oxydase (GOX) et de son hydrolyse en présence de catalase d'origine pollinique. La production constante de H₂O₂ dans le miel dilué produit un effet antiseptique durable (Faustino et *al.*, 2015).

2.4. Le système non peroxyde

Les facteurs non peroxydes sont nombreux et ne sont pas tous identifiés. On retrouve le méthylglyoxal, la bee-defensine 1, la pinocembime, l'acide syringique, l'acide 2-hydroxyphényl-propionique, le 1,4-dihydroxybenzène, des flavonoïdes et autres composés polyphénoliques (Gharbi, 2011).

Ces facteurs sont présents de manière variable selon les plantes butinées et sont beaucoup moins sensibles à la lumière, à la chaleur et à la durée du stockage, contrairement aux composants à activité peroxyde (Balas, 2015).

2.4.1. La bee-defensine 1

Il s'agit d'une protéine fabriquée par les glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles. Elle est retrouvée dans le miel et la gelée royale (Rossant, 2011).

Elle a une activité puissante mais seulement contre les bactéries Gram positives, y compris *B. subtilis*, *S. aureus* et *Paenibacillus larvae* (Paulus et *al.*, 2012).

2.4.2. Le méthylglyoxal

Le méthylglyoxal a été largement trouvé dans le miel de Manuka à des niveaux élevés qui peuvent atteindre des concentrations de 828 mg / kg par rapport à environ 24 mg / kg dans d'autres miels (Faustino et *al.*, 2015).

C'est un kétoaldéhyde formé par une dégradation non enzymatique de la dihydroxy acétone (DHA) présente à des concentrations exceptionnellement élevées dans le nectar de la fleur *L. scoparium* (Paulus et *al.*, 2012).

3. L'action antibactérienne de la propolis sur les bactéries

L'activité antimicrobienne de la propolis contre un large éventail de bactéries, de champignons et de virus a été étudiée depuis la fin des années 1940 et a montré une activité variable contre différents microorganismes (Temiz et *al.*, 2011). La propolis a attiré beaucoup d'attention ces dernières années comme une substance utile appliquée dans la médecine, même si elle est connue en médecine populaire depuis l'Antiquité. Sa propriété antimicrobienne a été largement étudiée, confirmant ses activités antibactérienne, antivirale, antifongique et antiprotozoaire (Sforcin et *al.*, 2000).

Les composants de la propolis remontent aux arbres d'origine et varient en fonction de la saison et de la source à partir de laquelle les résines ont été collectées. Les propriétés antimicrobiennes de ce mélange de substances naturelles sont principalement attribuées à l'avanone pinocembrine, à l'avanol galangine et à l'ester phénylique de l'acide caféique (Bosio et *al.*, 2000).

Le mécanisme de l'activité antimicrobienne de la propolis est complexe et est probablement impliqué dans l'inhibition de l'ARN polymérase bactérienne (Koru et *al.*, 2007). Cette action est essentiellement due aux flavonoïdes, à certaines molécules aromatiques et à l'acide cinnamique. Donc, la propolis inhibe la croissance bactérienne en empêchant l'activité enzymatique et la division cellulaire (Nam et *al.*, 2016).

D'après une étude japonaise, la propolis inhiberait la croissance microbienne en bloquant la division cellulaire et en détruisant la paroi bactérienne et ceci principalement au niveau des bactéries à Gram positif (El Housseini, 2013). Son spectre antibactérien est très large, elle agit sur les staphylocoques (*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline), les streptocoques (*Streptococcus mutans* impliqué dans les caries dentaires), *Helicobacter pylori*, les *Bacillus*, les salmonelles ou encore les microcoques (Blanc, 2010).

Pour être considéré comme un bon antiseptique oral pour la prévention des caries, la propolis doit posséder certaines propriétés importantes :

- une capacité à interférer avec une ou plusieurs étapes du développement des caries
- une non-toxicité pour les cellules hôtes
- une activité résiduelle durable
- ne pas provoquer un déséquilibre significatif dans la flore buccale (El Housseini, 2013).

Plusieurs études ont révélé que la substance propolis des agents naturels peut inhiber le métabolisme bactérien, ce qui entraîne des propriétés antibactériennes (Nam et *al.*, 2016).

Liberio et *al.* cités par El Housseini (2013), ont publié une étude en 2009 portant sur les effets de la propolis sur *Streptococcus mutans* et évoquant son potentiel ou celui de ses composés comme agents cariostatiques. Ces derniers ont contribué au développement de produits biotechnologiques pour contrôler les caries et d'autres maladies infectieuses.

PARTIE II :
ETUDE EXPERIMENTALE

I. Matériel et méthodes

1. Matériel

1.1. Miel et propolis

Les échantillons de miel et de propolis figurés dans la Figure 3 ont été récoltés par un apiculteur de la région de Constantine en Mai 2016 et ont été conservés dans des récipients en verre hermétiquement fermés à température ambiante.



Figure 3 : Echantillon de miel de colza et de Propolis.

1.2. La souche bactérienne

La bactérie utilisée dans cette étude a été isolée et identifiée au niveau du laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn badis de Constantine.

1.3. Milieux de culture

Les milieux utilisés sont les suivants :

- le milieu gélose au chocolat
- le milieu de Mueller Hinton au chocolat (MH)
- l'eau physiologique à 0,9 %
- le bouillon BCC.

2. Méthodes

Ce travail a été réalisé au niveau du laboratoire de biochimie de la faculté SNV (Université des Frères Mentouri Constantine 1), pendant une période de deux mois, du 27 mars au 27 mai et au niveau du laboratoire de bactériologie du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn badis de Constantine durant une période d'un mois, du 26 février 2017 au 26 mars 2017.

2.1. Analyses physico-chimiques

Cette étude correspond à une analyse de quelques paramètres physico-chimiques du miel de colza et de la propolis qui sont responsables pour la plupart de l'effet antibactérien.

- Pour le miel de colza, il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH et de l'acidité libre, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols.
- Pour la propolis, il s'agit du teneur de pertes pendant le séchage, du pH, de la teneur en cendres et du teneur des polyphénols.

2.1.1. Analyses physico-chimiques du miel

2.1.1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

La teneur en eau est déterminée par la mesure de l'indice de réfraction (IR) à 20°C à l'aide d'un réfractomètre (Amri et *al.*, 2007).

Le réfractomètre est réglé à 20°C, il est étalonné avec de l'eau distillée. L'échantillon de miel est mis dans un flacon fermé placé au bain-marie à 50°C jusqu'à ce que les cristaux de sucre soient dissouts.

Après refroidissement à une température ambiante, une goutte de miel est déposée et étalée en couche mince sur la platine du prisme. La lecture est faite à travers l'oculaire au niveau de la ligne horizontale de partage entre la zone claire et la zone obscure.

L'indice est affiché après 2 minutes et les résultats obtenus sont portés sur la table de Chataway (Annexe 1) qui indique la teneur en eau correspondante.

2.1.1.2. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique d'une solution de miel est mesurée par un conductimètre à 20°C qui se traduit par la quantité de particules chargées présentes dans le miel et leur mobilité, l'unité de mesure est le « mS/cm⁻¹ » (Mekiouse et *al.*, 2015).

Dix grammes de miel sont dissouts dans un 50 ml d'eau distillée. Après homogénéisation, la solution est placée au bain marie à 20°C. Pour déterminer la conductivité électrique, l'électrode du conductimètre est plongée dans la solution (lorsque la température est à 20°C ± 0,5°C).

2.1.1.3. Détermination du pH

Le pH est mesuré à l'aide d'un pH mètre calibré par des solutions standards sur une solution de miel à 10%.

Dans un petit bécher, 10g de miel sont délayés dans 75 ml d'eau distillée. L'électrode propre et sèche est plongée dans la solution du miel à analyser sous agitation magnétique. La valeur du pH est ensuite affichée sur l'écran.

2.1.1.4. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre est obtenue par la neutralisation de 25 ml de solution de miel avec NaOH (0,05N) et en déterminant graphiquement le pH du point équivalent E sur la courbe de neutralisation du miel (Rajoelina, 2008).

Un échantillon de 5 g de miel est dilué dans 50 ml d'eau distillée. 25 ml de cette solution est titrée avec de l'hydroxyde de sodium à 0,05 N. Le pH sera noté après chaque addition de soude qui au début est de 0,2 ml puis de 0,1 ml dès que les variations de pH deviendront plus importantes. Le point équivalent E est déterminé à partir d'une courbe de neutralisation figurée en Annexe 2, où le pH est sur l'axe des ordonnées et les volumes d'hydroxyde de sodium NaOH sur l'axe des abscisses.

L'acidité libre est déterminée à partir la formule suivante :

$$\text{Acidité libre (meq/kg)} = (1000.V.N)/M$$

V : volume en millilitres d'hydroxyde de sodium versé pour atteindre le pH du point équivalent E lors de la neutralisation du miel.

N : normalité de NaOH.

M : prise d'essais en grammes.

2.1.1.5. Détermination de la teneur en cendres

Les cendres brutes sont obtenues par incinération des matières organiques à 550°C. Elles contiennent tous les éléments minéraux (Rajoelina, 2008). Ces mesures ont été exprimées en pourcentage (Doukani et *al.*, 2015).

Les capsules d'incinération vides étant pesées, 5 g de miel sont ajoutés et les capsules sont soumises à la température de 550°C dans un four à moufles pendant 3 heures.

Après incinération, les capsules contenant les cendres refroidies sont mises dans un dessiccateur puis pesées.

La teneur des cendres brutes est obtenue à partir de la formule :

$$C\% = [(m_1 - m_2)/m_0].100$$

C% : teneur en cendres brutes.

m_0 : masse en grammes de la capsule d'incinération vide.

m_1 : masse en grammes de la capsule d'incinération munie de l'échantillon avant incinération.

m_2 : masse en grammes de la capsule d'incinération munie de cendres après incinération.

La matière sèche est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - C\%$$

2.1.1.6. Détermination de la teneur en polyphénols

La mise en évidence de polyphénols se fait par le chlorure de fer (FeCl_3) avec formation éventuelle de précipité (Makhloufi, 2011).

Deux grammes de miel sont pesés dans un verre de montre et introduits dans une étuve à une température inférieure à 50°C pour liquéfier le miel. Cette prise d'essais du miel est mélangée avec 6 gouttes de FeCl_3 (9g/100ml). La formation d'un précipité violet/noir indique la présence de polyphénols.

2.1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis

2.1.2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage

Le taux de pertes pendant le séchage, c'est-à-dire l'eau et les matières volatiles est déterminé sur une partie aliquote de 1 g d'échantillon coupé en petits morceaux dans une capsule en porcelaine puis séché dans une étuve réglée à une température de 103°C \pm 2°C jusqu'à l'obtention d'un poids constant (Ferhoum, 2010).

Les capsules vides sont séchées à l'étuve durant 15 minutes à $103 \pm 2^\circ\text{C}$, après refroidissement, elles sont mises dans le dessiccateur puis sont pesées.

Un gramme d'échantillon préalablement coupé en petit morceaux est pesé dans les capsules et placé dans l'étuve réglée à $103 \pm 2^\circ\text{C}$ pendant 3 heures. Les capsules sont retirées de l'étuve, refroidies puis placées dans le dessiccateur et sont pesées. L'opération est répétée jusqu'à l'obtention d'un poids constant (en réduisant la durée de séchage à 30 minutes).

La teneur en eau est déterminée selon la formule :

$$\text{H\%} = [(m_1 - m_2) \cdot 100] / P$$

H% : humidité + matière volatiles.

m_1 : masse de la capsule + matière fraîche avant séchage en g.

m_2 : masse de l'ensemble après séchage en g.

P : masse de la prise d'essai en g.

La matière sèche est obtenue selon la formule suivante :

$$\text{Matière sèche \%} = 100 - \text{H \%}$$

2.1.2.2. Détermination du pH

Il s'agit de la détermination en unités de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de la propolis découpée en petits morceaux (Ferhoum, 2010).

Une prise d'essais de la propolis coupée en petits morceaux est mélangée dans un bécher avec trois fois son volume d'eau distillée. Après un chauffage au bain-marie pendant 30 minutes et en remuant de temps en temps avec une baguette de verre. Le mélange obtenu est filtré. Pour la détermination du pH l'électrode soit complètement immergée dans la solution.

2.1.2.3. Détermination de la teneur en cendres

La propolis brute est coupée en petits morceaux puis calcinée à 550°C dans un four à moufles jusqu'à l'obtention d'une cendre blanchâtre de poids constant (Ferhoum, 2010).

Deux grammes de propolis coupée en petits morceaux dans les capsules en porcelaine sont placés dans un four à moufle réglé à $550 \pm 15^\circ\text{C}$ pendant 5 heures jusqu'à l'obtention d'une couleur grise, claire ou blanchâtre. Les capsules sont ensuite retirées du four et refroidies, placées dans un dessiccateur, puis pesées.

La proportion de cendres brutes est obtenue à partir de la formule :

$$\text{MO}\% = [(m_1 - m_2) \cdot 100] / P$$

MO% : matière organique.

m_1 : masse de capsules + prise d'essais.

m_2 : masse des capsules + cendres.

P : masse de la prise d'essais.

La teneur en cendres (Cd) est calculée comme suit :

$$\text{Cd} = 100 - \text{MO}\%$$

2.1.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols

Pour déterminer le pourcentage des polyphénols, des solutions d'alcool éthylique et d'acétate de plomb à 10% sont rajoutés à une quantité d'extrait éthanolique de propolis précédemment pesée. Ensuite, le mélange est filtré sur un papier filtre déjà pesé et maintenu à température constante à 50°C et ensuite pesé (Tagliacollo et *al.*, 2011).

Deux et demi millilitres d'extrait éthanolique de la propolis (0,5 g de propolis dans 5 ml d'éthanol) sont pesés (P_1), ils sont ensuite mélangés avec 7 ml d'alcool éthylique et 0,5 ml d'acétate de plomb à 10%.

Après ce temps, le mélange est filtré à travers un filtre précédemment pesé (P_2) et maintenu à température ambiante pendant 12 heures. Le papier filtre est ensuite placé dans un four à température constante à 50 °C pendant une heure et pesé à nouveau (P_3).

Le pourcentage de composés phénoliques a été déterminé en utilisant l'équation suivante :

$$\text{Polyphénols (\%)} = [(P_3 - P_1)].100/P_2$$

P₁ : masse de l'extrait éthanolique de la propolis en g.

P₂ : masse de papier filtre avant filtration.

P₃ : masse de papier filtre après filtration et séchage.

2.2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis

2.2.1. Souche d'étude

2.2.1.1. Origine de la souche

Le recueil de la souche d'étude est réalisé au laboratoire de bactériologie de l'hôpital Ibn badis de Constantine et obtenu à partir d'un prélèvement de pus dentaire effectué chez un patient atteint d'un abcès dentaire.

2.2.1.2. Isolement et culture

L'écouvillon portant le pus dentaire est mis dans un tube de bouillon BCC, après quelques minutes, des ensemencements sur les milieux gélose au chocolat et gélose Hektoen sont réalisés. L'incubation est effectuée dans une étuve à 37°C pendant 24 heures.

Des repiquages successifs sont effectués sur le milieu d'isolement d'origine pour confirmer la pureté de la souche.

2.2.1.3. Identification du germe

a) Examen macroscopique

L'examen macroscopique des cultures est le premier examen effectué à partir de l'isolement après incubation. Il permet de voir l'aspect des colonies et d'effectuer une première caractérisation.

b) Examen microscopique

L'examen microscopique se fait après une coloration de Gram (Annexe 3) qui permet d'identifier la forme, le mode de groupement et le type de Gram (positif ou négatif).

c) Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité de la souche étudiée est testée vis-à-vis de différents antibiotiques, selon la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion sur gélose Mueller Hinton selon les recommandations du CLSI (Clinical laboratory standards institute) (Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle nationale, en collaboration avec l'OMS, 2011).

Principe

Des disques pré-imprégnés d'une dose connue d'antibiotiques à tester sont déposés sur un milieu gélosé préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à tester. Chaque antibiotique diffuse au sein de la gélose du disque et y détermine des concentrations inversement proportionnelles à la distance du disque. Après 24 heures d'incubation à 37°C à l'étuve, les disques sont entourés d'une zone d'inhibition circulaire dont le diamètre permet de dire du germe qu'il est soit sensible, soit résistant ou intermédiaire à l'antibiotique testé.

Préparation de l'inoculum

A partir d'une culture pure de 20 à 24 heures sur gélose au chocolat, des colonies bien isolées et parfaitement identiques sont raclées à l'aide d'un écouvillon et déposées dans un tube de 9 ml d'eau physiologique stérile à 0,9%. L'opacité de cette suspension bactérienne doit être équivalente à 0.5 Mc Farland ou à une DO de 0.8 à 0.10 lue à 625 mm. L'ensemencement se fait dans les 15 minutes qui suivent la préparation de l'inoculum.

Ensemencement

A l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans la suspension bactérienne et déchargé au maximum, frotter la totalité de la surface gélosée sèche en haut et en bas en stries serrées. L'opération est répétée deux fois en entourant la boîte de 60°C à chaque fois sans oublier de faire pivoter l'écouvillon sur lui-même. Finir l'ensemencement en passant l'écouvillon sur la périphérie de la gélose. Les boîtes sont laissées ouvertes à température ambiante environ 15 minutes pour sécher puis les disques sont déposés à la surface de la boîte en appuyant légèrement à l'aide d'une pince stérile. L'incubation se fait dans l'étuve pendant 18 à 24 heures à 37°C.

Lecture

A l'aide d'un pied à coulisse métallique, le diamètre de la zone d'inhibition de la croissance bactérienne est mesuré avec précision. Les résultats obtenus sont comparés avec les valeurs critiques figurant dans la table de lecture en Annexe 4. Après la comparaison, la bactérie est classée dans l'une des catégories : Sensible, Intermédiaire ou Résistante.

d) Test d'agglutination au latex

Après culture, les colonies isolées des streptocoques sont prélevées et placées dans un tube contenant l'enzyme d'extraction (Figure 4b). L'antigène spécifique du groupe contenu dans la paroi est extrait par une enzyme et identifié par des particules de latex sensibilisées par un anticorps anti-antigène du groupe des streptocoques. Si l'antigène est présent, le réactif latex correspondant (Figure 4a) s'agglutine. Si l'antigène est absent, le réactif latex reste en suspension homogène (Joffin, 1998).

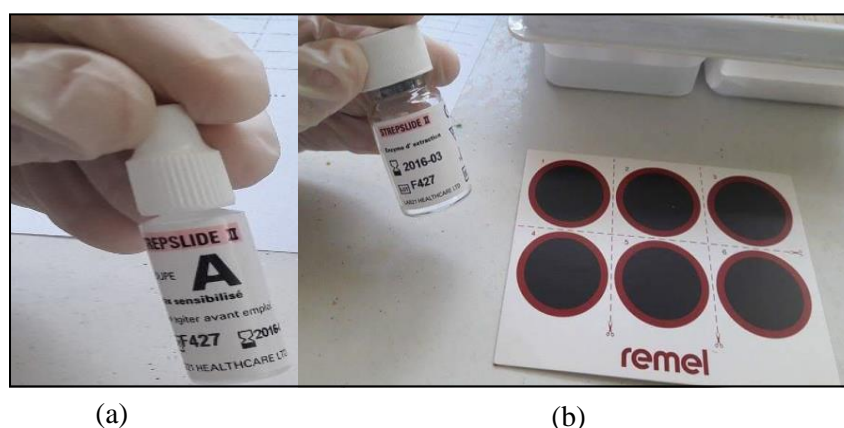


Figure 4 : Le réactif de Latex A (a) et l'enzyme d'extraction des antigènes Strepslide II (b).

Préparation de l'extrait

A partir des cultures sur milieu solide, 3 à 5 colonies pures sont prélevées et émulsionnées dans 0,4 ml d'enzyme d'extraction puis mélangées à l'aide d'un agitateur de type Vortex et incubées 10 minutes à 37°C.

Groupage

Après avoir ramené les réactifs à température ambiante et homogénéisé les suspensions de latex, une goutte de chacun des tubes de latex est déposée dans les emplacements correspondants. A côté de chaque goutte de latex, une goutte (15 µl) d'extrait est déposée.

Le mélange de ces dernières est réalisé par un bâtonnet suivi par un mouvement de rotation de la carte pendant 2 minutes maximum.

L'observation de l'apparition d'agglutination se fait en éclairage normal sans utilisation de la loupe.

e) Identification automatisée par le MicroScan® WalkAway 96

Les plaques MicroScan® pour Gram positifs sont conçues pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques et/ou l'identification au niveau de l'espèce des cocci Gram positifs à croissance rapide. L'identification est basée sur la détection des modifications du pH, sur l'utilisation du substrat et sur la croissance en présence d'antibiotiques. La lecture des résultats se fait après une incubation de 16 à 20 heures à 35°C.

Une colonie fraîche bien isolée est prélevée par l'aiguille du bouchon du tube et mise dans le tube contenant l'eau physiologique stérile. Après homogénéisation, la suspension obtenue est versée dans un bassin vide, agitée et prélevée par le micro-agitateur puis versée dans la plaque de la galerie (Figure 5). Après fermeture de la plaque à l'aide du couvercle, l'incubation se fait dans le MicroScan® WalkAway pendant 20 heures.

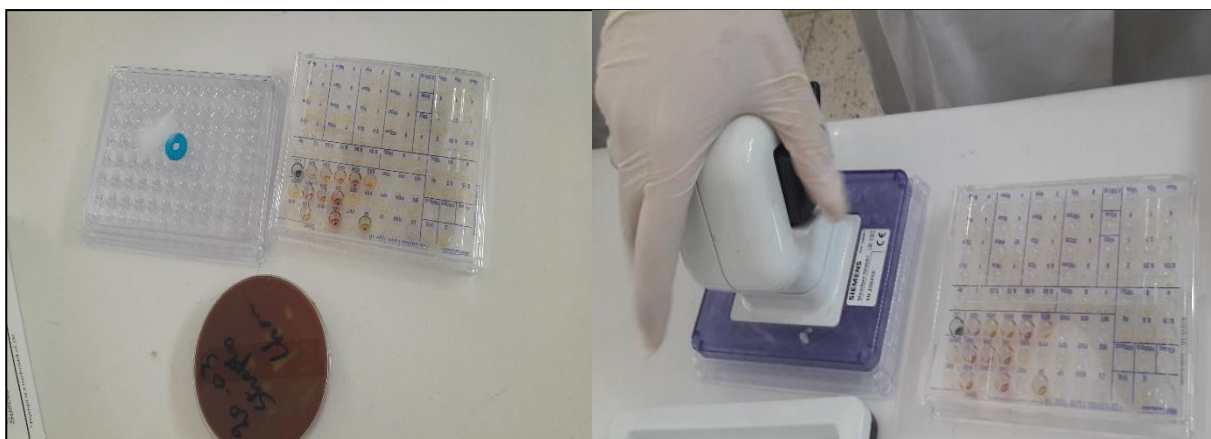


Figure 5 : Préparation des plaques de galeries.

2.2.2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis sur

Streptococcus mitis/oralis

2.2.2.1. Préparation des disques

Les antibiotiques habituellement testés existent sous forme de disques de 6 mm de diamètre. Pour reproduire les mêmes conditions, nous avons utilisé le papier Watman n° 3, coupé en disques de 6 mm de diamètre (Figure 6). Ces derniers doivent avoir un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer (Segueni, 2011). Ensuite, les disques sont stérilisés par autoclavage à 120°C pendant 15 minutes (Zeghad, 2009).



Figure 6 : Disques de papier Watman n° 3.

2.2.2.2. Préparation des concentrations du miel

Pour tester l'effet du miel sur notre souche, quatre concentrations de miel ont été préparées : 25%, 50%, 75% et 100% présentées dans la Figure 7 (Nair, 2014).

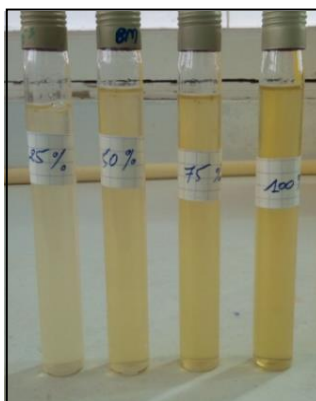


Figure 7 : Concentrations du miel.

2.2.2.3. Préparation de l'extrait éthanolique de la propolis

L'extraction des substances bioactives de la propolis est réalisée par macération de la propolis dans l'éthanol à 60%, 70%, 80% et 95% (Figure 8).

La propolis est additionnée de dix volumes de solvant de son poids (ainsi 5 ml de solvant sont ajoutés à 0,5 g de propolis). Le mélange est laissé pour macération pendant une semaine avec agitation de temps en temps.

Après macération le mélange est chauffé au bain-marie à 70°C pendant 30 minutes puis filtré, l'extrait obtenu est appelé extrait éthanolique de propolis (EEP). L'EEP est conservé au réfrigérateur à 4°C.



Figure 8 : Extrait éthanolique de la propolis.

2.2.2.4. Préparation de la suspension bactérienne

La suspension bactérienne est préparée à partir d'une pré-culture de 18 heures à 37°C sur gélose au chocolat. Quelques colonies sont prélevées à l'anse de platine et maintenues dans une eau physiologique à 0,9%. Son opacité doit être équivalente à 0,5 Mc Farland (Figure 9). L'inoculum peut être ajusté en ajoutant de la culture s'il est trop dilué ou bien de l'eau physiologique s'il est trop dense.



Figure 9 : Mesure de la densité optique à l'aide d'un densitomètre.

2.2.2.5. Réalisation de l'aromatogramme

L'évaluation du pouvoir antimicrobien du miel et de la propolis est réalisée par la technique de diffusion en gélose : Méthode des aromagrammes.

Celle-ci repose sur le pouvoir migratoire de ces deux produits naturels à l'intérieur d'une boîte de Pétri dans un milieu nutritif solide (Nair, 2014).

Le milieu de culture utilisé est la gélose de Mueller Hinton au chocolat (4 mm d'épaisseur) en surfusion et coulée dans la boîte de Pétri.

Après 15 minutes de préparation d'inoculum, l'ensemencement se fait par des stries serrées sur la surface du milieu à l'aide d'un écouvillon trempé dans la suspension bactérienne et déchargé au maximum (Figure 10). Cette opération est répétée deux fois en tournant la boîte de 60°C à chaque fois.

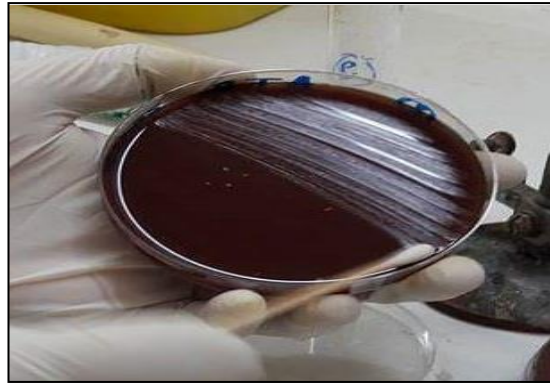


Figure 10 : Ensemencement sur le milieu Mueller Hinton.

Les géloses sont séchées à une température ambiante pour éliminer le surplus d'eau puis les disques pré-imprégnés par 100 µl de concentrations du miel (25%, 50%, 75% et 100%) et celles de la propolis (60%, 70%, 80% et 95%) sont déposés à la surface du milieu en appuyant légèrement avec l'anse de platine stérile. Ensuite, les boîtes sont incubées dans l'étuve à 37°C pendant 24 heures. Après l'incubation, les diamètres des zones d'inhibition sont mesurés à l'aide d'un pied à coulisse ou une règle.

II. Résultats et discussion

1. Analyses physico-chimiques

1.1. Analyses physico-chimiques du miel

1.1.1. Teneur en eau et indice de réfraction

La teneur en eau est un paramètre lié au degré de maturité, il est responsable de la stabilité du miel lors de l'entreposage (Yaiche Achour et *al.*, 2014).

La valeur moyenne de la teneur en eau de notre miel est de 19% avec un indice de réfraction de 1,4890. Cette valeur est conforme aux normes préconisées par le Codex Alimentarius qui ne dépasse pas 21% en général.

La teneur en eau de notre échantillon de miel est comparable avec l'intervalle des résultats obtenus par Mbogning et *al.* (2011) à savoir de 16% à 35% sur un ensemble de miels du Cameroun et avec celle de miels marocains de 19% obtenue par Belhaj et *al.* (2015). Mais elle est différente des résultats obtenus par Mekious et *al.* (2015) qui varient de 13,07% à 15,56% sur des échantillons de miel de Djelfa.

La variation de la teneur en eau est due aux différentes conditions environnementales telles que : le climat, l'origine florale, la teneur en eau des nectars et les conditions de stockage (Doukani et *al.*, 2014).

1.1.2. Mesure de la conductivité électrique

La conductivité électrique représente un bon critère pour la détermination de l'origine botanique du miel (Mekiouse et *al.*, 2015). Elle dépend étroitement de la teneur en minéraux (Achouri et *al.*, 2015).

La conductivité électrique de notre échantillon de miel est de 0,189 mS/cm, cette valeur correspond à celle rapportée par le Codex Alimentarius qui préconise des valeurs inférieures à 0,8mS/cm pour les miels de nectar et supérieures à 0,8 mS/cm pour les miels de miellat.

La conductivité électrique de notre échantillon de miel rentre dans l'intervalle des résultats obtenus sur des miels algériens par Nabti et *al.* (2016) c'est-à-dire 0,186 à 0,248 mS/cm et sur des miels des Émirats Arabes Unis par Achouri et *al.* (2015) c'est-à-dire 0,230 à 1,990 mS/cm.

La variabilité des résultats est due à la fluctuation des concentrations en sels minéraux, en acides organiques et en protéines (Nair, 2014).

1.1.3. Détermination du pH

Le pH est très important lors de l'extraction et du stockage du miel car il influence la texture, la stabilité et la durée de la conservation (Rebiai et *al.*, 2015).

Les miels de nectar ont un pH faible (de 3,3 à 4,5) tandis que les miels de miellat ont un pH un peu plus élevé (Pesenti et *al.*, 2008).

La valeur moyenne du pH de notre échantillon de miel est de 4,4 donc notre miel est acide et répond aux normes du Codex Alimentarius.

Cette valeur est dans l'intervalle des résultats obtenu par Meda et *al.* (2005) à savoir 3,5 à 4,7 sur des miels de Burkina Faso et par Laouar et *al.* (2017) à savoir 3,5 à 4,5 sur un ensemble de miels du Nord-Est algérien.

La variation du pH est probablement due à la flore butinée, à la sécrétion salivaire de l'abeille et aux processus enzymatiques et fermentatifs pendant la transformation de la matière première (Belhaj et *al.*, 2015).

1.1.4. Détermination de l'acidité libre

L'acidité libre du miel est le contenu de tous les acides libres (Chouia, 2014).

La valeur moyenne de l'acidité de notre miel est de 16 meq/kg. Selon les normes internationales du Codex Alimentarius (2001), l'acidité libre du miel ne doit pas dépasser 50 milliéquivalents d'acide par 1000 g. Notre miel est donc conforme aux normes préconisées.

L'acidité de notre échantillon de miel est comparable aux résultats obtenus par Laouar et *al.* (2017) présentant un intervalle de 10,16 à 28,03 meq/kg sur un ensemble de miels du Nord-Est algérien, ainsi que ceux obtenus par Achouri et *al.* (2015) à savoir 8,30 à 36,70 meq/kg sur des miels des Emirats Arabes Unis.

La variation de l'acidité dans les différents miels peut être attribuée à l'origine florale ou à la saison de la récolte (Doukani et *al.*, 2014).

1.1.5. Détermination de la teneur en cendres

La teneur en cendres est un paramètre utilisé pour déterminer l'origine du miel : botanique (floral), miel ou mixte (Laouar et *al.*, 2017).

La teneur en cendres de notre échantillon de miel est de 0,23%, avec un taux de matière sèche de 99,77%. Cette valeur est conforme avec celle préconisée par le Codex Alimentarius qui est égale ou inférieure à 0,8%.

Ce résultat rentre dans l'intervalle de teneur en cendres trouvé par Doukani et *al.* (2014) sur des miels algériens (0,09 à 0,45 %) et dans celui obtenu par Belhaj et *al.* (2015) sur des miels marocains (0,13 à 0,33 %).

La variation de la teneur en cendres peut s'expliquer par les procédés de récolte et les matériels collectés par les abeilles lors de la recherche de nourriture (Belhaj et *al.*, 2015)

Selon le Codex Alimentarius, les miels qui ont une teneur en cendres inférieure à 0,6% sont des miels de nectar et ceux qui ont une valeur inférieure à 1% sont des miels de miellat. Notre résultat confirme donc que notre échantillon de miel est de nectar.

1.1.6. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols font partie des groupes de composés naturels importants, de haut intérêt thérapeutique (Djossou et *al.*, 2013).

Selon Makhloufi (2011), l'apparition d'un précipité noir dans notre échantillon de miel indique la présence de polyphénols (Figures 11 et 12).

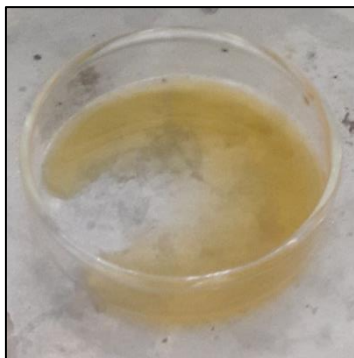


Figure 11 : Miel avant l'ajout de chlorure de fer (FeCl_3).



Figure 12 : Miel après l'ajout de chlorure de fer (FeCl_3).

Tableau 3 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques des miels

	Miel de colza (Constantine)	Codex Alimentarius	Miels algériens	Miels étrangers
Teneur en eau (%)	19	≤ 21	13,07 – 15,56	16 - 35 (Cameroun) 19,7 (Maroc)
Conductivité électrique (mS/cm)	0,189	$< 0,8$	0,186 – 0,248	0,23 - 1,99 (E.A.U)
pH	4,4	Acide	3,5 - 4,5	3,5 - 4,7 (Burkina Faso)
Acidité libre (meq/kg)	16	< 50	10, 16 – 28,03	8,3 – 36,7 (E.A.U)
Cendres (%)	0,23	$\leq 0,8$	0,09 – 0,45	0,13 – 0,33 (Maroc)

1.2. Analyses physico-chimiques de la propolis

1.2.1. Détermination du taux de pertes pendant le séchage

La valeur moyenne de teneur en pertes pendant le séchage de notre propolis est de 2,50%, avec une matière sèche de 97,50%. On constate que notre propolis est très pauvre en eau et matières volatiles, ce qui explique sa structure solide.

Notre résultat est dans l'intervalle du taux de pertes pendant le séchage trouvé par Ferhoum (2010) sur un ensemble du propolis algériennes de différentes régions (1,26 à 3,89%) et par Tosi et *al.* (2006) sur la propolis d'Argentine (1,40 à 6,20%). La variation des valeurs peut s'expliquer par les conditions de stockage ainsi que les conditions climatiques (Ferhoum, 2010).

1.2.2. Détermination du pH

L'échantillon de propolis a montré un pH de (5,0) donc il est acide. Cette acidité est due à sa composition riche en acides aromatiques et en acides aliphatiques (Ferhoum, 2010).

Ferhoum en 2010 a trouvé un pH de l'ordre de 4,5 soit une différence de 0,5 unité de pH avec nos résultats.

1.2.3. Détermination de la teneur en cendres

La teneur moyenne en cendres de notre échantillon est de 3%, avec un taux de matière organique de 97%.

Notre résultat est comparable aux résultats obtenus par Ferhoum (2010) qui a trouvé que les échantillons de propolis algériens montrent une teneur en cendres variant de 1,58% à 5,32%. Mais on note une différence sensible avec la propolis d'Argentine analysée par Tosi et *al.* (2006) présentant un intervalle de valeurs allant de 1,8 à 2,4%.

1.2.4. Détermination de la teneur en polyphénols

Les polyphénols sont les constituants chimiques responsables de l'activité biologique de la propolis. D'après une étude réalisée en 2007 sur des échantillons de propolis de peupliers de différents pays du monde, la concentration moyenne en acides phénoliques est de 28 % (Amigou, 2016).

Le pourcentage de polyphénols trouvé dans notre échantillon de propolis est de 1,2 %. Il est conforme à la quantité minimale de composés phénoliques présents dans l'EEP qui est de 0,50% préconisé par la norme Tropic (Tagliacollo et *al.*, 2011).

Ce pourcentage est faible par rapport aux valeurs trouvées par Tagliacollo et *al.* (2011) à savoir un pourcentage de polyphénols présents dans l'EEP situé entre 1,9 à 14,76%.

Tableau 4 : Tableau comparatif des paramètres physico-chimiques de la propolis.

	Propolis (Constantine)	Propolis algériennes	Propolis Argentine
Taux de perte pendant le séchage (%)	2,5	1,26 – 3,89	1,40 – 6,20
Ph	5,0	4,24 – 4,66	/
Cendres (%)	3,0	1,58 – 5,32	1,80 – 2,40
Teneur en polyphénols (%)	1,2	/	1,9 – 14,76

2. Détermination de l'effet antibactérien du miel et de la propolis

2.1. Identification du germe

2.1.1. Examen macroscopique

- **Sur le milieu gélose Hektoen** : absence de croissance.
- **Sur le milieu gélose au chocolat** : apparition de petites colonies, de couleur jaune, entourées par une zone d'hémolyse moins claire et de couleur verdâtre, hémolyse incomplète (hémolyse alpha) (Figure 13).



Figure 13 : Aspect des colonies sur la gélose au chocolat.

2.1.2. Examen microscopique

L'examen microscopique après coloration de Gram, nous a permis de voir un aspect de diplocoques, de couleur violette, c'est une bactérie à Gram positif (Figure 14).

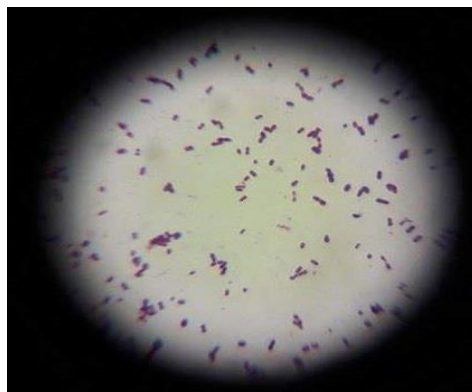


Figure 14 : Aspect microscopique des cellules de *Streptococcus mitis/oralis* (Grossissement X100).

2.1.3. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Les résultats de l'antibiogramme obtenus sont reportés sur la Figure 15 et le Tableau 5.

Les profils de résistance obtenus montrent que la souche étudiée est sensible aux neufs antibiotiques avec une haute sensibilité à l'antibiotique chloramphénicol.



Figure 15 : Sensibilité de la souche *Streptococcus mitis/oralis* aux antibiotiques testés.

Tableau 5 : Sensibilité de *Streptococcus mitis/oralis* vis-à-vis des antibiotiques testés.

Antibiotiques	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	Sensibilité de la souche
Penicilline	15	R
Amoxicilline	24	S
Cefazoline	26	S
Cefotaxime	25	S
Imipéneme	28	S
Fosfomycine	26	S
Erythromycine	12	R
Spiramycine	10	R
Lincomycine	7	R
Pristinamycine	24	S
Tetracycline	10	R
Sulfamethoxazole Trimetoprim	9	R
Rifampicine	28	S
Vancomycine	20	S
Pefloxacine	6	R
Chloramphenicol	30	S

R : Résistance, S : Sensible

2.1.4. Test d'agglutination au latex

Les résultats obtenus montrent une absence d'agglutination avec les groupes de streptocoques A, B, C, D, E et F. Selon la classification de Lancefield la souche étudiée est dépourvue de l'antigène de la paroi (substance C), cela veut dire que notre souche appartient au groupe de streptocoques non groupables.

2.1.5. Identification par l'automate MicroScan® WalkAway 96

• Identification et antibiogramme des streptocoques par la plaque Combo Panel type 1A

Les résultats obtenus sont présentés dans les Figures 16 et 17 et les Tableaux 6 et 7 après incubation de la souche pendant 20 heures.

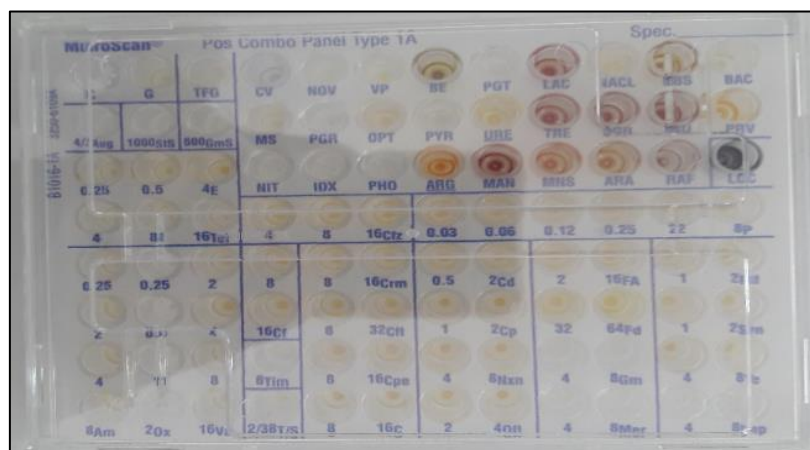


Figure 16 : La galerie d'identification automatisée avant incubation.

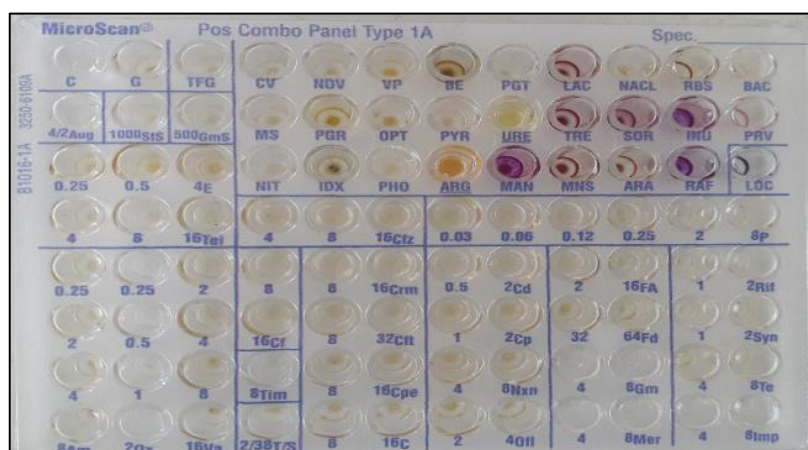


Figure 17 : La galerie d'identification automatisée après incubation.

Tableau 6 : Résultats de l'identification automatisée (la plaque PC1A).

Puits	Résultats	Discussion
Cristal violet (CV)	-	Résistance au colorant = faible concentration ionique
Dépistage des microcoques (MS)	+	Trouble lié à la croissance
Nitrate (NIT)	+	Présence du nitrate réductase
PNP-β-D-Glucuronide (PGR)	+	Présence de la β-glucuronidase
Indoxyl Phosphate (IDX)	+	Présence de l'indoxyl phosphatase
Voges-Proskauer (VP)	-	Absence du butanediol et l'acétoïne
Phosphate (PHO)	+	Présence de la phosphatase
Bile esculine 40% (BE)	+	Hydrolyse de l'esculine en esculetine en présence de la bile
L-pyrrolidonyl-b-naphthylamide (PYR)	-	Absence de pyrrolidonyl peptidase
Pyruvate (PRV)	-	Pas de dégradation de pyruvate
Arginine (ARG)	-	Absence de l'arginine dihydrolase
PNP-β-D-Galactopyranoside (PGT)	+	Présence de la β-galactosidase
Urée (URE)	-	Absence de l'uréase
Mannitol (MAN)	+	Dégradation de sucre = acidification
Lactose (LAC)	+	
Tréhalose (TRE)	-	Pas de dégradation du sucre = absence d'acidification
Mannose (MNS)	-	
Sorbitol (SOR)	-	
Arabinose (ARA)	-	
Ribose (RBS)	-	
Raffinose (RAF)	-	
Inuline (INU)	-	
Chlorure de sodium 6,5% (NaCl)	+	
Novobiocine (NOV)	-	Sensibilité
Bacitracine (BAC)	-	
Optochine (OPT)	+	Résistance
Puits de croissance sans thymidine (TFG)	+	Bactérie non exigeante

Tableau 7 : Les profils de sensibilité aux antibiotiques (la plaque PC1A).

Antibiotique	CMI (µg/ml)	Résultat	Discussion
Péniciline (P)	0,03 - 0,25	-	Sensible
	2 - 8	+	Résistante
Céfazoline (Cfz)	4 - 16	-	Sensible
Rifampicine (Rif)	1	+	Résistante
	2	-	Sensible
Synercide (Syn)	1 - 2	-	Sensible
Tétracycline (Te)	4	+	Résistante
	8	-	Sensible
Imipénème (Imp)	4 - 8	-	Sensible
Nitrofurantoïne (Fd)	32 - 64	+	Résistance
Ac. fusidique (FA)	2	-	Sensible
	16	+	Résistante
Gentamicine (Gm)	4 - 8	-	Sensible
Meropénème (Mer)	4 - 8	-	Sensible
Clindamycine (Cd)	0,5 - 2	-	Sensible
Ciprofloxacine (Cp)	1 - 2	+	Résistante
Norfloxacine (Nxn)	4 - 8	+	Résistante
Ofloxacine (Ofl)	2 - 4	+	Résistante
Céfuroxime axétil (Crm)	8 - 16	-	Sensible
Céfotaxime (Cft)	8 - 32	+	Résistante
Céfépime (Cpe)	8 - 16	+	Résistante
Chloramphénicol (C)	8 - 16	+	Résistante
Céfaloïne (Cf)	8 - 16	-	Sensible
Triméthoprim/Sulfaméthoxazole (T/S)	2/38	+	Résistante
Amoxicilline (Aug)	4/2	-	Sensible
Ampiciline (Am)	0,25 - 8	+	Résistante
Erythromycine (E)	0,25 - 4	+	Résistante
Teicoplanine (Tei)	4 - 8	+	Résistante
	16	-	Sensible
Ticarcilline (Tim)	8	-	Sensible
Vancomycine (Va)	2 - 4	-	Sensible
	8 - 16	+	Résistante
Oxacilline (Ox)	0,25 - 2	-	Sensible

Le résultat obtenu par l'automate MicroScan® WalkAway 96 montre que la souche étudiée est *Streptococcus mitis/otalis*.

2.2. Etude de l'effet antibactérien

Le miel et la propolis sont des produits naturels qui possèdent des propriétés thérapeutiques et antibactériennes. Le but de notre étude est d'évaluer leurs activités antibactériennes sur une bactérie cariogène : *Streptococcus mitis/oralis*.

L'évaluation de cette activité est basée sur la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues à différentes concentrations. Une bactérie est considérée comme étant sensible si le diamètre de la zone d'inhibition est supérieur à 8 mm (Ahmed *et al.*, 2012).

2.2.1. L'effet antibactérien du miel

Les disques imprégnés de 100 µl de différentes concentrations du miel à 25%, 50%, 75% et 100% sont testés sur la souche *Streptococcus mitis/oralis*.

Les résultats de sensibilité de la souche au miel sont présentés dans la Figure 18 et le Tableau 8.

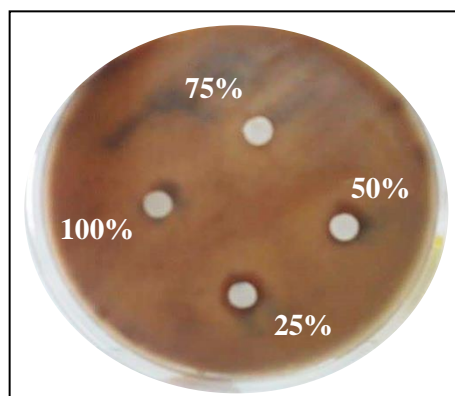


Figure 18 : Zone d'inhibition de *Streptococcus mitis/oralis* provoquée par le miel.

Tableau 8 : Diamètre de la zone d'inhibition de la souche *Streptococcus mitis/oralis* provoquée par le miel.

Dilution du miel	25%	50%	75%	100%
Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	10	7,5	< 6	< 6

Si le diamètre d'inhibition est inférieur à 6 mm, il y a absence d'inhibition.

D'après ces résultats, on constate que la souche étudiée est sensible au miel testé à la concentration de 25% et résistante aux concentrations de 50%, 75% et 100%. Donc cette activité inhibitrice est plus importante à la concentration la plus faible (25%). Autrement dit, cette dilution la plus élevée pourrait stimuler l'oxydation du glucose contenu dans le miel et par conséquent la production de peroxyde d'hydrogène qui est le principal composant inhibiteur.

Ce résultat est en accord avec ceux obtenus par Basson et *al.* (1994) qui montrent que la sensibilité des souches *Streptococcus mitis* et *Streptococcus oralis* est obtenue aux concentrations les plus faibles à savoir 7% et 12% respectivement.

Cette différence au niveau de la concentration la plus efficace peut être due au type de miel utilisé et à sa composition qui est influencée par plusieurs facteurs tels que : la nature du sol, la race des abeilles et l'état physiologique de la colonie (Merah et *al.*, 2010). D'autres facteurs peuvent influencer la composition du miel comme : l'origine florale de l'alimentation, le climat de l'environnement, la saison de l'élevage de l'abeille et de la production du miel, le mode d'extraction du miel, la durée et les conditions de conservation. Ces dernières telles que la température et la lumière influencent l'activité des enzymes du miel et leur efficacité (Nair, 2014).

Plusieurs facteurs sont attribués au pouvoir antimicrobien du miel : sa haute osmolarité, son faible pH, sa teneur en peroxyde d'hydrogène (Khan et *al.*, 2014) et d'autres agents chimiques antioxydants, volatils, flavonoïdes, cire d'abeille, pollen de nectar et propolis (Ahmadi- Motamayel et *al.*, 2013).

2.2.2. L'effet antibactérien de la propolis

Les disques imprégnés de 100 µl d'extrait éthanolique de propolis à 60%, 70%, 80% et 95% sont testés sur la souche *Streptococcus mitis/oralis*. Les diamètres d'inhibition sont présentés dans la Figure 19 et le Tableau 9.

Les disques témoins ont été imprégnés à l'aide de différentes concentrations en éthanol (60%, 70%, 80% et 95%) et testés sur la souche *Streptococcus mitis/oralis* (Figure 20).

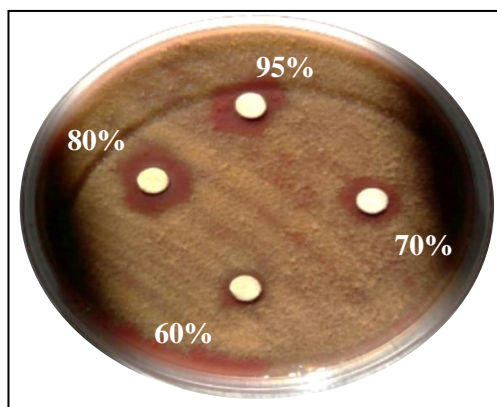


Figure 19 : Zone d'inhibition de *Streptococcus mitis/ oralis* provoquée par la propolis.

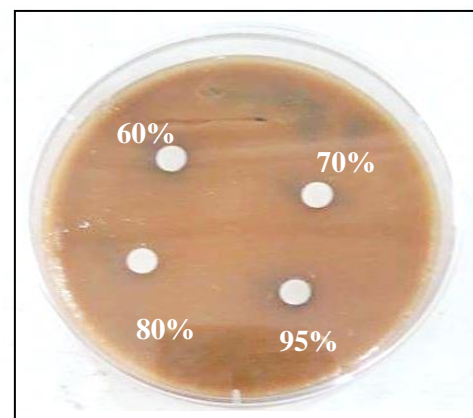


Figure 20 : Témoin : effet de l'éthanol sur *Streptococcus mitis/ oralis*.

Tableau 9 : Diamètre d'inhibition de la souche *Streptococcus mitis/ oralis* provoqué par la propolis.

Extrait éthanolique de la propolis	60%	70%	80%	95%
Diamètre de la zone d'inhibition (mm)	7,5	12	17	20,3

Dans l'étude de l'activité antibactérienne de la propolis nous avons utilisé l'éthanol comme solvant à différents pourcentages car il a la capacité de solubiliser les composants actifs de celle-ci, de plus qu'il s'évapore facilement (Krell, 2004).

L'EEP à 70%, 80% et 95% inhibe la croissance de la souche étudiée avec un diamètre plus important aux pourcentages 80% et 95%.

Nos résultats sont comparables avec ceux obtenus par Tichy et *al.* (2000) qui ont étudié l'effet de l'EEP sur des streptocoques du groupe *viridans* (la zone d'inhibition minimale est de 3 mm et la zone d'inhibition maximale est de 20 mm).

Les variations des pourcentages de l'EEP entraînent une variation des diamètres d'inhibition ce qui montre que l'effet antibactérien de la propolis dépend de sa solubilité dans le solvant. On constate que les composants actifs de la propolis sont plus solubles dans l'éthanol à 80% et 95%.

L'action inhibitrice de l'éthanol testée au niveau du témoin n'a pas été observée donc nous pouvons conclure que l'activité antibactérienne dans ce test est exclusivement due aux composants de la propolis.

Selon la littérature, l'action antibactérienne de la propolis est essentiellement due aux flavonoïdes, à certaines molécules aromatiques et à l'acide cinnamique (Blanc, 2010).

CONCLUSION

Conclusion

Le miel et la propolis sont des produits de la ruche caractérisés par différentes propriétés thérapeutiques qui leur permettent de gagner une grande importance dans la médecine naturelle.

Dans notre présent travail, nous avons répondu à l'objectif consistant à mettre en évidence l'activité antibactérienne *in vitro* du miel de colza et de la propolis de la région de Constantine, sur une bactérie cariogène *Streptococcus sp* isolée d'un prélèvement effectué chez un patient atteint d'un abcès dentaire et identifiée au niveau du laboratoire de bactériologie au Centre Hospitalo-Universitaire de Constantine.

Différentes analyses physico-chimiques ont été effectuées pour assurer la caractérisation d'un miel de colza et de la propolis, ainsi que l'identification de certains composés responsables de leur effet antibactérien.

Les résultats obtenus révèlent que ces deux produits naturels, répondent aux normes préconisées par le Codex Alimentarius et se caractérisent par des propriétés importantes impliquées dans le pouvoir antibactérien tels que l'acidité, le contenu en polyphénols et la faible teneur en eau.

La souche étudiée a été identifiée par l'automate MicroScan[®] WalkAway 96 comme étant *Streptococcus mitis/oralis*. Une identification ultime devrait être accomplie pour séparer ces deux souches par des techniques de haute performance telles que le MALDI-TOF MS ou le séquençage de l'ARNr 16s.

L'évaluation de l'effet du miel et de la propolis sur la souche cariogène *Streptococcus mitis/oralis* par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme) a montré que cette souche présente une sensibilité remarquable vis-à-vis de la propolis aux pourcentages : 70%, 80% et 95% avec un diamètre plus important (20,3 mm) obtenu au pourcentage 95%. Par contre, on a remarqué que le miel de colza a un effet inhibiteur sur la souche étudiée à la concentration la plus faible c'est-à-dire 25%. Cette étude a confirmé les propriétés antimicrobiennes du miel de colza et de la propolis.

Suite aux résultats obtenus, il serait intéressant d'accomplir certaines analyses physico-chimiques pour identifier les substances actives comme les flavonoïdes, de tester une plus grande variété de types de miels et de propolis algériens sur un nombre élevé de bactéries cariogènes.

Ces résultats demeurent prometteurs et pourraient trouver une application possible de ces deux produits naturels dans le traitement des maladies parodontales notamment en tant qu'antiseptiques naturels.

BIBLIOGRAPHIE

Références bibliographiques

- Achouri, I., Aboussaleh, Y., Sbaibi, R., Chemissi, H., and Bengueddour, R.** (2015). Comparaison de la qualité physicochimique du miel de *Ziziphus sp* (Sider) et d'*Acacia sp* (Samar) consommés aux Émirats Arabes Unis (UAE). *International Journal of Innovation and Applied Studies*. **10**, 184-191.
- Afroz, R., Tanvir, E.M., Zheng, W., and Little, P.J.** (2016). Molecular pharmacology of honey. *Journal of Clinical & Experimental Pharmacology*. **6**, 1-13.
- Agrawal, N., Gupta, N.D., Tewari, R.K., Garg, A.K., and Singh, R.** (2014). Oral health form hive: potential uses of propolis in dentistry. *Biofile*. **2**, 1110-1116.
- Ahmadi–Motamayel, F., Hendi, S.S., Alikhani, M.Y., and Khamverdi, Z.** (2013). Antibacterial activity of honey on cariogenic bacteria. *Research Gate*. **10**, 10-15.
- Ahmed, M., Djebli, N., Aissat, S., Khiati, B., Ünal, M., and Bacha, S.** (2012). Antiradical activity and total phenolics of algerian honeys and antibacterial effect against Gram negative bacteria. *Journal of Microbial Biochemical Technology*. **4**, 152-156.
- Al- Naama, R.T.** (2009). Evaluation of in-vitro inhibitory effect of honey on some microbial isolate. *Journal of Bacteriology Research*. **1**, 064-067.
- Almeida, E.T.C., Delgado Silvaa, M.C., Oliveiraa, J.M.S., Kamiyaa, R.U., Arrudaa, R.E.S., Vieiraa, A.D., Silvaa, C.V., Escodro, P.B., Basilio-Junior, I.D., and Do Nascimento, T.G.** (2017). Chemical and microbiological characterization of tinctures and microcapsules loaded with Brazilian red propolis extract. *Journal of Pharmaceutical Analysis*. **10**, 7- 20.
- Amigou, M.** (2016). Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort.
- Amri, A., Ladjamaet, A., and Tahar, A.** (2007). Etude de quelques miels produits à l'Est Algérien : aspect physico-chimique et biochimique. *Revue Synthèse*. **17**, 57-63.
- Balas, F.** (2015). Les propriétés thérapeutiques du miel et leurs domaines d'application en médecine générale revue de la littérature. Thèse de Doctorat, Université de Nice Sophia-Antipolis.

- Basson, N.J., du Toit, I.J., and Grobler, S.R.** (1994). Antibacterial action of honey on oral Streptococci. *Journal of the Dental Association of South Africa*. **49**, 339-341.
- Belhaj, O., Oumato, J., and Zrira, S.** (2015). Étude physico-chimique de quelques types de miels marocains. *Rev. Mar. Sci. Agron.* **3**, 71-75.
- Bellair, M.** (2015). La flore bactérienne dans la parodontite et la péri-implantite, similitude et différences. Thèse de Doctorat, Université de Nantes.
- Berger, L.** (2010). Le biofilm bactérien endodontique. Thèse de Doctorat, Université Henry Poincaré-Nancy 1.
- Blanc, M.** (2010). Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de Doctorat, Université de Limoges.
- Bogdanov, S., and Blumer, P.** (2001). Propriétés antibiotiques naturelles du miel. *Centre Suisse de Recherches Apicoles*. 1-8.
- Bogdanov, S., Bieri, K., Kilchenmann, V., Gallmann, P., and Dillier, F.X.** (2007). Le miel de colza – une mauvaise réputation injustifiée. *Centre Suisse de Recherches Apicoles*. 1-3.
- Bosio, K., Avanzini, C., D'Avolio, A., Ozino, O., and Savoia, D.** (2000). *In vitro* activity of propolis against *Streptococcus pyogenes*. *The Society for Applied Microbiology*. **31**, 174-177.
- Boujemaa-Azzi, W.** (2015). Incidence des boissons énergétiques sur la présence de bactéries cariogènes dans la salive : mise en place d'un protocole. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.
- Bourassa, M.** (2004). Douleur dentaire : est-elle d'origine infectieuse ?. *Le médecin du Québec*. **39**, 69-75.
- Bruneau, E.** (2015). La propolis, un cadeau de la ruche. *ActuApi*. **66**, 2-8.
- Chardin, H., Barsotti, O. and Bonnaure-Mallet, M.** (2006). Microbiologie en odontostomatologie. Paris : Maloine. 329 P.
- Chouia, A.** (2014). Analyses polliniques et caractérisations des composés phénoliques du miel naturel de la région d'Ain zaâtout. Mémoire de Magistère, Université Mohamed Khider-Biskra.
- Codex stan (12-1981,1987, 2001).** Codex Alimentarius commission standard.

- Cortés, M.E., Vigil, P., and Montenegro, G.** (2011). The medicinal value of honey: a review on its benefits to human health, with a special focus on its effects on glycemic regulation. *Cien. Inv. Agr.* **38**, 303-317.
- Courson, F., Landru, M.M. and Gerval, J.** (1998). La carie dentaire, Paris : Hermann. 122P.
- Cui-ping, Z., Shuai, H., Wen-ting, W., Shun, P., Xiao-ge, S., Ya-jing, L., and Fu-liang, H.** (2014). Development of high-performance liquid chromatographic for quality and authenticity control of chinese propolis. *Journal of Food Science.* **79**, 1111-1750.
- Cury, J.A., Marques, A.S., Tabchoury, C.P.M., and Del-Bel-Cury, A.A.** (2003). Composition of dental plaque formed in the presence of sucrose and after its interruption. *Braz Dent J.* **14**, 147-152.
- Cuvillier, A.** (2015). Miel, propolis, gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire. Thèse de Doctorat, Université de Lille 2.
- Cvek, J., Medić-Šarić, M., Vitali, D., Vedrına-Dragojević, I., Šmit, Z. and Tomić, S.** (2007). The content of essential and toxic elements in Croatian propolis samples and their tinctures. *Journal of Apicultural Research and Bee World.* **47**, 35-45.
- De Bodt, G.** (2005). Indications thérapeutiques apparentées à la cicatrisation. *Apithérapie.* **4**, 28-29.
- Djaafri, F., Rezzoug, S. and Ounis, K.** (2014). Caractérisation physico-chimique et effet antibactérien de quelques types de miels. Ingénieur d'Etat en Agronomie, Université Kasdi Merbah d'Ouargla.
- Djossou, J.A., Tchobo, F.P., Yédomonhan, H., Alitonou, A.G., and Soumanou, M.M.** (2013). Evaluation des caractéristiques physico-chimiques des miels commercialisés à Cotonou. *Tropicultura.* **31**, 163-169.
- Doukani, K., Tabak, S., Derriche, A., and Hacini, Z.** (2014). Etude physicochimique et phytochimique de quelques types de miels Algériens. *Research Gate.* **10**, 37-49.
- El Housseini, N.** (2013). Intérêt et applications cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Thèse de Doctorat, Université de Nantes.

- Eslami, H., Ariamanesh, N., Ariamanesh, A., and Samadi Kafil, H.** (2016). Synergistic effect of honey and Azarian propolis on oral microorganisms: an *in vitro* study. *Journal of Advanced Oral Research*. **7**, 31-35.
- Faustino, F., and Pinheiro, L.** (2015). Antimicrobial properties and therapeutic benefits of honey in the quest for more efficient antimicrobial agents. *Formatex*. 98-108.
- Ferhoum, F.** (2010). Analyses physicochimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeilles (*Api mellifica intermissa* et *Api mellifica sahariensis*). Mémoire de Magister, Université M'hamed Bougara Boumerdès.
- Galmiche, F.** (2011). Le rôle de l'alimentation dans la santé bucco-dentaire. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré Nancy 1.
- Gharbi, M.** (2011). Les produits de la ruche : origines - fonctions naturelles - composition propriétés thérapeutiques apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat, Université Claude-Bernard Lyon1.
- Houvion, E.** (2014). Le biofilm dentaire : composition, formation et propriétés. Thèse de Doctorat, Université de Lorraine.
- Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.K., and Hu, F.L.** (2014). Recent advances in the chemical composition of propolis. *Journal molecules*. **19**, 19610-19632.
- Irlande, D.** (2010). Le miel et ses propriétés thérapeutiques : utilisation dans les plaies cutanées. Mémoire de Master.
- Joffin, J.N., and Leyral, G.** (1998). Microbiologie technique, 2^e édition, Bordeaux : CRDP d'Aquitaine. 304 P.
- Khan, I.U., Dubey, W., and Gupta, V.** (2014). Medicinal properties of honey: a review: *International Journal of Pure and Applied Bioscience*. **2**, 149-156.
- Koru, O., Toksoy, F., Acikel, C.H., Tunca, Y.M., Baysallar, M., Uskudar Guclu, A., AKca, E., Ozakok Tuylu, A., Sorkun, K., Tanyuksel, M., et al.** (2007). In vitro antimicrobial activity of propolis samples from different geographical origins against certain oral pathogens. *Anaerobe*. **13**, 140-145.
- Krell, R.** (2004). Value-added products from beekeeping. Rome: FAO agricultural services bulletin. 395 P.

- Lakhdar, L.** (2015). Evaluation de l'activité antibactérienne d'huiles essentielles marocaines sur *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans* : étude in vitro. Thèse de Doctorat, Université de Mohammed V de Rabat.
- Lamas, C.C., and Eykyn, S.J.** (2003). Blood culture negative endocarditis: analysis of 63 cases presenting over 25 years. *Cardiovascular Medicine*. **89**, 258-262.
- Laouar, H., and Tahar, A.** (2017). Physicochemical analysis of some honeys from humid regions in North East Algeria. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Sciences*. **10**, 50-54.
- Laurent, C.** (2014). L'abeille et le conseil à l'officine. Thèse de Doctorat, Université de Poitiers.
- Makhloufi, C.** (2011). Melissopalynologie et étude des éléments bioactifs des miels algériens. Thèse de Doctorat, Ecole nationale supérieure agronomique d'El Harrach.
- Manyi-Loh, C.E., Clarke, A.M., and Ndip, R.N.** (2011). An overview of honey: therapeutic properties and contribution in nutrition and human health. *African Journal of Microbiology Research*. **5**, 844-852.
- Marcucci, M.C.** (1995). Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Science Direct*. **26**, 83-99.
- Marquele, F.D., Di Mambroa, M.V., Georgettia, S.R., Casagrandea, R., Valimb, Y.M.L., and Fonseca M.J.V.** (2005). Assessment of the antioxidant activities of Brazilian extracts of propolis alone and in topical pharmaceutical formulations. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. **39**, 455-462.
- Mbogning, E., Tchoumboue, J., Damesse, F., Sanou Sobze, M., and Canini, A.** (2011). Caractéristiques physico-chimiques des miels de la zone Soudano-guinéenne de l'Ouest et de l'Adamaoua Cameroun. *Tropicultura*. **29**, 168-175.
- Meda, A., Lamien, C.E., Millogo, J., Romito, M., and Nacoulma, O.G.** (2005). Physicochemical analyses of Burkina Fasan honey. *Acta Vet. Brno*. **74**, 147-152.
- Mekious, S., Houmani, Z., Bruneau, E., Masseaux, C., Guillet, A., and Hance, T.** (2015). Caractérisation des miels produits dans la région steppique de Djelfa en Algérie. *Biotechnol. Agron. Soc. Environ.* **19**, 221-231.

- Merabti, A.** (2015). Implantation d'un rucher au niveau de l'exploitation agricole de l'Université d'Ouargla. Mémoire de master, Université Kasdi Merbah Ourgla.
- Merah, M., Bensaci Bachagha, M., and Boudershem, A.** (2010). Etude de l'effet antimicrobien de trois échantillons du miel naturel récoltés de territoire algérien. *Research Gate*. **2**, 115-125.
- Molan, P.C.** (1992). The antibacterial activity of honey: the nature of the antibacterial activity. *Bee World*. **73**, 5-28.
- Nabti, D., Achou, M., and Braia, F.M.H.** (2016). Physicochemical study of some types of Algerian honeys. *International Journal of Medical Research & Health Sciences*. **5**, 8-12.
- Nair, S.** (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels algériens. Thèse de Doctorat, Université d'Oran.
- Najafi, M.F., Vahedy, F., Seyyedini, M., Jomehzadeh, H.R., and Bozary, K.** (2007). Effect of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnology*. **54**, 49-56.
- Nam, S.H., Choi, Y.R., Jang, S.O., Shim, Y.S., and Han, G.S.** (2016). Antimicrobial activity of propolis on different oral bacteria. *Indian journal of science and technology*. **9**, 1-4.
- Newburn, E.** (1978). *Cariology*. Baltimore, Williams and Wilkins. 289 P.
- Nicolas, G.G., and Lavoie, M.C.** (2011). *Streptococcus mutans* et les streptocoques buccaux dans la plaque dentaire. *Rev. Can. microbiol.* **57**, 1-20.
- Nicolaÿ, J.** (2014). Perspectives d'avenir en apithérapie à l'officine. Thèse de Doctorat, Université Angers.
- Olaitan, P.B., Adeleke, O.E., and Ola, L.O.** (2007). Honey: a reservoir for microorganisms and an inhibitory agent for microbes. *African Health Sciences*. **7**, 159-165.
- Parente, O.** (2015). Prise en charge de l'état bucco-dentaire des personnes âgées diabétiques par les médecins généralistes et les chirurgiens-dentistes. Thèse de Doctorat, Université de Rouen.
- Paulus, H., Kwakman, S., and Zaat, S.A.J.** (2012). Antibacterial components of honey. *IUBMB Life*. **64**, 48-55.

- Peluchonneau, C.** (2011). La carie dentaire : prévention et conseil à l'officine. Thèse de Doctorat, Université de Limoges.
- Pesenti, M.E., Spinelli, S., Bezirard, V., Briand, L., Pernollet, J.C., Tegoni, M., and Cambillau, C.** (2008). Structural basis of the honeybee PBP pheromone and pH- induces conformational change. *Journal of Molecular Biology*. **380**, 158-169.
- Pillon, F.** (2010). L'hygiène bucco-dentaire, de l'importance de la prévention. *Actualités Pharmaceutiques*. **49**, 22-24.
- Rajoelina, R.T.** (2008). Caractéristiques nutritionnelles et organoleptiques de quelques variétés de miel de Madagascar. Mémoire de Diplôme d'Etudes Approfondies, Université d'Antananarivo.
- Rebiai, A., Lanez, T., and Chouikh, A.** (2015). Physicochemical and biochemical properties of honeybee products in South Algeria. *Scientific Study & Research Chemistry & Chemical Engineering, Biotechnology, Food Industry*. **16**, 133-142
- Reichmann, P., Nuhn, M., Denapaite, D., Bruckner, R., Henrich, B., Maurer, P., Rieger, M., Klages, S., Reinhard, R., and Hakenbeck, R.** (2011). Genome of *Streptococcus oralis* Strain Uo5. *Journal of Bacteriology*. **193**, 2888-2889.
- Rossant, A.** (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes. Thèse de Doctorat, Université de Limoges.
- Samot, J.** (2012). Evaluation du potentiel probiotique de lactobacilles buccaux. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux 2.
- Schweitzer, P.** (2002). Sur les sentiers des miels de France- le Colza. *Syndicat National d'Apiculture* [en ligne]. (Consulté le 15/04/2017), disponible sur : <http://www.api-services.biz/fr/articles/classes-par-popularite/1245-sur-les-sentiers-des-miels-de-france-le-colza-2002>
- Segueni, N.** (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine.
- Sforcin, J.M., Fernandes Jr, A., Lopes, C.A.M., Bankova, V., and Funari, S.R.C.** (2000). Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity. *Journal of Ethnopharmacology*. **73**, 243-249.

Simain, F., Rompen, E., and Heinen, E. (2010). Biofilms bactériens et médecine dentaire. *Rev. Med. Liège*. **65**, 569-573.

Standardisation de l'antibiogramme à l'échelle national (2011), en collaboration avec l'OMS.

Tagliacollo, V.A., and Orsi, R.O. (2011). Quality of propolis commercialized in the informal market. *Journal Ciênciae Tecnologia de Alimentos*. **31**, 752-757.

Temiz, A., Sener, A., Özkök Tüylü, A., Sorkun, K., and Salih, B. (2011). Antibacterial activity of bee propolis samples from different geographical regions of Turkey against two foodborne pathogens, *Salmonella Enteritidis* and *Listeria monocytogenes*. *Turk J Biol*. **35**, 503-511.

Tibi, J. (2010). Influence d'un bain de bouche sur la présence de bactéries cariogènes au sein du biofilm dentaire. Thèse de Doctorat, Université Henri Poincaré Nancy.

Tichy, J., and Novak, J. (2000). Detection of antimicrobials in bee products with activity against Viridans Streptococci. *The journal of Alternative and Complementary Medicine*. **6**, 383-389.

Tosi, E.A., Ciappini, M.C., Cazzolli, A.F., and Tapiz, L.M. (2006). Physico-chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *Apiacta*. **41**, 110-120.

Veilleux, F. (2016). Évaluation de l'effet de *Streptococcus mutans* sur la qualité du fini de surface de matériaux dentaires de restauration. Mémoire de Master, Université de Laval.

Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., and Perez-Alvarez, J.A. (2008). Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of Food Science*. **73**, 117-124.

Waldner-Tomic, N.M., Vanni, R., Belibasakis, G.N., Thurnheer, T., Attin, T., and Schmidlin, P.R. (2014). The *in vitro* antimicrobial efficacy of propolis against four oral pathogens: a review. *Dentistry Journal*. **2**, 85-97.

Wen-Jie, N.g., Tze-Jian, C., and Betty, H.Y.K. (2014). Antioxidant properties, enzyme activities and inhibitory effects of Melaleuca honey against cariogenic bacteria growth and biofilm formation. *Advances in Enviromental Biology*. **8**, 1-7.

Yaiche Achour, H., and Khali, M. (2014). Composition physico-chimique des miels algériens. Détermination des éléments traces et des éléments potentiellement toxiques. *Afrique Science*. **10**, 127-136.

Yue-Yew, J. (2015). Etude de l'effet de quatre composés contenant du miel sur deux bactéries cariogènes : *Streptococcus mutans* et *Lactobacillus rhamnosus*. Thèse de Doctorat, Université de Bordeaux.

Zeghad, N. (2009). Etude du contenu polyphénolique de deux plantes médicinales d'intérêt économique (*Thymus vulgaris*, *Rosmarinus officinalis*). Thèse de Doctorat, Université Mentouri de Constantine.

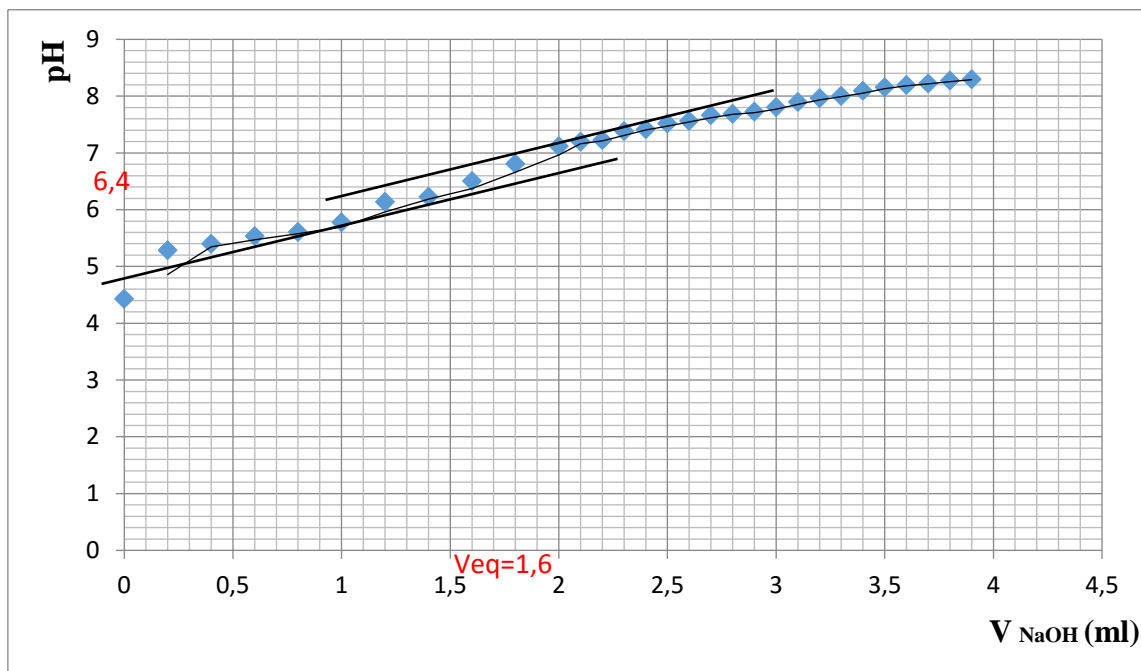
Références webographiques

1. www.guide-du-miel.com/lesmiels/miel-de-colza.html (consulté le 12/04/2017).
2. www.desgoutsetdescouleurs.com/le-miel-de-colza (consulté le 12/04/2017).
3. www.apiculteur.wordpress.com/2008/03/24 (consulté le 18/05/2017).
4. www.apiculture.net, 2017 (consulté le 03/04/2017).
5. www.unsof.org (consulté le 26/03/2017).

ANNEXES

Annexe 1 : Table de Chataway (1935)

Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)	Indice de réfraction (20°C)	Teneur en eau (%)
1.5044	13.0	1.4935	17.2	1.4835	21.2
1.5038	13.2	1.4930	17.4	1.4830	21.4
1.5033	13.4	1.4925	17.6	1.4825	21.6
1.5028	13.6	1.4920	17.8	1.4820	21.8
1.5023	13.8	1.4915	18.0	1.4815	22.0
1.5018	14.0	1.4910	18.2	1.4810	22.2
1.5012	14.2	1.4905	18.4	1.4805	22.4
1.5007	14.4	1.4900	18.6	1.4800	22.6
1.5002	14.6	1.4895	18.8	1.4795	22.8
1.4997	14.8	1.4890	19.0	1.4790	23.0
1.4992	15.0	1.4885	19.2	1.4785	23.2
1.4987	15.2	1.4880	19.4	1.4780	23.4
1.4982	15.4	1.4875	19.6	1.4775	23.6
1.4976	15.6	1.4870	19.8	1.4770	23.8
1.4971	15.8	1.4865	20.0	1.4765	24.0
1.4966	16.0	1.4860	20.2	1.4760	24.2
1.4961	16.2	1.4855	20.4	1.4755	24.4
1.4956	16.4	1.4850	20.6	1.4750	24.6
1.4951	16.6	1.4845	20.8	1.4745	24.8
1.4946	16.8	1.4840	21.0	1.4740	25.0
1.4940	17.0				

Annexe 2 : Courbe de variation du pH en fonction du volume de NaOH.**Annexe 3** : Coloration de Gram**1.1. Préparation de frottis**

- Mettre une goutte de l'eau distillée sur la lame.
- Prélever une colonie bien isolée de la bactérie.
- Mélanger la colonie avec l'eau distillée sur la lame, puis l'étaler en couche mince et régulière.
- Sécher et fixer par la chaleur, puis laisser refroidir.

1.2. Coloration

- Verser le Violet de Gentiane sur la lame, laisser en contact 1 minute.
- Jeter le colorant et rincer à l'eau.
- Faire couler de l'alcool-acétone sur la préparation environ 15 secondes, puis rincer immédiatement à l'eau.
- Recouvrir la préparation de Fuschine, laisser agir de 30 secondes puis laver abondamment à l'eau.
- Sécher délicatement avec du papier buvard.
- Observer à l'immersion en pleine lumière, mettre une goutte d'huile à immersion sur la lame. Observer à l'objectif x100.

Annexe 4 : Tableau des valeurs critiques des diamètres des zones d'inhibition pour *Streptococcus spp.* groupe viridans

Antibiotiques testés	Charge des disques	Diamètre critique (mm)		
		R	I	S
Pénicilline	CMI CLSI	---	---	---
Ampicilline	CMI CLSI	---	---	---
Céfotaxime	30 µg	25	26-27	28
Gentamicine**	(CMI-CA-SFM)	----	---	---
Erythromycine	15 µg	15	16-20	21
Clindamycine	2 µg	15	16-18	19
Tétracycline	30 µg	18	19-22	23
Vancomycine	30 µg	---	----	17
Chloramphénicol	30 µg	17	18-20	21
Rifampicine**	30 µg	< 24	----	> 29
Pristinamycine**	15 µg	< 19	----	> 22
Lévofloxacine	5 µg	< 13	14-16	> 17
Imipénème	10 µg	----	----	----
Pristinamycine	15 µg	>19	16-18	<15

- S : sensible.
- R : résistante.
- I : intermédiaire

Annexe 5 : Tableau de lecture de la plaque Combo PC1A

Puits	Réactifs	Positif	Négatif
CV, MS NOV, OPT NACL, BAC	/	Croissance	Pas de croissance
NIT	Ajouter 1 goutte d'acide sulfanilique 0,8% et 1 goutte de N, N-diméthyl-alpha-naphthylamine 0,5%. Patienter 5 minutes pour que la réaction se développe.	Rose à rouge	Clair (incolore) Peut-être rose très pale.
PGR PHO PGT	Toute trace de jaune doit être interprétée comme un résultat positif. Utiliser le puit NOV comme contrôle.	Jaune	Transparent (incolore)
IDX		De bleu à gris/ Précipité	Transparent (incolore) ou précipité blanc.
VP	Ajouter 1 goutte de KOH 40% et 1 goutte d'alpha-naphtol 5%. Patienter au moins 20 minutes pour que la réaction se développe.	Rose à rouge	Transparent (incolore) à brun, peut être trouble ou rose très pâle.
BE		Brun foncé à noire	Transparent (incolore) à brun clair.
PYR	Ajouter 2 gouttes de réactif peptidase. Patienter 2 minutes pour que la réaction se développe.	De rouge/orange à rouge.	De jaune à orange/rouge.
ARG		De rose/ orange à rose.	Jaune à orange.
URE		Rose	Jaune à orange.
RAF, LAC TRE, MNS SOR, ARA RBS, INU MA N, PRV	Toute trace d'orange doit être interprétée comme un résultat négatif.	Jaune	Orange à rouge
HEM	/	Bêta	Alpha ou Gamma

Annexe 6 : Composition des milieux de culture

Milieu Columbia (formule en g/l d'eau distillée)

Extrait de levure.....	03 g/l.
Peptone de viande.....	05g/l.
Peptone de soja.....	03g/l.
Tryptone.....	05 g/l.
Cœur-cerveau.....	08 g/l.
Amidon.....	01 g/l.
Chlorure de sodium.....	05 g/l.
Agar.....	18 g/l.

pH = 7,3

Milieu Mueller Hinton (Formule en g/l d'eau distillée)

Extrait de viande.....	3,0 g/l
Hydrolysate acide de caséine.....	17,5 g/l
Amidon.....	1,5 g/l
Agar.....	17,0 g/l

pH = 7,0 ± 0,1

Identification d'une souche cariogène *Streptococcus sp* et étude de l'action antibactérienne du miel de colza et de la propolis sur cette souche

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Microbiologie Générale et Biologie Moléculaire des Micro-organismes

Résumé

Le but de notre étude est d'évaluer l'activité antibactérienne du miel de colza et de la propolis récoltés dans la région de Constantine vis-à-vis d'une bactérie cariogène *Streptococcus sp*. Celle-ci provient d'un prélèvement effectué au niveau du Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis de Constantine chez un patient atteint d'un abcès dentaire. Pour identifier les principes actifs du miel de colza et de la propolis responsables de leur effet antibactérien sur cette souche, des analyses physico-chimiques ont été effectuées :

- pour le miel, il s'agit de la teneur en eau, de la conductivité électrique, du pH, de l'acidité libre, des teneurs en cendres et en polyphénols.
- concernant la propolis, il s'agit de la mesure du taux de pertes pendant le séchage, du pH, des teneurs en cendres et en polyphénols.

Les résultats obtenus indiquent que le miel de colza a une teneur en eau de 19%, une conductivité électrique de 0,189 mS/cm, un pH de 4,4, une acidité libre de 16 meq/kg, une teneur en cendres de 0,23% et montrent une présence de polyphénols.

La propolis présente un taux de pertes pendant le séchage de 2,5%, un pH de 5,0, une teneur en cendres de 3% et une teneur en polyphénols de 1,2%.

L'évaluation de l'effet antibactérien du miel et de la propolis a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé (aromatogramme obtenu à l'aide de la souche isolée et identifiée comme étant *Streptococcus mitis/oralis*) en utilisant des concentrations de miel à 25, 50, 75 et 100% et de la propolis à différents pourcentages d'éthanol : 60, 70, 80 et 95%.

Les résultats obtenus révèlent que le miel de colza présente une faible activité inhibitrice obtenue seulement à la concentration de 25%. Par contre, la propolis a montré une bonne activité inhibitrice aux pourcentages 70, 80 et 95 et particulièrement au pourcentage 95.

Mots clés : miel, propolis, caractéristiques physico-chimiques, effet antibactérien, carie dentaire, bactéries cariogènes.

Laboratoire de recherche : Centre Hospitalo-Universitaire Ibn Badis de Constantine
Laboratoire de Biochimie (RDC), Faculté de Science de la Nature et de la Vie

Jury d'évaluation :

Président du jury : HAMIDECHI A. (Pr- UFM Constantine)
Rapporteur : AIT ABDELOUAHAB N. (MA- UFM Constantine)
Examineur : ARABET D. (MC- UFM Constantine)

Date de soutenance : 13/06/2017