# République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique Université Saad Dahleb Blida 1



## Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Département : Biologie

Filière: Biologie

**Option:** Biochimie

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

## THÈME:

## Screening phytochimique et l'évaluation de quelque activité biologique de la propolis

Présenté par : Soutenu le : 10/07/2025

- ❖ M<sup>elle</sup> Hamlaoui Imene
- ❖ M<sup>elle</sup> Mariche Ryma

#### **Devant le jury:**

❖ Mme Saidi.F	Pr/USDB1	Présidente
<b>❖</b> Mme Hamzi.O	MCA/USDB1	Examinatrice
❖ Mme Drouche.I	MCB/USDB1	Promotrice
❖ Mme Belkadi.A	Dr/Saidal CRD	Co-promotrice

Année universitaire 2024/2025

#### Remerciements

Avant toute chose, nous rendons grâce à Allah, Le Tout-Puissant, pour nous avoir accordé la force, la patience et la persévérance nécessaires à l'accomplissement de ce travail.

Nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à Mme la professeure Saidi.F, Présidente du jury, pour l'honneur qu'elle nous a fait en acceptant d'évaluer ce mémoire.

Nos sincères remerciements vont également à Dr Hamzi.O, examinatrice, pour l'attention qu'elle a portée à ce travail et pour ses remarques pertinentes et enrichissantes.

Nous souhaitons exprimer toute notre reconnaissance à Dr Drouche.I, notre promotrice, pour son accompagnement précieux, sa disponibilité et ses conseils avisés tout au long de ce travail.

Nos remerciements vont aussi au Dr Belkadi.A, notre co-promotrice au sein du Centre de Recherche et Développement de Saidal (CRD), pour son encadrement, son soutien constant, et l'opportunité qu'elle nous a offerte d'évoluer dans un environnement scientifique stimulant.

Nous adressons également nos sincères remerciements à l'ensemble des professeurs et enseignants de la Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie de l'Université Saad Dahleb – Blida 1, pour la qualité de leur enseignement et les cours enrichissants qu'ils nous ont dispensés tout au long de notre parcours.

Enfin, nous remercions chaleureusement toutes les personnes ayant contribué, de près ou de loin, à la réalisation de ce travail, et que nous n'avons pas pu citer individuellement. À toutes et à tous, nous exprimons notre sincère gratitude et notre profonde reconnaissance.

#### **Dédicace**

Je dédie ce modeste travail à toutes les personnes chères à mon cœur, celles qui, par leur amour, leur soutien et leur présence, ont contribué à la réalisation de ce mémoire.

À mes parents, mon père Djillali et ma mère Samira, véritables piliers de ma vie, je vous exprime ma profonde gratitude pour vos innombrables sacrifices, votre amour inconditionnel et vos précieuses prières. Vous êtes ma source de force, de courage et de persévérance.

À mes sœurs bien-aimées, Amina, Asmaa et Aroua, merci pour votre tendresse, vos encouragements constants et votre présence rassurante dans les moments difficiles. Vous avez toujours été là pour moi, et je vous en suis profondément reconnaissante.

À ma chère sœur Aya (حصها الله), que Dieu lui accorde Sa miséricorde infinie et l'accueille dans Son vaste paradis. Bien que ton absence soit douloureuse, ton souvenir reste à jamais gravé dans nos cœurs. Tu continues de vivre en nous, dans chaque prière, chaque réussite, chaque instant de bonheur.

À mon unique frère, Abdelrahman, pour ton amour fraternel, ta protection, ta confiance et ton soutien indéfectible. Ta présence a toujours été un repère dans ma vie.

À mes deux grands-mères et mes deux grands-pères (رحمهم الله), que Dieu leur accorde Sa lumière éternelle, Sa paix et Sa miséricorde. Leur souvenir m'inspire et m'accompagne chaque jour.

À ma deuxième mère, Hajira, et mon deuxième père, Moussa, pour l'affection sincère que vous m'avez toujours témoignée, votre présence chaleureuse et votre rôle bienveillant dans ma vie. Vous êtes une bénédiction.

À mes nièces chéries, Douaa et Alaa, merci pour la lumière et la joie que vous apportez à ma vie par votre innocence et votre amour.

Et enfin, à ma binôme Imene, pour sa précieuse collaboration, sa patience, son sérieux et tous les moments de travail, de complicité et de soutien partagés durant cette belle aventure académique. Merci d'avoir été à mes côtés jusqu'au bout.

À toutes celles et ceux qui ont pensé à moi, prié pour moi, ou m'ont soutenue de près ou de loin, je vous exprime toute ma reconnaissance. Vos gestes, vos mots et votre bienveillance ont été pour moi d'un grand réconfort.

À vous tous, je vous dis merci du fond du cœur. Ce mémoire est le fruit de vos prières, de votre amour, de votre foi en moi. Il est autant le vôtre que le mien.

M. RYMA

#### **Dédicace**

Je dédie ce mémoire à toutes les personnes chères à mon cœur, qui m'ont soutenue de près ou de loin tout au long de ce parcours.

À ma chère mère Fatima, pour ton amour inconditionnel, ta patience et tes prières constantes. Tu es ma source de force et de courage.

À mon père Mohamed, pour ton soutien indéfectible, tes précieux conseils et tes sacrifices.

Merci de m'avoir toujours cru capable d'aller plus loin.

À ma sœur Sonia, pour ta tendresse, ton écoute et ta présence rassurante. Tu as toujours su trouver les mots pour me réconforter.

À Monsieur Mestafa de Médéa – Saidal, Je tiens à vous remercier sincèrement pour votre aide précieuse et votre accompagnement tout au long de mon stage de fin d'études. Merci pour votre professionnalisme et votre bienveillance.

Bien que la distance nous séparait, vous avez fait énormément pour nous, et votre soutien a été d'une grande valeur. Je vous en suis profondément reconnaissante

Merci infiniment, Monsieur Youssef, pour votre aide précieuse au laboratoire. Vous avez travaillé si dur pour nous, et nous sommes vraiment reconnaissants pour votre patience et votre dévouement. Désolés de vous avoir fait subir tout cela avec nous. Votre soutien a été inestimable, et nous ne l'oublierons jamais. Un grand merci du fond du cœur

À mon frère et mes sœurs Sara, Antar et Linda, pour votre présence, vos encouragements et vos mots réconfortants. Votre soutien m'a apporté beaucoup de force tout au long de ce parcours.

## À mon grand-père Belkasem ( رحمه الله ),

Tu étais bon et bienveillant, et tu resteras toujours dans mon cœur.

Et enfin, à mes amies Selma, Nouha et Farah : merci pour votre soutien, vos encouragements, vos fous rires et votre présence constante. Je vous aime fort, les filles ! Vous avez été une lumière dans les moments les plus intenses de ce parcours.

#### Résumé:

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'effet thérapeutique de l'extrait aqueux de propolis sur la colite induite par l'acide acétique (AA) à 5 % chez des souris mâles. L'induction de la colite a provoqué une perte de poids importante, une diarrhée sévère, des saignements rectaux persistants, une augmentation du rapport poids/longueur du côlon, des scores macroscopiques élevés et une forte altération histologique. Le traitement avec l'extrait aqueux de propolis a permis une atténuation significative de l'ensemble de ces paramètres.

Sous l'effet de l'extrait aqueux de propolis, une diminution de poids a été observée au début, suivie d'un gain progressif ( $29 \pm 1,17$  g), accompagné d'une amélioration de la consistance des selles et d'un saignement rectal atténué.

Le score macroscopique des lésions coliques a également été réduit.Le rapport poids/longueur du côlon, indicateur d'inflammation, a diminué dans le groupe propolis (67,75 ± 1,12 mg/cm), sans différence significative avec le groupe de référence. De plus, une réduction marquée du score de l'indice d'activité de la maladie (IAM) a été observée.

L'analyse histologique a révélé une amélioration partielle de l'architecture tissulaire colique chez les souris traitées par la propolis, avec une réduction de l'infiltration leucocytaire, une organisation cryptique homogène et une préservation musculaire. Ces effets traduisent une atténuation des lésions coliques induites par l'AA.

Le criblage phytochimique de l'extrait méthanolique de propolis a mis en évidence la présence de flavonoïdes, saponines et tanins, connus pour leurs propriétés antioxydantes. Le test DPPH a confirmé une activité antioxydante élevée avec une IC50 de 41,8 μg/ml, supérieure à celle de l'acide ascorbique (IC50 = 59,5 μg/ml).Par ailleurs, les tests antibactériens ont révélé une activité inhibitrice légère de l'extrait de propolis contre *Escherichia coli* (13 mm), *Staphylococcus aureus* (14 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm) et *Candida albicans* (12 mm), confirmant son potentiel bioactif à large spectre de la propolis.

#### Mots-clés:

Propolis, colite, inflammation intestinale, acide acétique, sulfasalazine, poids corporel, score macroscopique, indice d'activité de la maladie (IAM), rapport poids/longueur, histologie, flavonoïdes, antioxydant, DPPH, activité antibactérienne, rectorragie, diarrhée

#### **Abstract:**

The objective of this study was to evaluate the therapeutic effect of aqueous propolis extract on colitis induced by 5% acetic acid (AA) in male mice. The induction of colitis caused significant weight loss, severe diarrhea, persistent rectal bleeding, an increased colon weight/length ratio, high macroscopic lesion scores, and marked histological alterations. Treatment with the aqueous propolis extract resulted in a significant improvement in all these parameters.

Under the effect of the aqueous propolis extract, an initial weight loss was observed, followed by a gradual gain (29  $\pm$  1.17 g), accompanied by improved stool consistency and reduced rectal bleeding .

The macroscopic score of colonic lesions was also reduced. The colon weight/length ratio, an indicator of inflammation, decreased in the propolis-treated group (67.75  $\pm$  1.12 mg/cm), with no significant difference compared to the reference group. Moreover, a marked reduction in the Disease Activity Index (DAI) score was observed.

Histological analysis revealed partial improvement in colonic tissue architecture in propolis

treated mice, with reduced leukocyte infiltration, uniform crypt organization, and preserved muscle layers. These effects reflect an attenuation of AA-induced colonic lesions. Phytochemical screening of the methanolic extract of propolis revealed the presence of flavonoids, saponins, and tannins, known for their antioxidant properties. The DPPH test confirmed strong antioxidant activity with an IC50 of 41.8  $\mu$ g/ml, higher than that of ascorbic acid (IC50 = 59.5  $\mu$ g/ml).

Furthermore, antibacterial tests showed mild inhibitory activity of the propolis extract against *Escherichia coli* (13 mm), *Staphylococcus aureus* (14 mm), *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm), and *Candida albicans* (12 mm), confirming the broad-spectrum bioactive potential of propolis.

#### **Keywords:**

Propolis, colitis, intestinal inflammation, acetic acid, sulfasalazine, body weight, macroscopic score, disease activity index (DAI), weight/length ratio, histology, flavonoids, antioxidant, DPPH, antibacterial activity, rectal bleeding, diarrhea.

#### الملخص:

كان الهدف من هذه الدراسة تقييم التأثير العلاجي للمستخلص المائي للبروبوليس على التهاب القولون المحقّر بحمض الخليك (AA) بتركيز 5% في الفئران الذكور. تسبب تحفيز الالتهاب في فقدان كبير في الوزن، إسهال شديد، نزيف مستقيمي مستمر، زيادة في نسبة وزن/طول القولون، ارتفاع في درجات الإصابة العيانية، وتغيرات نسيجية ملحوظة. أدى العلاج بالمستخلص المائي للبروبوليس إلى تحسن كبير في جميع هذه المؤشرات. تحت تأثير المستخلص المائي للبروبوليس، لوحظ فقدان أولي في الوزن، تلاه زيادة تدريجية (29 ± 1.17 غ)، مصحوبة بتحسن في قوام البراز وتراجع في النزيف المستقيمي. كما انخفضت الدرجة العيانية لإصابات القولون. وقلّت نسبة وزن/طول القولون، وهي مؤشر على الالتهاب، في مجموعة البروبوليس (67.75 ± 1.12 ملغ/سم)، دون اختلاف معنوي مع المجموعة المرجعية. كما لوحظ انخفاض واضح في درجة مؤشر نشاط المرض .(IAM) أظهر التحليل النسيجي تحسنًا جزنيًا في بنية نسيج القولون لدى الغفران المعالجة بالبروبوليس، مع انخفاض في تسرب الكريات البيضاء، وتنظيم موحد للغدد القولونية، والحفاظ على طبقة العضلات. وتعكس هذه النتائج تخفيف الأذى النسيجي الناتج عن حمض الخليك. أظهر الفحص الكيميائي النباتي للمستخلص الميثانولي للبروبوليس وجود مركبات الفلافونويد، والصابونين، والعفص، المعروفة بخصائصها المضادة للأكسدة. وأكد الإمال مشاطًا مضادًا للأكسدة قويًا بقيمة IC50 بلغت 1.48 ميكرو غرام/مل، وهي أفضل من حمض الأسكوربيك (59.5 = 150ميكروغرام/مل). وأظهرت الاختبارات البكتيرية أيضًا نشاطًا مثبطًا خفيفًا للمستخلص ضد (29.5 = 150ميكروغرام/مل). وأظهرت الاختبارات البكتيرية أيضًا نشاطًا مثبطًا خفيفًا للمستخلص ما يؤكد الإمكانات الحيوية واسعة النطاق للبروبوليس. النزيف المستقيمي، الإسهال.

#### الكلمات المفتاحية:

البروبوليس، التهاب القولون، الالتهاب المعوي، حمض الخليك، السلفاسالازين، وزن الجسم، التقييم العياني، مؤشر نشاط المرض(DAI) ، نسبة الوزن إلى الطول، الفحص النسيجي، الفلافونويدات، مضاد للأكسدة، اختبار DPPH ، النشاط المضاد للبكتيريا، النزيف الشرجي، الإسهال.

## LISTE DES FIGURES

Figure 01 : Présentation des différents types de propolis brésilienne. (A) propolis verte sur le
collecteur intelligent, (B) propolis brune et (C) propolis rouge6
Figure 02 : Un crâne de souris enveloppé de propolis trouvé dans une colonie d'abeilles dans
un rucher de l'Université du Minnesota9
Figure 03 : A : Matériel végétal utilisé : Propolis, B : Propolis après séchage à froid, C :
Obtention de propolis fine
Figure 04: Principe du test de DPPH
<b>Figure 05 :</b> Effet des différents traitements sur le poids corporel des souris
<b>Figure 06 :</b> Observation de l'aspect des selles diarrhéiques
Figure 07 : Score macroscopique chez les souris après induction de la colite par l'acide
acétique 5%
<b>Figure 08 :</b> Ulcère grave au niveau de l'intestin numéro 8 de lot AA
Figure 09 : Variations des rapports P/L chez les souris après induction de la colite par l'acide
acétique29
Figure 10 : Effet du traitement sur l'histologie du colon des souris
Figure 11 : Effet antimicrobien de l'extrait aqueux de propolis
Figure 12: Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide
ascorbique
Figure 13 : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait
méthanolique de Propolis39

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau I : Caractéristiques physico-chimiques de la propolis
<b>Tableau II :</b> Profil phytochimique de la propolis
Tableau III : Origine et références des souches testées    14
<b>Tableau IV :</b> Score de la variation de poids
Tableau V : Score de la consistance des selles
Tableau VI : Score des saignements.   18
Tableau VII : Caractérisation phytochimique de quelques métabolites secondaires de l'extrait         méthanolique de la propolis
Tableau VIII : Evaluation de l'indice d'activité de la maladie (IAM)
Tableau IX       : Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de propolis comparée aux antibiotiques de référence

#### LISTE DES ABREVIATIONS

- **AA**: Acide acétique.
- **ATCC**: American Type Culture Collection.
- **CAPE**: Caffeic Acid Phenethyl Ester.
- ❖ CI50 : Concentration de l'échantillon fournissant 50% d'inhibition.
- **❖ COX-1 et COX-2 :** Cyclo-oxygénase 1 / 2.
- **CU**: Colite ulcéreuse (ou Rectocolite hémorragique).
- **DDPH**: 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.
- **❖ Gram** + : Gramme positif.
- **❖ Gram-**: Gramme négatif.
- **IAM :** L'Indice d'Activité de la Maladie.
- **\* IL-1β**: Interleukin 1 beta.
- \* MC: Maladie de Crohn.
- **MEI**: Manifestations Extra-Intestinales.
- **❖ MH**: Muller Hinton.
- ❖ MICI: Maladies Inflammatoires Chroniques de l'Intestin.
- \* MII: Maladies Inflammatoires de l'Intestin.
- ❖ NOD2: Nucleotide-binding Oligomerization Domain-containing protein .
- **P**: Propolis.
- \* ROS: Reactive Oxygen Species
- **SSZ**: Sulfasalazine.
- ❖ T-: Témoin négatif.
- **T-cellulaire**: Relatif aux lymphocytes T
- \* TNF-α: Tumor Necrosis Factor alpha (Facteur de nécrose tumorale alpha).
- ❖ NO: Nitric oxide
- **❖ MCP-1**: Monocyte Chemoattractant Protein-1

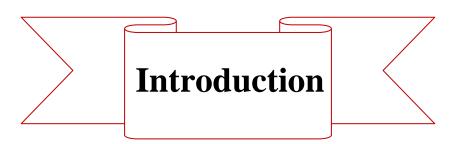
#### **GLOSSAIRE**

- Le microbiote intestinal humain : correspond à l'ensemble des micro-organismes qui évoluent le long de notre système digestif.
- Les souris NMRI: sont une souche hétérogène largement utilisée en laboratoire, dérivée des souris suisses. Elles sont fréquemment employées dans divers domaines de recherche tels que la pharmacologie et la toxicologie.
- Le saignement rectal : est un symptôme courant de la rectocolite hémorragique, une maladie inflammatoire chronique de l'intestin. Il peut se manifester par la présence de sang dans les selles ou des saignements par l'anus
- L'Indice d'Activité de la Maladie (IAM) : est un système de notation utilisé pour évaluer la gravité de la maladie, souvent dans le contexte de la colite ou d'autres affections inflammatoires.
- La colite : est un gonflement (inflammation) du gros intestin (côlon).

## TABLE DES MATIERES

RI	EMERCIEMENTS
DI	EDICACE
RI	ESUME
AI	BSTRACT
ص	الملخ
LI	STE DES FIGURES
LI	STE DES TABLEAUX
LI	STE DES ABREVIATIONS
GI	LOSSAIRE
	TRODUCTION 01
111	TRODUCTION
	Chapitre I : Synthèse Bibliographique
I.1	L'apithérapie:
I.2	Qu'est-ce que la propolis ?
I.2.1	Définition:
I.2.2	Origine de la propolis
I.3	Caractéristiques physico-chimiques de la propolis :
I.4	Composition de la propolis :
I.5	Rôle de la propolis dans la ruche :
I.6	Récolte de la propolis9
I.7	Conservation
I.8	Les propriétés thérapeutiques :
I.8.1	Effet anti-inflammatoire de la propolis :
I.8.2	Effet antibactérienne de la propolis :
I.8.3	Effetantioxydantede la propolis :
I.8.4	Effet antifongique :
I.8.5	Effet anesthésique

II.1	Lieux des expérimentations :	12
II.2	Matériel biologique :	12
II.2.1	Matériel végétal :	12
II.2.2	Matériel animal :	14
II.2.3	Souches microbiennes	14
II.3	Matériel non biologique	14
II.4	Méthodes	15
II.4.1	Préparation d'extrait	15
II.4.2	Test phytochimique	15
II.4.3	Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo	16
II.4.4	Evaluation de l'activité anti microbienne in vitro	19
II.4.5	Evaluation de l'activité antioxydante in vitro	21
	Chapitre III : Résultat et Discussion	
III.1	Résultats du screening phytochimique	23
III.2	Résultat de l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire intestinale in vivo	
		24
III.3	Résultat de l'évaluation du pouvoir antibactérien	34
III.4	Résultat de l'évaluation du pouvoir antioxydant	37
(	Conclusion et perspectives	41
F	Référence bibliographique	43
A	Annexes	



#### Introduction

#### « Quand rien d'autre n'aide : Essayez la puissance de l'abeille » ... Paul Enders.

L'abeille est l'un des symboles les plus éloquents de la magnificence de la création divine, citée dans le Saint Coran pour l'importance de son rôle et l'abondance de ses bienfaits. Présente sur notre planète depuis environ 125 millions d'années, l'espèce *Apis mellifera L*. vit en colonies hautement structurées, produisant différentes substances naturelles qui leur sont vitales et qui sont également exploitées par l'homme à des fins thérapeutiques et économiques.

Les produits issus des abeilles se divisent en deux catégories : ceux générés directement par elles, comme la cire, le venin et la gelée royale ; et ceux qu'elles transforment à partir de matières végétales, comme le miel, le pollen et la propolis (Bankova et *al.* 2018). Ces produits ont été utilisés depuis des millénaires et ont traversé les civilisations et les croyances religieuses, où ils étaient souvent valorisés pour leurs propriétés médicinales et spirituelles (Bogdanov, 2016).

Parmi ces produits, la propolis que l'on appelait déjà à l'époque d'Aristote les « larmes des arbres » est une résine récoltée par les abeilles sur les bourgeons et sécrète de végétation situées à proximité de la ruche (Trusheva et *al.* 2011) Elle est composée principalement de résines (50 %), de cire (30 %), d'huiles essentielles (10 %), de pollen (5 %) ainsi que de divers autres éléments organiques. Sa composition varie selon de nombreux facteurs, notamment l'origine végétale, la région, les conditions climatiques et la période de récolte (Galvo et *al.* 2007; Kumazawa et *al.* 2008).

Dotée de multiples propriétés biologiques et pharmacologiques, la propolis est reconnue pour ses actions antioxydantes, antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiinflammatoires et même anti tumorales (Anjum et al. 2018). Dans un contexte mondial où la
résistance aux antibiotiques devient une menace croissante, l'exploration de solutions
alternatives naturelles comme la propolis suscite un intérêt renouvelé. Ces composés issus de
la nature pourraient bien offrir des pistes intéressantes face aux infections résistantes. Des
preuves récentes suggèrent que la propolis pourrait être un candidat dans le traitement des
maladies inflammatoires chroniques de l'intestin (MICI), en raison de sa capacité potentielle à
moduler le microbiote intestinal, les voies inflammatoires et la réponse immunitaire (AlHariri, 2019; Franchin et al. 2018; Xue et al. 2019).

La présente étude vise à évaluer quelques activités biologiques de la propolis en particulier l'activité anti-inflammatoire intestinale in *vivo*, le pouvoir antibactérien et antioxydant. Ce travail englobe trois parties, une synthèse bibliographique renfermant des généralités sur la propolis et une partie expérimentale qui présente le screening phytochimique et l'étude de quelques activités biologiques : anti-inflammatoire in *vivo*, antibactérienne et antioxydante in *vitro*, et enfin une partie résultats et discussion consacrée à l'analyse et l'interprétation des données obtenues.

Chapitre I : Synthèse

Bibliographique

#### I.1 L'apithérapie :

L'api thérapiedésigne l'usage thérapeutique des produits issus de la ruche. Elle fait partie des médecines alternatives ou traditionnelles et repose sur les vertus naturelles de ces substances (Bodeker et al.,2005). L'intérêt clinique pour les produits de l'abeille s'explique par leurs propriétés pharmacologiques et biologiques prometteuses. Ces bienfaits sont principalement attribués à la richesse en composés phytochimiques, notamment les flavonoïdes et les composés phénoliques (Selamoglu et al., 2019).

#### I.2 Qu'est-ce que la propolis ?

#### I.2.1 Définition :

La propolis est une substance élaborée par les abeilles à partir d'un assemblage de cire et de composés végétaux variés tels que les bourgeons, les résines ou la sève. Au sein de la ruche, elle sert à obturer les petites brèches et fissures, protégeant ainsi la colonie contre les menaces extérieures comme les agents pathogènes, les parasites ou les variations climatiques (**Donadieu**, 2008).

#### I.2.2 Origine de la propolis

Selon plusieurs études, la propolis tire son origine de trois principales sources naturelles

#### Sources végétales

Les abeilles extraient des substances résineuses de certains arbres comme le pin, le bouleau ou encore le châtaignier. La nature de ces végétaux, qui varie selon les régions et la flore locale, influence directement la composition chimique de la propolis (Bankova et al., 2000; Bogdanov, 2016).

#### • Contribution animale

En plus des matières végétales, les abeilles ajoutent leurs propres sécrétions, telles que la salive, la cire et des enzymes spécifiques. Ces composés jouent un rôle essentiel dans la transformation et l'assemblage des matériaux récoltés (Bankova et al, 2000).

#### Composés secondaires

Des substances présentes dans l'environnement de la ruche, notamment le pollen, le nectar ou des traces de miel, peuvent également se mêler à la propolis au cours de son élaboration (Bogdanov, 2016).

## I.3 Caractéristiques physico-chimiques de la propolis :

Il est crucial de caractériser physiquement et chimiquement la propolis afin d'obtenir un produit conforme aux standards de qualité exigés par le marché.

Tableau I : Caractéristiques physico-chimiques de la propolis

Propriétés	Description
Consistance	<ul> <li>✓ La propolis change de texture selon la température : <ul> <li>- À -15 °C : solide et cassante</li> <li>- À 30 °C : douce et malléable</li> <li>- Entre 30-60 °C : liquide et visqueuse (krell, 1996).</li> </ul> </li> </ul>
Couleur	✓ Varie entre jaune pâle et brun très sombre, selon l'origine. Peut aller du presque noir aux nuances de brun (jaune, vert, rouge). (Figure 1) (Tosi et Enzo, 2006)
Saveur	✓ Habituellement épicée, parfois amère (Donadieu, 2008)
Odeur	✓ Dépend de l'origine botanique, généralement sucrée et agréable, avec des notes de miel, cire, cannelle, vanille, etc. Parfum subtil lorsqu'elle est brûlée. (Metzner et al., 1978;Nikolaev, 1978;Donadieu, 2008).

Solubilité	<ul> <li>✓ Solubilité partielle dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme, le benzène, etc.</li> <li>✓ La portion insoluble contient des tissus végétaux, du pollen, etc. (Boufadi, 2014)</li> </ul>
Point de fusion	✓ Environ 70°C. La propolis présente une portion adhésive et une section liquide ayant diverses applications en apiculture. ( <b>Donadieu</b> , 2008)
Densité	✓ Densité de 1,2, supérieure à celle de l'eau.( <b>Donadieu</b> , 2008)



**Figure 01 :** Présentation des différents types de propolis brésilienne. (A) propolis verte sur le collecteur intelligent, (B) propolis brune et (C) propolis rouge (**Berretta et** *al.*, **2017**).

#### I.4 Composition de la propolis :

La majorité des études phytochimiques ont montré que la propolis est un mélange complexe composé majoritairement de résines, de cires, d'huiles essentielles, de pollen et de nombreuses substances bioactives,((Bonvehi et al., 1994;Abd El Hady et al., 2002; Hossain et al., 2022).

Tableau II: Profil phytochimique de la propolis

Classe biochimique	Principaux composés	Structure chimique
Flavonoïdes	Quercétine (C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> ), pinocembrine (C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub> ),etc	HO OH OH OH OH OH
	(Bonvehi et <i>al.</i> , 1994).	C <sub>15</sub> H <sub>10</sub> O <sub>7</sub> C <sub>15</sub> H <sub>12</sub> O <sub>4</sub>
Acides phénoliques	Acide caféique (C <sub>9</sub> H <sub>8</sub> O <sub>4</sub> , acide cinnamique (C6H5-CH=CH-COOH)etc ( <b>Abd El Hady et </b> <i>al.</i> , <b>2002</b> ).	HO OH OH OH C9H8O4 C6H5-CH=CH-COOH
Esters phénoliques	CAPE(C <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> ),etc ( <b>Abd El Hady et</b> <i>al.</i> , <b>2002</b> ).	но он С <sub>17</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub>
Terpènes et sesquiterpènes	$β$ -caryophyllène( $C_{15}H_{24}$ ), artepilline $C$ ( $C_{19}H_{24}O_3$ ),etc ( <b>Bonvehi</b> et <i>al.</i> , 1994).	СН <sub>3</sub> H <sub>2</sub> С Н  CH <sub>3</sub> HO  OH  CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> CH <sub>3</sub> C <sub>19</sub> H <sub>24</sub> O <sub>3</sub>
Acides aliphatiques	Acide octanoïque(C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub> ) (Bonvehi et <i>al.</i> , 1994).	HO C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>

Sucres	Glucose, fructose, saccharose (Hossain et al., 2022).	НО ОН ОН ОН ОН ОН ОН ОН
Cires	Esters de longues chaînes, alcools gras, acides gras (Hossain et al., 2022).	(Pas de structure unique – mélange complexe)
Vitamines	Vitamine A (rétinol $C_{20}H_{30}O$ ), B1 (thiamine $C_{12}H_{30}N_4OS^+$ ),etc (Bonvehi et al., 1994).	$C_{12}H_{30}O$ $C_{12}H_{30}N_{4}OS^{+}$
Minéraux	Calcium, fer, magnésium, potassium, zinc (Bonvehi et al., 1994).	(Éléments – pas de structure organique)
Autres composés	Tyrosol(C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub> ), acides aminés, alcools aromatiques ( <b>Hossain et </b> <i>al.</i> , <b>2022</b> ).	C <sub>8</sub> H <sub>10</sub> O <sub>2</sub>

### I.5 Rôle de la propolis dans la ruche :

Selon **Darrigol** (2007), la propolis remplit de nombreuses fonctions cruciales pour les abeilles, Elle sert principalement au calfeutrage et à l'isolation, en bouchant les fissures et ouvertures afin d'assurer l'étanchéité et d'améliorer l'isolation thermique. En hiver, les abeilles réduisent l'ouverture principale de la ruche à l'aide de propolis pour limiter les courants d'air et stabiliser la température interne. Elle agit aussi comme une barrière contre

l'invasion d'animaux, tels que les souris ou les grenouilles. Une fine couche de propolis est déposée sur les parois internes, et les cadres sont collés entre eux, ce qui freine la propagation des germes et contribue à l'assainissement de la ruche. La propolis est également utilisée pour empêcher les parasites et les infections, notamment en enrichissant les cellules destinées au couvain, preuve que les abeilles cherchent à protéger avec soin les jeunes. Lorsqu'un petit animal meurt dans la ruche et ne peut être évacué, il est entièrement recouvert de propolis, ce qui empêche sa décomposition.



**Figure 02:** Un crâne de souris enveloppé de propolis trouvé dans une colonie d'abeilles dans un rucher de l'Université du Minnesota. (**Simone-Finstrom et Spivak., 2010**)

#### I.6 Récolte de la propolis

L'homme peut récolter la propolis de différentes manières. Une méthode courante consiste à gratter manuellement les cadres, les coins et les couvercles de la ruche lors des inspections régulières. Bien que cette technique soit simple et utile pour garder les éléments de la ruche propres et manipulables, elle ne permet pas d'obtenir une propolis de grande pureté. En effet, le produit collecté par ce biais contient souvent diverses impuretés : fragments de bois, cire, ou restes d'insectes comme des pattes ou des ailes d'abeilles (Rhouat et Seguini., 2011).

Pour obtenir une propolis de meilleure qualité, une autre méthode consiste à utiliser un filet en plastique souple et perforé placé à la place du couvre-cadres. Ce dispositif incite les abeilles à combler les interstices avec de la propolis. Une fois le filet rempli, l'apiculteur le retire et le place au froid (dans un réfrigérateur, par exemple), ce qui rend la propolis plus cassante et donc plus facile à détacher. Il suffit alors d'enrouler le filet au-dessus d'un récipient ou d'un tissu propre pour récupérer la substance (Rhouat et Seguini., 2011).

#### I.7 Conservation

La propolis se garde assez aisément, dans des conditions optimales, sans nécessiter de mesures particulières. Néanmoins, il semble préférable de la conserver dans des contenants non transparents, hermétiques et protégés de la lumière et de la chaleur (idéalement à une température de 10 ou 12°C). De multiples expériences est démontré que la conservation de la propolis sur une longue période ne réduit ni sa concentration en composés chimiques, ni ses propriétés biologiques (Krell, 1996).

#### I.8 Les propriétés thérapeutiques :

#### I.8.1 Effet anti-inflammatoire de la propolis :

D'après Borrelli et al., (2002), la propolis est reconnue pour ses puissantes propriétés anti-inflammatoires, aussi bien dans les inflammations aiguës que chroniques. Ces effets sont principalement attribués à la présence de composés bioactifs tels que la caféique acide phénéthyl ester (CAPE), la chrysin, le pinocembrin et divers acides phénoliques (**Toreti et al., 2013**; **Borrelli et al., 2002**). Le CAPE, considéré comme le principal agent actif, inhibe la libération d'acide arachidonique, module les enzymes COX-1 et COX-2, et réduit la production de cytokines pro-inflammatoires comme l'IL-1β et le TNF-α (**Michaluart et al., 1999**; **Mirzoeva et Calder, 1996**; **Moura et al., 2011**).

#### I.8.2 Effet antibactérienne de la propolis :

D'après Pamplona-Zomenhan et *al.* (2011), la richesse en composés bioactifs tels que les polyphénols, les terpènes et les composés aromatiques confère à la propolis une activité antibactérienne notable, car la présence de plusieurs composés actifs en proportions variables empêche l'apparition de résistances bactériennes. Cette efficacité serait renforcée par la synergie entre ses différents constituants, réduisant ainsi le risque de résistance bactérienne ( **Bouchelaghem et** *al.*, 2022).

#### I.8.3 Effetantioxydantede la propolis :

La propolis possède une activité antioxydante marquée, principalement attribuée à ses flavonoïdes et au CAPE (ester phényléthylique de l'acide caféique). Ce composé inhibe la production de ROS, réduisant ainsi le stress oxydatif (Hoşnuter et al., 2004; Mohdaly et al., 2015). Elle limite également la peroxydation lipidique et la formation de radicaux libres (Ohkawa et al., 1979; Tatli Seven et al., 2009). À faibles doses, les flavonoïdes comme la chrysin, la pinocembrine ou la galangine exercent une action antioxydante, et à doses plus élevées, un effet anti-inflammatoire (Xu et al., 2022).

#### I.8.4 Effet antifongique:

La propolis représente une alternative naturelle prometteuse pour le traitement antifongique, en particulier contre les infections cutanées ou systémiques provoquées par *Candida*, les dermatophytes et d'autres champignons. Contrairement aux antifongiques synthétiques, elle présente peu d'effets secondaires indésirables.

#### I.8.5 Effet anesthésique

La propolis, grâce à ses composants actifs, possède un puissant effet anesthésiant, estimé environ trois fois plus fort que celui de la cocaïne. (**Ghisalberti, 1979**).

#### II.1 Lieux des expérimentations :

L'étude présentée a été effectuée sur une période de 03 mois, allant du mois d'avril 2025 Jusqu'au mois du Juin 2025.

Le travail a été mené au sein de plusieurs structures scientifiques :

• L'extraction et le screening phytochimique : ont été réalisés au niveau du laboratoire des projets de fin d'étude « PFE », faculté des sciences de la nature et de la vie, Université de Blida 1.

Les différentes activités biologiques ont été étudiées au niveau de :

- Activité antimicrobienne : Laboratoire de microbiologie de l'hôpital de CHU Frantz Fanon, Wilaya de Blida.
- Activité antioxydante : Laboratoire de recherche biotechnologies, environnement et santé, faculté des sciences de la nature et de la vie, université de Blida1.
- Activité anti-inflammatoire : Le laboratoire pharmaceutique du centre de recherche Saidal « CRD »à Gué de Constantine, Alger.
- Histopathologie: Laboratoire d'anatomie pathologique du docteur Khemsi, Wilaya de Blida.

#### • Objectif:

Cette étude vise à évaluer in *vitro* et in *vivo* les propriétés biologiques et phytochimiques de la propolis récoltée dans la région de Chinoua (Algérie), notamment pour son potentiel anti-inflammatoire intestinal, antimicrobien et antioxydante.

L'objectif est de mettre en évidence les effets pharmacologiques de la propolis à travers :

- Une évaluation de l'effet anti-inflammatoire intestinal in *vivo* sur un modèle murin de colite induite par l'acide acétique
- Une évaluation de l'activité antimicrobienne in *vitro* contre différentes souches pathogènes (bactéries et levures), et une analyse de l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de propolis par le test DPPH.

#### II.2 Matériel biologique :

#### II.2.1 Matériel végétal :

La propolis a été achetée auprès de la ruche de Slimi, située à Douaouda, dans la wilaya d'Alger. Elle a été récoltée par leurs soins, selon la méthode de Grille, dans la région

de Chinoua, à la fin du mois de février, à partir de l'abeille *Apis mellifera intermissa*. Des étapes précises ont ensuite été mises en œuvre afin de la rendre soluble :

#### • Séchage à froid :

La propolis a été placée au réfrigérateur pendant 24 heures, ce qui lui a permis de durcir et de réduire sa texture circuse, facilitant ainsi le broyage.

#### • Broyage:

Le broyage de la propolis a été effectué à l'aide d'un broyeur à mâchoires pendant quelques secondes, en évitant une durée trop longue. À la fin, la propolis devient fine et bien broyée.



**Figure 03 : A :** Matériel végétal utilisé : Propolis, **B :** Propolis après séchage à froid, **C** : Obtention de propolis fine (**photo originale 2025**)

#### II.2.2 Matériel animal:

Afin d'évaluer le pouvoir anti-inflammatoire intestinal in vivo, on a utilisé des souris males albinos de souche NMRI pesant entre 25 et 30g, issus par élevage à l'animalerie de l'institut Pasteur d'Alger. Ces souris ont été hébergées dans des cages en plastique avec un couvercle en acier inoxydable, et réparties en 04 lots contenant 08 souris chacun, dans des conditions contrôlées de température maintenue à  $25 \pm 2^{\circ}$ C, une humidité relative de 60-70%, et un cycle de lumière/obscurité de12h (Annexe 3).

#### II.2.3 Souches microbiennes

L'activité antimicrobienne a été testée contre trois souches bactériennes de référence ATCC, et une levure fournie par le laboratoire de microbiologie et parasitologie de l'hôpital Frantz fanon de Blida (Tableau III).

Tableau III : Origine et références des souches testées

<b>Echantillons Germes</b>	Origine	Gram	Provenance
Escherichia coli	ATCC 25922	-	
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 27853	-	Laboratoire centrale de l'hôpital CHU
Staphylococcus aureus	ATCC 25923	+	Frantz Fanon
Candida albicans	ATCC 10231	/	

#### II.3 Matériel non biologique

L'ensemble du matériel non biologique comprenant : de la verrerie, d'équipements, d'appareils, de réactifs et de produits chimiques est regroupé en (Annexe 1).

#### II.4 Méthodes

#### II.4.1 Préparation d'extrait

#### • Extrait aqueux

Afin d'évaluer le pouvoir anti-inflammatoire intestinal de la propolis, un extrait aqueux a été préparé selon une méthode adaptée. Environ 1,35 g de propolis ont été solubilisés dans 15 ml d'eau distillée froide, sans chauffage préalable. Le mélange a été placé dans un agitateur pendant quelque heure. Afin de favoriser la solubilisation des constituants actifs, quelques gouttes de Tween 80 ont été ajoutées. L'extrait a été filtré à l'aide d'un papier filtre Whatman, et le filtrat a été recueilli dans un récipient stérile et opaque.

Pour l'évaluation de l'effet antimicrobien, et selon quelques modifications du protocole décrit par Laleni et *al.*,(2021), 5 g de propolis ont été solubilisés dans 50 ml d'eau distillée froide (non chauffée).Quelques gouttes de Tween 80 ont été ajoutées afin de faciliter la solubilisation des composants. Le mélange a ensuite été agité à l'aide d'un agitateur pendant 24 heures. (L'annexe 3).

#### • Extrait méthanolique

L'extraction méthanolique de la propolis a été réalisée en suivant le protocole expérimental décrit par Welti (2009), avec quelques ajustements. Ainsi, 10 g de propolisen poudre ont été macérés à froid dans 100 ml de méthanol sous agitation constante pendant 24 heures. Le mélange obtenu a ensuite été filtré à l'aide de papier filtre Whatman. Le résidu sec a été récupéré par un séchage à l'étuve à 40 °C.

#### II.4.2 Test phytochimique

Le screening ou le criblage phytochimique est un processus d'analyses préliminaires qualitatives. Ces analyses visent à mettre en évidence la présence ou l'absence de certains principes actifs dans un extrait de la propolis. On a opté le protocole décrit par **Boudjemaet** *al.*, (2021). (L'annexe 2).

#### Mise en évidence des flavonoïdes

Un volume de 2 ml d'extrait méthanolique de propolis a été mélangé à 1 ml de solution de NaOH à 10 %, suivi de l'ajout de quelques gouttes d'acide chlorhydrique (HCl). L'apparition d'une coloration jaune indique la présence de flavonoïdes dans l'échantillon.

#### • Mise en évidence des saponines

La détection des saponines a été effectuée en ajoutant 5 ml d'eau distillée à 2 ml d'extrait méthanolique de propolis. Après une agitation vigoureuse pendant 30 secondes, la formation d'une mousse d'une hauteur supérieure à 1 cm, persistant plus de 10 minutes, confirme la présence de saponines.

#### • Mise en évidence des tanins

La présence de tanins dans l'extrait méthanolique a été mise en évidence par l'ajout de quelques gouttes de chlorure ferrique (FeCl<sub>3</sub>) à 1 % à 2 ml de l'extrait. L'apparition d'une coloration bleu-noir indique la présence de tanins galliques, tandis que la coloration bleu verdâtre révèle la présence de tanins catéchiques.

#### II.4.3 Evaluation de l'activité anti-inflammatoire in vivo

L'activité anti-inflammatoire intestinale de la propolis a été testée sur 32 souris. La veille de l'expérimentation, les souris ont été répartir en quatre(4) groupes, huit (8) souris par lot. Ils ont ensuite été pesés et identifiées au niveau de la queue avec un feutre indélébile. Les souris ont été mises à jeun entre 8h à 12h avant le début d'expérience avec un accès libre à 1'eau (L'annexe 3).

Le protocole expérimental suivi pour l'induction des colites a été réalisé selon les procédures standards du centre de recherche CRD-SAIDAL.

#### Principe :

- L'inflammation intestinale a été induite par voie rectale a l'aide d'une solution d'acide acétique à 5%, afin de reproduire un model expérimentale de colite.
- Les souris ont d'abord été anesthésiées par injection intra-péritonéale. Une fois la perte de conscience confirmée, les animaux ont été placés en position de déclive (tête en bas), maintenus délicatement par la queue pour faciliter l'introduction d'une sonde rectale.

- Un lavage rectal a été réalisé à l'aide de sérum physiologique stérile (NaCl 0,9%), afin d'éliminer les matières fécales.

- -La colite a ensuite été induite par administration rectale de 150μl d'acide acétique (AA) à 5%.
- Deux heures après l'induction, les traitements ont été initiés par voie orale (gavage) pendant
  7 jours.
- Les lots expérimentaux ont été répartis comme suit :
- Lot témoin négatif (T-) : ne reçoit ni induction ni traitement
- Lot témoin positif (T+) : reçoit uniquement d'acide acétique
- Lot référence : reçoit de l'acide acétique suivi un traitement à base de sulfasalazine 500mg.
- Lot essai (propolis) : reçoit de l'acide acétique suivi d'un traitement à la propolis 500mg/kg. (L'annexe 3).

#### • Suivi clinique et scores :

Un suivi clinique quotidien a été réalisé tout au long du traitement pour évaluer la progression de la colite induite. L'état de santé des animaux a été quantifié à l'aide de l'indice d'activité de la maladie (IAM) portant sur la somme des scores de trois paramètres principaux suivants :

• **Perte de poids :** évolution pondérale pendant les 7 jours de traitement

**Tableau IV :** Score de la variation de poids

Signification	Score
Aucun	0
1–5 %	1
5–10 %	2
10–15 %	3
>15 %	4

• Consistance des selles : notant l'aspect des selles (normales, molles, diarrhéiques)

**Tableau V :** Score de la consistance des selles

Signification	Score
Absent	0
Léger	2
Important	4

#### • Saignements

**Tableau VI :** Score des saignements

Signification	Score
Normale	0
Molle	2
Diarrhée	4

Un score globale de sévérité a été calculé en additionnant le scores des trois paramètres afin de déterminer le score IAM maximal est plus de 3.

#### • Sacrifice des souris

Au 8<sup>ème</sup> jour les souris ont été euthanasiées conformément aux règles éthiques en vigueur. Les souris ont été sacrifiées par dislocation cervicale après anesthésie parentérale (Annexe 3).

#### • Observation macroscopique et évaluation de l'inflammation

Après euthanasiées, une dissection abdominale a été réalisée afin d'isoler le côlon. Celui-ci a été soigneusement sectionné à deux extrémités anatomiques précises

- En amont de la jonction iléo-caecale.
- En aval à l'extrémité distale du rectum.

Le segment comique ainsi obtenu a été soigneusement rincé à l'eau physiologique stérile pour éliminer les résidus fécaux avant l'analyse macroscopique (Annexe 3).

L'évaluation macroscopique de l'inflammation a été réalisée selon une grille de cotation standardisée, en prenant en compte les critères suivants :

- Présence ou absence d'érythème muqueux
- Érosion superficielle ou profonde
- Ulcération étendue ou localisée
- Inflammation importante ou légère. Les critères d'évaluation des dommages macroscopiques ont été exprimés par des scores.

#### **♣** Mesure du poids et de la longueur du côlon

Les segments coliques isolés de chaque lot ont été pesés, tandis que leurs longueurs ont été déterminées à l'aide d'un pied à coulisse numérique (Annexe 3). Ces deux paramètres ont permis de calculer le rapport poids / longueur (P/L), un indicateur quantitatif de l'œdème inflammatoire.

A la fin, des fragments de côlon ont été fixés dans du formol à 10% afin de procéder à une analyse histopathologie pour confirmer les observations macroscopiques.

#### • Etude histopathologie

Les lames des coupes histologiques ont été réalisées sur le côlon au laboratoire d'anatomie pathologique du docteur Khemsi et interprétées à l'hôpital de Frantz Fanon à Blida (Annexe 3)

#### • Analyse statistique

L'analyse statistique et l'interprétation des résultats ont été réalisées à l'aide du Microsoft Office Excel 2010. Les données ont été exprimées sous forme de moyenne ± SEM, et les comparaisons entre les groupes ont été effectuées à l'aide du test t de Student.

#### II.4.4 Evaluation de l'activité anti microbienne in vitro

L'activité antibactérienne de l'extrait aqueux de la propolis a été évalué in *vitro* vis-àvis quatre souches (**Tableau III**) par la méthode de diffusion en gélose 'la technique des puits' a été réalisée selon le protocole décrit par **Balouiri.**, *et al* (2016).

Chapitre II Matériel et méthodes

### • Réactivation et culture des souches microbiennes :

Les charges microbiennes de toutes les suspensions sont conformes aux normes du **NCCLS** (anciennement Clinical and Laboratory Institutes) pour les souches bactériennes et la levure *Candida albicans*.

Les souches de référence et la levure utilisée (voire le tableau). Ont été réactivées par passage sur bouillon nutritif, suivi d'un repiquage sur gélose nutritive. Après incubation à 37 °C pendant 24 h, les cultures fraîches ont servi à la préparation des suspensions bactériennes

## • Préparation de l'inoculum :

À partir des cultures pures, quatre colonies bien isolées ont été prélevées à l'aide d'une anse de platine stérile et suspendues dans 10 ml de solution saline stérile (NaCl 0,9 %). Cette suspension a été homogénéisée puis ajustée à la norme de densité optique de 0,5 McFarland ( $\sim 1.5 \times 10^8$  UFC/ml).

### • Ensemencement et distribution de l'extrait dans les puits

Les boîtes de Pétri ont été préalablement remplies de gélose Mueller-Hinton (MHA). L'ensemencement a été réalisé par écouvillonnage : l'écouvillon trempé dans la suspension microbienne a été passé uniformément sur toute la surface de la gélose en réalisant trois passages croisés à 60° d'intervalle. À l'aide d'une pipette pasteur en verre stérile, des puits de 6 mm de diamètre ont été creusés dans la gélose. Chaque puits a été rempli de 50 µL d'extrait aqueux de propolis. Un puits témoin positif contenant un antibiotique de référence (l'amoxicilline) et un puits témoin négatif (eau distillée) ont été également inclus pour chaque boîte (l'Annexe 4).

### Incubation

L'incubation a ensuite été effectuée à une température de 37°C pendant une durée de 12 à 24 heures et 30–37 °C pendant 72 heures pour les levures (*Candida albicans*)

## • Lecture des résultats Après incubation :

Les diamètres des zones d'inhibition autour des puits ont été mesurés en millimètres à l'aide d'un calibre à coulisse. La présence d'une zone claire autour d'un puits indique une

Chapitre II Matériel et méthodes

activité antimicrobienne. Plus le diamètre est important, plus l'activité est jugée forte. D'après les critères de Mutai et *al.* (2009) :

- Fortement inhibitrice :  $21 \text{ mm} \le D \le 29 \text{ mm}$ 

- Modérément inhibitrice :  $16 \text{ mm} \le D \le 20 \text{ mm}$ 

- Légèrement inhibitrice :  $10 \text{ mm} \le D \le 15 \text{ mm}$ 

## II.4.5 Evaluation de l'activité antioxydante in vitro

L'activité antioxydante in *vitro* de l'extrait méthanolique de propolis a été évaluée à l'aide du test de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle). Ce test repose sur la capacité des antioxydants à neutraliser le radical libre DPPH, caractérisé par sa couleur violette, qui se transforme en une forme réduite jaune (l'hydrazine) lorsqu'il réagit avec des donneurs d'hydrogène. La diminution de la coloration violette, mesurée par spectrophotométrie, est proportionnelle à l'activité antioxydante de l'échantillon testé et dépend également du temps de réaction (Sánchez-Moreno C., 2002).

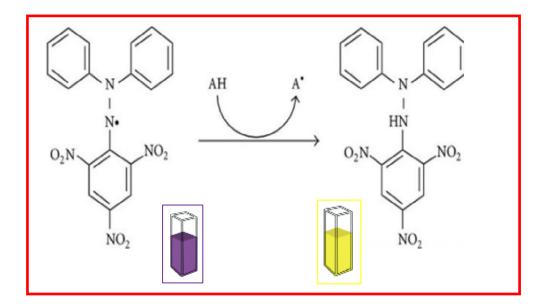


Figure 04 : Principe du test de DPPH (DROUCHE I, 2022)

En suivant le protocole de DPPH avec quelques ajustements rapportés par **Fahmi H.** et *al.* (2019), l'activité anti-radicalaire de l'extrait méthanolique de propolis a été analysée.

Chapitre II Matériel et méthodes

Une solution de DPPH à 0,1 mm a été préparée dans le méthanol. Pour chaque essai, 1 ml de cette solution a été mélangé à 1 ml d'extrait méthanolique de propolis ou à un antioxydant de référence, dissous dans le même solvant à différentes concentrations. Après une incubation de

30 minutes à température ambiante, à l'abri de la lumière, l'absorbance des mélanges a été

mesurée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

Le pouvoir anti-radicalaire a été exprimé en pourcentage de décoloration du DPPH, en

comparaison à un témoin négatif contenant uniquement la solution de DPPH, selon la formule

suivante:

- AAR % = [(abs contrôle – abs échantillon) / abs contrôle] X 100

Avec:

- AAR: activité anti-radicalaire

- ABS: l'absorbance mesurée à 517 nm.

- Les résultats ont été exprimés en pourcentage d'inhibition (ou AAR %) et en CI 50

(Concentration de l'échantillon nécessaire pour neutraliser 50% des radicaux libres).

22

## III.1 Résultats du screening phytochimique

L'analyse qualitative par les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait méthanolique de la propolis nous a permis de révéler la présence de certains métabolites secondaires (tableau **VII**).

**Tableau VII**: Caractérisation phytochimique de quelques métabolites secondaires de l'extrait méthanolique de la propolis.

Métabolites secondaires	Résultat
Les flavonoïdes	+++
Les saponines	+++
Les tanins	+++

(+++), (++), (+): élevé, modéré et faible.

Les résultats obtenus lors de cette étude corroborent avec les résultats rapportés par **Kurek-Górecka et al.**, (2013), qui ont signalé une forte teneur en flavonoïdes dans l'extrait de propolis comme la chrysin, la galangine et la pinocembrine, connus pour leurs propriétés antioxydantes et antimicrobiennes.

Nos data sont également soutenus par les travaux de **Mahamat et al.**, (2024), qui ont aussi révélé la présence des saponines dans un extrait de propolis, montrant que ces composés peuvent être facilement extraits avec un solvant polaire comme le méthanol. Quant à la présence des tanins dans l'extrait méthanolique de la propolis, nos résultats sont similaires à ceux rapportés par **do Nascimento et al.**, (2018), qui avaient également signalé la présence des tanins dans des extraits commerciaux de propolis.

### III.2 Résultat de l'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire intestinale in vivo

## **Les Evolution pondérale**

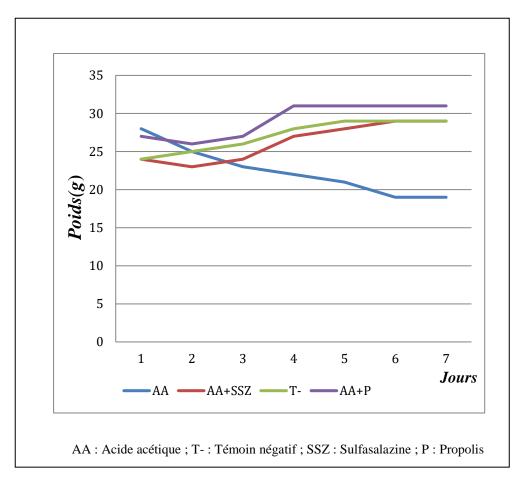
Une forte chute de poids a été observée dans le lot ayant reçu l'acide acétique (22.4  $\pm$  1,63 g), comparé au lot témoin (0  $\pm$  0g). Le groupe traité par le produit de référence (26.28 $\pm$  1.28g), a montré une perte modérée, stabilisée à partir du deuxième jour, avec une différence hautement significative par rapport au groupe témoin (p <0.05).

Quant au lot traité par l'extrait aqueux de propolis, une diminution de poids a été observée au début, suivie d'un gain progressif dès le troisième jour  $(29 \pm 1.17g)$ .

Le lot traité par l'extrait aqueux de propolis a présenté une perte réduite , avec une différence statistiquement significative par rapport au lot acide acétique (p < 0.05). En revanche, aucune différence significative a été observée entre le lot propolis et le lot de référence (p = 0.05), suggérant une efficacité comparable.

Dans la rectocolite hémorragique (RCH), la perte de poids est l'une des manifestations cliniques les plus marquantes de la maladie **Silk et al.**,( 1989). Dans notre étude, une forte chute de poids a été observée dans le lot ayant reçu l'acide acétique à partir du 2<sup>éme</sup> jour. Ce résultat est similaire à celui rapporté par **Ghatule et al.**, (2012), qui ont constaté que les animaux atteints de colite induite par l'acide acétique présentaient une réduction du poids corporel dès le deuxième jour.

Nous avons constaté que le lot traité avec l'extrait aqueux de propolis présentait une perte de poids réduite, avec une différence hautement significative (p < 0.05) par rapport au lot acide acétique. Cet extrait de propolis a permis une augmentation du poids chez les souris au cours du traitement, ce qui suggère un effet bénéfique de la propolis. Cela pourrait être dû à la restauration des fonctions épithéliales, comme l'indique également l'étude de **Ghatule et** *al.*, (2012), où une augmentation similaire du poids corporel a été observée chez les animaux traités, bien qu'une autre plante ait été utilisée dans leur étude.



**Figure 05 :** Effet de l'extrait aqueux de propolis sur le poids corporel des souris (moyenne± SEM, (p < 0.05) est considéré comme significatif)

## **4** Consistance des selles

Le groupe traité par l'acide acétique (AA) , a présenté une diarrhée marquée dès le deuxième jour d'expérimentation (J2), traduisant une inflammation intestinale aiguë (Figure 06). En revanche, aucune altération de la consistance des selles n'a été observée chez le groupe témoin , dont les selles sont restées normales tout au long de la période d'observation. Le groupe de référence (AA + sulfasalazine) , a manifesté une diarrhée modérée durant la phase précoce (J2–J3), suivie d'une amélioration partielle entre J4 et J6, caractérisée par des selles molles. De manière similaire, le groupe traité avec l'extrait aqueux de propolis a présenté une diarrhée dès J2, suivie d'une amélioration graduelle de la consistance des selles qui restent toutefois molles. Le groupe de référence et le groupe de propolis présente une différente non significatif, cela suggérer l'efficacité de propolis pour diminuer la consistance des selles

Comparé au groupe traité par la propolis et le groupe traité à l'acide acétique, une différence hautement significative (P < 0.01) a été observée .Ce résultat est similaire à celui rapporté par **Bolat et** *al.*, (2024) ,qui ont évalué l'effet de l'extrait de propolis dans un modèle de colite induite par l'acide acétique chez les rats. Ils ont constaté une différence significative entre les deux groupes en termes de score de consistance des selles.

L'extrait aqueux de propolis a diminué la diarrhée ainsi que la fréquence des selles, mais a augmenté le poids corporel Cela pourrait être dû à la restauration des fonctions épithéliales (**Ghatule et** *al*, 2012)



Figure 06 : Observation de l'aspect des selles diarrhéiques (photo originale 2025)

## **Les saignements**

La rectocolite hémorragique se manifeste par des besoins urgents d'aller à la selle, des douleurs abdominales, une diarrhée et des rectorragies (saignement par l'anus), présentes dans plus de 90 % des cas , une diarrhée, inconstante, accompagnée de glaires et de sang. Les souris ayant reçu de l'acide acétique (AA) ont présenté, en plus de la diarrhée et des rectorragies Correspondent à une hémorragie colique se présentant sous forme de saignements rouge vif extériorisés par l'anus. Le lot acide acétique (AA) a présenté un saignement important dès le jour 2, qui s'est poursuivi jusqu'au dernier jour du traitement. Le lot essai

(propolis) a montré une absence d'hémorragie jusqu'au jour 3, où un saignement léger a été observé ; celui-ci s'est maintenu jusqu'au jour 6, où il est devenu légèrement atténué. Quant au lot de référence (AA + sulfasalazine), il a présenté un saignement léger à partir du jour 2, qui a progressivement diminué jusqu'à disparaître complètement au jour 5.

# • Score macroscopique

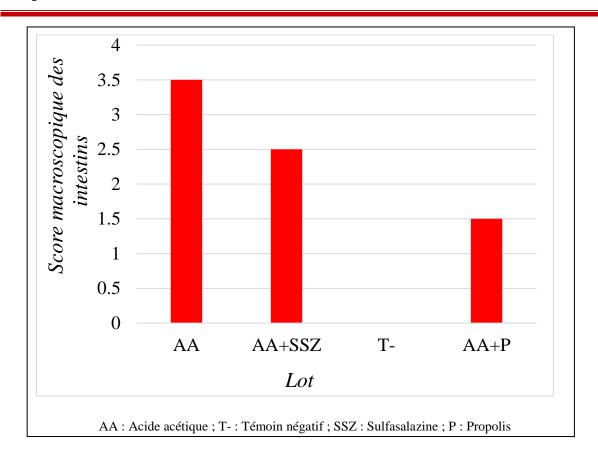
L'un des modèles animaux de colite est induit par l'acide acétique, qui reproduit certaines caractéristiques de la rectocolite hémorragique (**Bahrami et** *al.*, 2020).

Le modèle animal traité par administration rectale d'acide acétique (AA) pour induire une colite présente des signes d'inflammation. Cela a été démontré dans l'étude de **Bezzera et al.**, (2017), qui ont observé que l'AA provoquait des lésions tissulaires caractérisées par une hyperémie, des ulcérations et un œdème. Ces résultats sont similaires à ceux que nous avons obtenus : les souris du groupe traité par l'acide acétique ont présenté une inflammation importante, des érythèmes marqués, des érosions étendues ainsi que des ulcérations profondes. Chez certaines souris de ce groupe, des signes évocateurs de la maladie de Crohn ont été observés (**Figure 08**).

Selon l'analyse statistique, une différence hautement significative (p < 0.05) a été enregistrée entre le score macroscopique moyen du groupe traité par l'acide acétique et celui du groupe traité par l'extrait aqueux de propolis

Le groupe de référence (AA + sulfasalazine) et le groupe traité par l'extrait aqueux de propolis ont montré de légères ulcérations et une colite, sans différence significative entre ces deux groupes (p = 0,2070) indiquant l'effet curatif de la propolis.

Par ailleurs, une différence significative (p < 0.05) a été relevée entre le groupe témoin sain et le groupe traité à la propolis (p = 0.0020). Ce résultat est conforme à celui de **Bezzera** et al., (2017), qui ont trouvé que l'extrait hydroalcoolique de propolis rouge brésilienne réduisait significativement les scores de lésions tissulaires par rapport aux animaux traités avec le groupe témoin. Bien que le type d'extrait diffère ces résultats suggèrent que différents types d'extraits de propolis peuvent exercer un effet protecteur notable contre les lésions coliques.



**Figure 07 :** Score macroscopique chez les souris après induction de la colite par l'acide acétique 5%.(moyenne± SEM, (p < 0.05) est considéré comme significatif)



Figure 08 : Ulcère grave au niveau de l'intestin numéro 8 de lot AA (photo originale 2025)

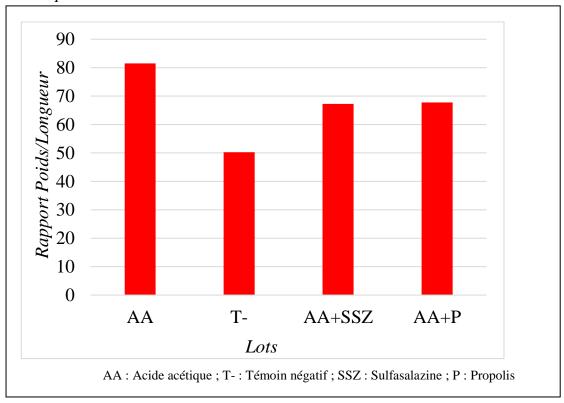
## **♣** Rapport poids/longueur moyen (mg/cm)

Le ratio poids/longueur du côlon constitue un indicateur pertinent de l'épaississement de la muqueuse (hyperplasie) et de la sévérité des lésions liées à la colite chronique ( Cid-

**Gallegos et** *al.***,2022).** Le rapport poids/longueur moyen du côlon a été significativement plus élevé dans le groupe traité à l'acide acétique ( $81,50 \pm 1.19 \text{ mg/cm}$ ) par rapport à tous les autres groupes, reflétant une inflammation importante et persistante. En revanche, le groupe témoin sain présentait le rapport poids/longueur le plus bas ( $50,25 \pm 1.75 \text{ cm/mg}$ ), ce qui traduit une absence de processus inflammatoire.

Aucune différence significative (p = 0,9480) n'a été observée entre le groupe propolis (67,75  $\pm$  1.12 mg/cm), et le groupe sulfasalazine (67,25  $\pm$  6.14 mg/cm). Ces résultats suggèrent que l'efficacité thérapeutique de l'extrait de propolis est comparable à celle de la sulfasalazine dans ce modèle de colite.

Par rapport aux souris témoins, nous avons observé que le rapport poids/longueur du côlon a augmenté dans chaque groupe. Ce résultat est similaire à celui rapporté par **Zhou et al.**, (2023), lors de la régénération des tissus du côlon, de nouveaux vaisseaux sanguins se forment et les fibroblastes prolifèrent, entraînant un épaississement du côlon Le groupe témoin présentait le rapport poids/longueur le plus bas, ce qui traduit une absence ou une faiblesse de la régénération tissulaire dans ce groupe, en raison de l'absence de traitement par acide acétique.



**Figure 09 :** Variations des rapports P/L ( mg/cm) chez les souris après induction de la colite par l'acide acétique .

## Score de l'indice d'activité de la maladie (IAM)

À partir du 2° jour de l'injection rectale d'acide acétique, nous avons évalué le (IAM) selon les critères suivants : changements du poids corporel, consistance des selles et présence de saignements (tableau VIII).

Les résultats obtenus reflètent le degré de l'installation de la pathologie dans chaque groupe

L'indice d'activité de la maladie (IAM) a été évalué quotidiennement à partir du deuxième jour (J2) jusqu'au jour7 (J7).

Dans le groupe AA, une installation marquée et persistante de la pathologie est observée tout au long de l'expérimentation, comparativement au groupe témoin. Ce résultat est similaire à celui rapporté par **Zhou et** *al.*, (2023), qui ont utilisé un modèle de colite induite par le DSS. Ils ont constaté que l'indice d'activité de la maladie (IAM) du groupe traité par le DSS était fortement augmenté par rapport aux rats témoins. Cela témoigne d'une inflammation colique sévère, traduisant l'efficacité de l'induction de la colite par l'acide acétique à 5 %.

Chez le groupe de référence (AA + sulfasalazine), on observe également une installation de la pathologie dès le jour 2 (J2), qui diminue légèrement à partir du cinquième jour. Cela suggère une réduction progressive de la sévérité des signes cliniques sous l'effet du traitement de référence.

Cependant, dans le groupe traité avec l'extrait de propolis (AA + P), les scores sont nettement plus faibles. Dès le jour 2 (J2), une installation de la pathologie est notée, avec un score IAM qui diminue rapidement. Cette évolution témoigne d'un effet anti-inflammatoire significatif de la propolis, permettant un contrôle précoce et durable de l'inflammation colique, avec une amélioration progressive de l'état des animaux.

**Tableau VIII:** Evaluation de l'indice d'activité de la maladie (IAM).

	Acide ac	cétique	Sulfasalazine		Propolis	
Scores /Jours	J2	J7	J2	J7	J2	Ј7
Variation de la perte de poids	2	4	2	1	2	0
Consistance des selles	3	3	3	1	3	1
Saignement	3	2	1	0	1	2
Moyenne	3	3	2	1	2	1
Indice IAM	Installatio de la pathologie	Installation de la pathologie	Installation de la pathologie	Faible installation de la pathologie	Installation de la pathologie	Faible installation de la pathologie

## Etude histopathologie

L'analyse microscopique des différentes coupes histologiques a permis de comparer les effets induits par l'acide acétique sur la muqueuse colique, ainsi que l'efficacité des traitements par sulfasalazine et propolis.

Chez le lot témoin négatif, la muqueuse intestinale présente une architecture histologique parfaitement conservée. La muqueuse colique est d'aspect normal, caractérisée par un épithélium cylindrique intact, des cryptes de Lieberkühn bien ordonnées, une lamina propria faiblement infiltrée par des cellules immunitaires, et une couche musculaire bien différenciée .

Dans le lot traité par l'acide acétique, la muqueuse colique apparaît œdémateuse et sévèrement altérée, avec une désorganisation tissulaire marquée, une déplétion quasi complète des cellules caliciformes, une distorsion des cryptes, un infiltrat inflammatoire dense, des ulcérations étendues, ainsi qu'un remodelage désorganisé du muscle muqueux.

Chez le lot traité par la sulfasalazine, l'architecture histologique de la paroi colique est globalement restaurée. La muqueuse colique présente un aspect normal, avec un épithélium régénéré, une population de cellules caliciformes rétablie, des cryptes régulières, une lamina propria discrètement infiltrée, et une couche musculaire préservée .

Enfin, dans le lot traité par la propolis, la muqueuse colique présente des signes d'inflammation modérée, avec une amélioration partielle de l'architecture tissulaire. On observe une repopulation incomplète des cellules caliciformes, une organisation cryptique relativement homogène, une infiltration leucocytaire modérée, quelques foyers d'ulcération focale, et une musculature conservée. Ces observations suggèrent un effet cytoprotecteur partiel de la propolis, traduisant une atténuation des lésions coliques induites par l'acide acétique, bien que moins marquée que celle observée avec la sulfasalazine (**Figure 10**).

Ces résultats sont globalement cohérents avec ceux rapportés dans l'étude sur l'extrait hydrosoluble de propolis (EHP), où une diminution de l'infiltration cellulaire inflammatoire, une perte réduite des cryptes, et un score histologique abaissé ont été notés, notamment avec des doses modérées d'EHP. À l'inverse, des signes inflammatoires plus prononcés ont été observés avec de faibles doses, suggérant que l'efficacité histologique de la propolis dépendrait fortement de sa concentration et de sa forme d'administration (**Zhou et al., 2023**).

Ainsi, bien que notre extrait aqueux ait permis une réparation partielle de la muqueuse colique, les effets protecteurs pourraient être optimisés par un ajustement de la concentration ou l'utilisation d'extraits enrichis (comme EHP), comme l'indique l'étude comparative. Ces deux travaux soutiennent donc le rôle potentiel de la propolis dans la protection de l'épithélium colique, mais soulignent l'importance de la dose et de la formulation dans l'efficacité du traitement.

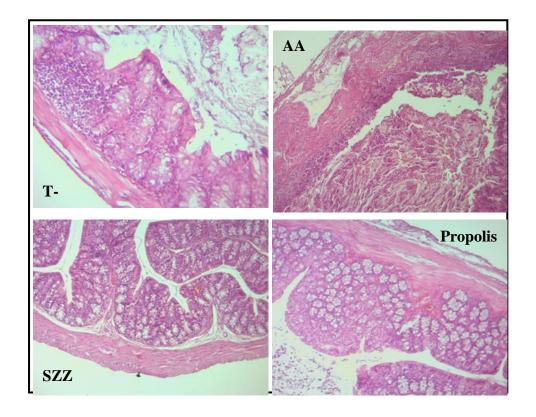


Figure 10: Effet du traitement sur l'histologie du colon des souris Grossissement : x10

En complément de nos résultats expérimentaux, plusieurs études ont confirmé l'efficacité de la propolis dans la régulation des médiateurs inflammatoires impliqués dans la colite. Par exemple, **Wang et al., (2018)** ont démontré que l'administration de propolis réduisait significativement l'expression de gènes pro-inflammatoires tels que l'interleukine-1β (IL-1β), (IL-6) et la protéine MCP-1, tout en augmentant l'expression de TGF-β, une cytokine aux effets anti-inflammatoires notables. De même, **Barbosa Bezerra et al. ,(2017)** ont rapporté une diminution marquée de l'expression de la nitric oxide synthase inductible (iNOS) au niveau du côlon chez les animaux traités par la propolis.

Par ailleurs, deux autres études (**Aslan et al., 2007**; **Atta et al., 2019**) ont mis en évidence une baisse significative des taux de NO et de TNF-α (facteur de nécrose tumorale alpha), deux médiateurs clés de l'inflammation colique. Ces données renforcent l'idée que la propolis, notamment grâce à ses composés bioactifs, exerce un effet immunomodulateur puissant, en agissant directement sur les voies inflammatoires impliquées dans la pathogenèse des MICI.

# III.3 Résultat de l'évaluation du pouvoir antibactérien

L'évaluation des activités antibactériennes de l'extrait aqueux de propolis, a été réalisée selon la méthode de diffusion en gélose par les puits.

L'interprétation des résultats est basée sur les intervalles de mesure en fonction du diamètre des zones d'inhibition de la croissance bactérienne :

• D'après les critères de Mutai et al. (2009) :

- Fortement inhibitrice :  $21 \text{ mm} \le D \le 29 \text{ mm}$ 

- Modérément inhibitrice :  $16 \text{ mm} \le D \le 20 \text{ mm}$ 

- Légèrement inhibitrice :  $10 \text{ mm} \le D \le 15 \text{ mm}$ 

Les résultats de mesure des diamètres des zones d'inhibition de la croissance des souches bactériennes obtenus sont mentionnés dans le tableau suivant :

**Tableau IX :** Activité antimicrobienne de l'extrait aqueux de propolis comparée aux antibiotiques de référence

Souche bactérienne	Traitement	Diamètre d'inhibition (mm)	Sensibilité
Escherichia coli	Amoxicilline (AMX)	43 mm	Sensible
	Extrait de		Légèrement
	propolis	13 mm	inhibitrice
	Amoxicilline		Sensible
Staphylococcus	(AMX)	47mm	
aureus	Extrait de		Légèrement
	propolis	14 mm	inhibitrice
	Amoxicilline		sensible
Pseudomonas	(AMX)	32 mm	
aeruginosa	Extrait de		Légèrement
	propolis	15 mm	inhibitrice
	Extrait de		Légèrement
Candida albicans	propolis	12 mm	inhibitrice

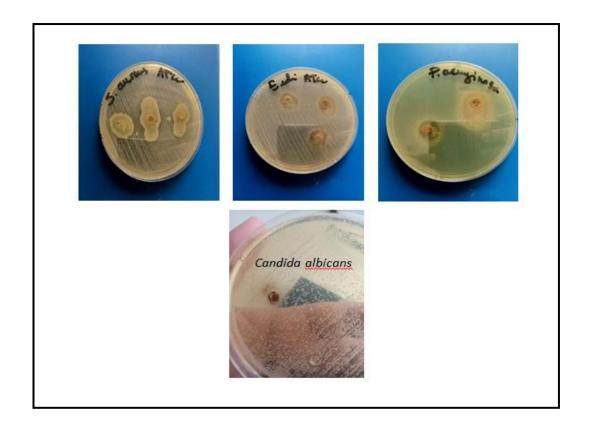


Figure 11: Effet antimicrobien de l'extrait aqueux de propolis (photo originale 2025)

Parmi les microorganismes évalués, *Pseudomonas aeruginosa* a présenté la plus grande zone d'inhibition (15 mm), suivie de *Staphylococcus aureus* (14 mm), *Escherichia coli* (13 mm). Ces résultats indiquent que l'extrait aqueux de propolis possède une activité antibactérienne à large spectre, bien que légère. Ces résultats sont en accord avec ceux de qui rapportent que l'extrait aqueux de propolis présente une activité antibactérienne, mais inférieure à celle des extraits alcooliques, ils ont trouvé que les extraits aqueux de propolis sont moins concentrés en principes actifs lipophiles tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, souvent responsables de l'effet antibactérien contrairement aux extraits éthanolique plus riches en substances bioactives (**Olivia et al.,2017**).

Dans notre étude, la zone d'inhibition de 12 mm obtenue avec l'extrait aqueux de propolis contre *Candida albicans* est légèrement supérieure à celle rapportée pour l'extrait aqueux de propolis (9,3 mm), comme indiqué par **Dias et** *al.*,(2007), ce qui indique une activité antifongique comparable.

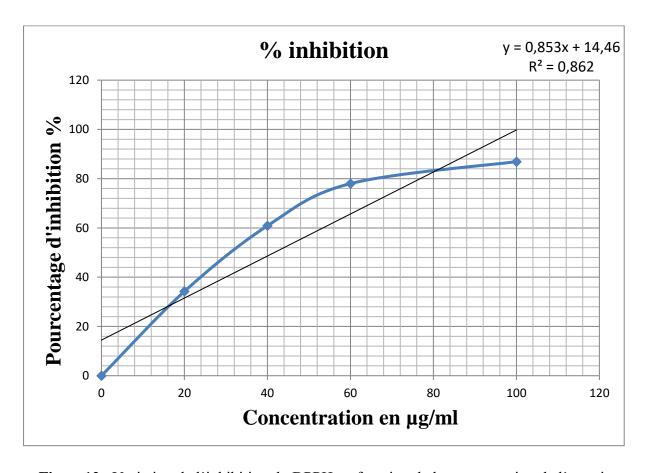
Cependant, l'amoxicilline a produit des zones d'inhibition significativement plus larges pour toutes les souches bactériennes testées : 47 mm pour *Staphylococcus aureus*, 43 mm pour *E. coli* et 32 mm pour *P. aeruginosa*. Il est à noter que l'amoxicilline n'a eu aucun effet sur *Candida albicans*, comme prévu en raison de l'absence de propriétés antifongiques **Hiengrach et** *al.*,( 2022). Ce résultat souligne un avantage potentiel de l'extrait de propolis, qui a montré une activité contre à la fois les agents pathogènes bactériens et fongiques (**Zulhendri et** *al.*, 2021).

Il est important de noter que l'efficacité antibactérienne de la propolis dépend de plusieurs paramètres, notamment sa provenance botanique et géographique, l'espèce d'abeille impliquée dans sa production, ainsi que la technique d'extraction utilisée (Al-Waili et al., 2012)

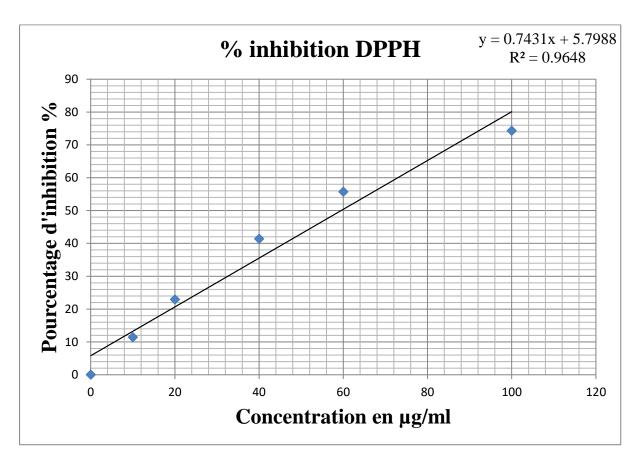
## III.4 Résultat de l'évaluation du pouvoir antioxydant

Le DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle) est un composé couramment utilisé pour évaluer de manière simple et rapide l'activité antiradicalaire des antioxydants naturels. Dans cette étude, l'activité antioxydante de l'extrait méthanolique de la propolis a été mesurée par spectrophotométrie en suivant la réduction du radical DPPH, qui s'accompagne d'un changement de couleur (du violet au jaune), détecté à 517 nm. Les courbes d'inhibition ont été établies en fonction de la concentration des extraits, reflétant leur capacité à neutraliser les radicaux DPPH. L'acide ascorbique a été utilisé comme antioxydant de référence pour comparer l'efficacité de l'extrait.

Afin de déterminer l'effet de la concentration, nos résultats ont été exprimés en valeurs d'IC50, correspondant à la concentration d'extrait (en µg/mL) nécessaire pour inhiber 50% de l'activité radicalaire. Ces valeurs ont été déterminées à partir des courbes d'étalonnage (Figure...), qui ont révélé une relation dose-dépendante entre la concentration des extraits et le pourcentage d'inhibition.



**Figure12** : Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'extrait méthanolique de Propolis.



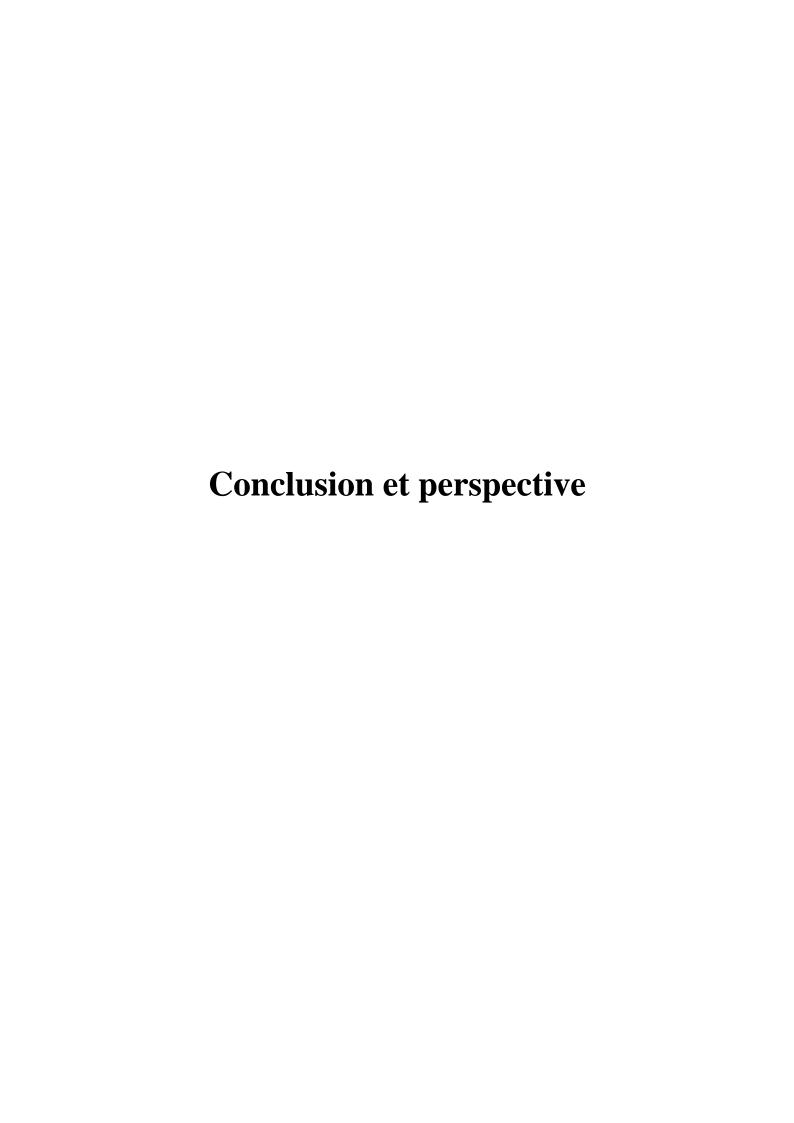
**Figure 13 :** Variation de l'inhibition du DPPH en fonction de la concentration de l'acide ascorbique.

L'acide ascorbique ou l'antioxydant de référence a montré une activité antioxydante puissante témoignée par une valeur d'IC<sub>50</sub> égale à **59.5** µg/ml. Quant à l'extrait méthanolique de propolis, il a enregistré une valeur d'IC<sub>50</sub> de l'ordre de **41.8** µg/ml, traduisant ainsi une activité plus puissante à celle de l'antioxydant standard.

Nos valeurs obtenues sont inférieures à celles citées dans les études de **Teggar et al.**, (2023) qui ont signalé une valeur d'IC50 de 55 μg/ml et supérieures à celles rapportées dans l'étude de **Wieczorek et al.**,(2022) avec une valeur d'IC50 de l'ordre de 32.53 μg/ml.

L'extrait méthanolique de propolis étudié démontre une puissante activité antioxydante dose-dépendante, caractéristique qui peut être attribuée à sa richesse en composés phénoliques et flavonoïdes. Cette forte capacité antioxydante est directement corrélée à la concentration de

l'extrait, suggérant que ces métabolites secondaires jouent un rôle clé dans le mécanisme de piégeage des radicaux libres.



### Conclusion

La présente étude comporte plusieurs résultats et données sur quelques propriétés biologiques de la propolis. Nous avons évalué l'effet thérapeutique potentiel de l'extrait aqueux et méthanolique de propolis in *vivo* sur un modèle de colite induite par l'acide acétique chez des souris mâles et in *vitro* également.

Lors de la présente étude, Le screening phytochimique des molécules bioactives a révélé la présence des flavonoïdes, des tanins et des saponines.

Quant à l'étude de l'effet anti-inflammatoire intestinal de la propolis, l'induction de la colite par l'acide acétique a provoqué une forte inflammation colique, le traitement avec l'extrait aqueux de propolis a permis d'atténuer ces symptômes, avec une amélioration notable dès les premiers jours. Le poids corporel a augmenté progressivement à partir du troisième jour, la consistance des selles s'est améliorée, les saignements rectaux ont diminué et les scores de l'IAM et du score macroscopique ont chuté de manière significative. De plus, l'analyse du rapport poids/longueur du côlon a mis en évidence une efficacité comparable à celle de la sulfasalazine, traitement de référence.

L'étude a également révélé un effet antibactérien notable avec des zones d'inhibition allant de 12 mm au 15 mm vis-à-vis 03 souches bactériennes et une souche de levure : Escherichia coli, Pseudomonas aeruginosa, Staphylococcus aureus et Candida albicans.

L'analyse du pouvoir antioxydant a révélé une activité anti radicalaire importante traduite par une valeur d'IC50 de l'ordre de 92.55µg/ml.

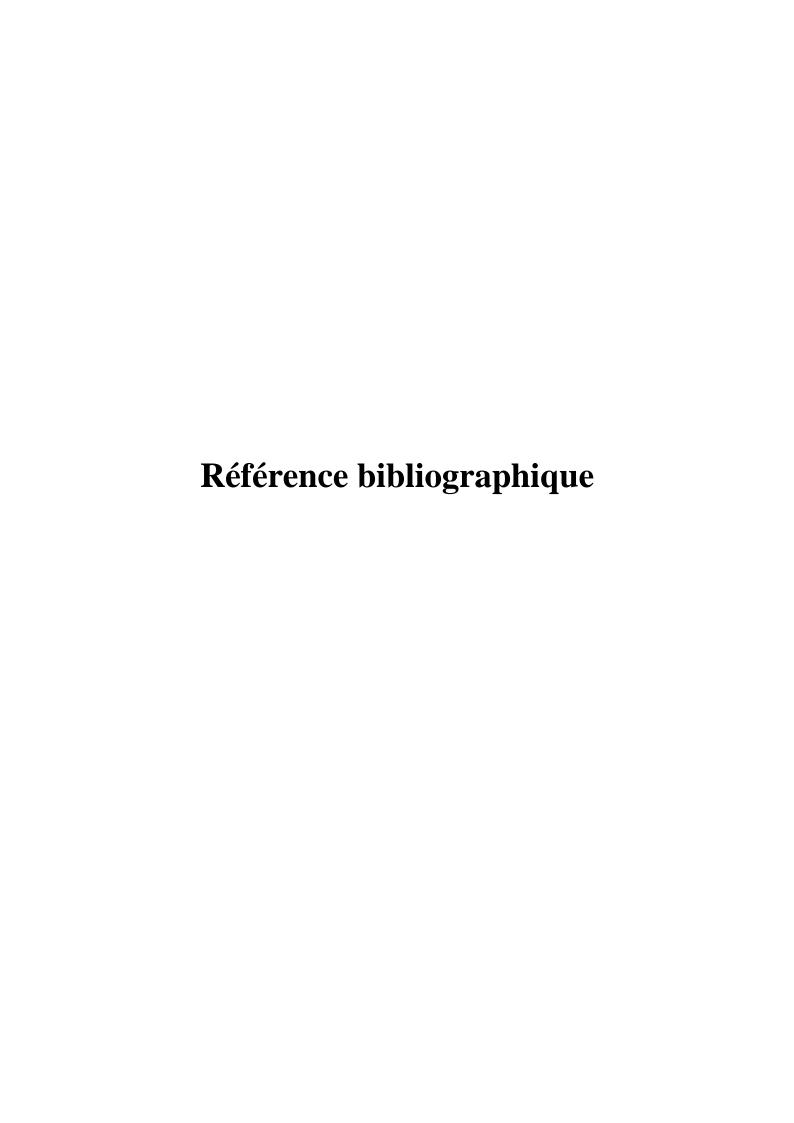
L'analyse du pouvoir antioxydant a révélé une activité anti radicalaire importante traduite par une valeur d'IC50 de l'ordre de 92.55µg/ml.

Ces résultats soulignent le rôle bénéfique de la propolis sur le plan biologique. Toutefois, des études supplémentaires sont nécessaires pour isoler et identifier les molécules actives responsables de ces effets et pour comprendre précisément leurs mécanismes d'action.

Des essais complémentaires sur des modèles animaux et des études dose-réponse permettront d'approfondir la compréhension de son efficacité à long terme et de sa sécurité d'utilisation. En outre, une exploration de formulations optimisées, telles que des gels ou des

# **Conclusion et perspective**

formes gastro-résistantes à base de propolis, pourrait améliorer son application clinique potentielle dans les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin, telles que la rectocolite hémorragique. Ainsi, la propolis aqueuse pourrait constituer une alternative thérapeutique prometteuse, naturelle et bien tolérée pour la prise en charge des affections intestinales inflammatoires.



- ♣ AL-Waili N, Al-Ghamdi A, Ansari MJ, et *al* (2012) Synergistic Effects of Haney and Propolis toward Drug Multi-Resistant Staphylococcus aureus, Escherichia coli and Condida albicans Isolates in Single and Polymicribial Cultures. Int J Med Sci 9:793–800
- ♣ André, J. M., Catala, M., Morère, J. J., Escudier, E., Katsanis, G., & Poirier, J. (2006). Histologie: les tissus. Faculté de Médicine, Université Pierre et Marie Curie, PAES)(2007–2008), http://www.chups.jussieu.fr/polys/histo/histoP1/histoP1.pdf.
- ♣ Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., ...& Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi journal of biological sciences, 26(7), 1695-1703.
- ♣ Aslan, A., Temiz, M., Atik, E., Polat, G., Sahinler, N., Besirov, E., ... & Parsak, C. K. (2007). Effectiveness of mesalamine and propolis in experimental colitis. *Advances in therapy*, 24, 1085-1097.
- ♣ Atta, A. H., Mouneir, S. M., Nasr, S. M., Sedky, D., Mohamed, A. M., Atta, S. A., & Desouky, H. M. (2019). Phytochemical studies and anti-ulcerative colitis effect of Moringa oleifera seeds and Egyptian propolis methanol extracts in a rat model. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 9(3), 98-108.

### **♣** B

- ♣ Bachevski, D., Damevska, K., Simeonovski, V., & Dimova, M. (2020). Back to the basics: Propolis and COVID-19. *Dermatologic therapy*, *33*(4), e13780.
- ♣ Bahrami, G., Malekshahi, H., Miraghaee, S., Madani, H., & Babaei, A. (2020). *Improving*Animal Model of Induced Colitis by Acetic Acid in Terms of Fibrosis and
- ♣ Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie*, *31*(1), 3-15.

- ♣ Bankova, V., Popova, M., Bogdanov, S., & Sabatini, A. G. (2002). Chemical composition of European propolis: expected and unexpected results. Zeitschrift für Naturforschung C, 57(5-6), 530-533.
- ♣ Berretta, A. A., Arruda, C., Miguel, F. G., Baptista, N., Nascimento, A. P., Marquele-Oliveira, F., ... & Bastos, J. K. (2017). Functional properties of Brazilian propolis: from chemical composition until the market. *Superfood and functional food-an overview of their processing and utilization*, 4(1), 74.
- ♣ Bezerra, G. B., de Souza, L. D. M., Dos Santos, A. S., de Almeida, G. K. M., Souza, M. T. S., Santos, S. L., ... & de Albuquerque Júnior, R. L. C. (2017). Hydroalcoholic extract of Brazilian red propolis exerts protective effects on acetic acid-induced ulcerative colitis in a rodent model. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 85, 687-696.
- ♣ Bogdanov, S. (2016). Propolis: Composition, health, medicine: A Review 2012 Jan 15. Available at: www. bee-hexagon. net.
- ♣ Bogdanov, S. (2017). Propolis: biological properties and medical applications. *The propolis book*, 1-41.
- → Bolat, L., Parsak, C. K., Topal, U., Yavuz, B., Bağır, E. K., Döğüş, Y., ... & Sakman, G. (2024). Effectiveness of Propolis on Experimental Colitis Model In Rats. *Journal of Cukurova Anesthesia and Surgical Sciences*, 7(3), 158-164.
- ♣ Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A., Capasso, F., & Ialenti, A. (2002).

  Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract.

  Fitoterapia, 73, S53-S63
- → Borrelli, F., Maffia, P., Pinto, L., Ianaro, A., Russo, A., Capasso, F., & Ialenti, A. (2002). Phytochemical compounds involved in the anti-inflammatory effect of propolis extract. Fitoterapia, 73, S53-S63

- ♣ Bouchelaghem, S. (2022). Propolis characterization and antimicrobial activities against Staphylococcus aureus and Candida albicans: A review. *Saudi journal of biological sciences*, 29(4), 1936-1946.
- ♣ Boufadi, Y. M., Soubhye, J., Riazi, A., Rousseau, A., Vanhaeverbeek, M., Nève, J., ...& Van Antwerpen, P. (2014). Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. *International journal of molecular sciences*, 15(2), 2327-2345.
- ♣ Burdock, G. A. (1998). Review of the biological properties and toxicity of bee propolis (propolis). Food and Chemical Toxicology, 36(4), 347-363.

**4** C

- ♣ Cassinotti, A., Ardizzone, S., & Porro, G. B. (2008). Adalimumab for the treatment of Crohn's disease. *Biologics: Targets and Therapy*, 2(4), 763-777.
- ♣ Cheifetz, A. S. (2013). Management of active Crohn disease. *Jama*, 309(20), 2150-2158.
- ♣ CHOUROUK, C., & WIAM, S. MÉMOIRE DE MASTER.
- ♣ Cid-Gallegos, M. S., Sánchez-Chino, X. M., Álvarez-González, I., Madrigal-Bujaidar, E., Vásquez-Garzón, V. R., Baltiérrez-Hoyos, R., & Jiménez-Martínez, C. (2022). Protocol for short-term tumor development, as an option for the study of chemopreventive agents. *Nova scientia*, 14(28).
- ♣ Crane, E. (1999). History of other products from bees. In *The world history of beekeeping* and honey hunting (pp. 545–553). Gerald Duckworth & Co Ltd.

**4** D

- **♣** Danese, S., & Fiocchi, C. (2011). Medical progress. N Engl J Med, 365(1713), 25.
- ♣ Darrigol, J. L. (2007). Apithérapie: miel, pollen, propolis, gelée royale. Dangles.

- ♣ de Freitas, M. C., de Miranda, M. B., de Oliveira, D. T., Vieira-Filho, S. A., Caligiorne, R.
  B., & de Figueiredo, S. M. (2017). Biological activities of red propolis: A review. Recent patents on endocrine, metabolic & immune drug discovery, 11(1), 3-12.
- ♣ Dealey, C. (2008). The care of wounds: A guide for nurses. John Wiley & Sons.
- ♣ Dias, S. M. D., Gomes, R. T., Santiago, W. K., Paula, A. M. B., Cortés, M. E., & Santos, V. R. (2007). Antifungal activity of commercial ethanolic and aqueous extracts of Brazilian propolis against Candida spp. Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada, 28(3).
- ♣ do Nascimento, T. G., Silva, A. D. S., Lessa Constant, P. B., da Silva, S. A. S., Fidelis de Moura, M. A. B., de Almeida, C. P., ... & Escodro, P. B. (2018). Phytochemical screening, antioxidant and antibacterial activities of some commercial extract of propolis. *Journal of Apicultural Research*, 57(2), 246-254.
- ♣ Donadieu Y. (2008) : la propolis .Paris. Dangles (ed) ; 96p.

### • **E**

♣ El Hady, F. K. A., & Hegazi, A. G. (2002). Egyptian propolis: 2. Chemical composition, antiviral and antimicrobial activities of East Nile Delta propolis. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(3-4), 386-394.

### 👍 F

- Fearnley, J. (2001). Bee propolis: Natural healing from the hive (172 pp.). Souvenir Press.
- ♣ Fiocchi, C. (1998). Inflammatory bowel disease: etiology and pathogenesis. *Gastroenterology*, 115(1), 182-205.

### ♣ G

♣ Galvo J., J.A. Abreu., T. Cruz., G. S. A. M achado., P. Niraldo., A. Daugsch., C.S. Moraes., P. Fort., Y.K .Park, 2007:« Biological therapy using propolis as nutritional

- supplement in cancer treatment ». International journal of cancer research., vol 3(1), pp: 43-53.
- ♣ Ghatule, R., Shalini, G., Gautam, M., Singh, A., Joshi, V., & Goel, R. (2012). Effect of Azadirachta indica leaves extract on acetic acid
- ♣ Ghatule, R., Shalini, G., Gautam, M., Singh, A., Joshi, V., & Goel, R. (2012). Effect of Azadirachta indica leaves extract on acetic acid
- ♣ Greuter, T., Bertoldo, F., Rechner, R., Straumann, A., Biedermann, L., Zeitz, J., ...& Swiss IBD Cohort Study Group. (2017). Extraintestinal manifestations of pediatric inflammatory bowel disease: prevalence, presentation, and anti-TNF treatment. *Journal of pediatric gastroenterology and nutrition*, 65(2), 200-206.

### **4** H

- → Havsteen, B. (1983). Flavonoids, a class of natural products of high pharmacological potency. Biochemical Pharmacology, 32(7), 1141-1148.
- ♣ Hiengrach, P., Panpetch, W., Chindamporn, A., & Leelahavanichkul, A. (2022). Helicobacter pylori, protected from antibiotics and stresses inside Candida albicans vacuoles, cause gastritis in mice. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(15), 8568.
- ♣ Hoşnuter, M., Gürel, A., Babucçu, O., Armutcu, F., Kargi, E., & Işikdemir, A. (2004). The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns*, 30(2), 121-125.
- ♣ Hoşnuter, M., Gürel, A., Babucçu, O., Armutcu, F., Kargi, E., & Işikdemir, A. (2004). The effect of CAPE on lipid peroxidation and nitric oxide levels in the plasma of rats following thermal injury. *Burns*, 30(2), 121-125.

♣ Hua, Z. H. O. U., Hui, L. I., & Haihua, W. A. N. G. (2023). Potential protective effects of the water-soluble Chinese propolis on experimental ulcerative colitis. *Journal of Traditional Chinese Medicine*, 43(5), 925.

🔱 J

→ Jug, M., Končić, M. Z., & Kosalec, I. (2014). Modulation of antioxidant, chelating and antimicrobial activity of poplar chemo-type propolis by extraction procures. *LWT-Food Science and Technology*, 57(2), 530-537.

## **♣** K

- ♣ Kaur, P., Makanjuola, V. O., Arora, R., Singh, B., & Arora, S. (2017). Immunopotentiating significance of conventionally used plant adaptogens as modulators in biochemical and molecular signalling pathways in cell mediated processes. *Biomedicine* & *Pharmacotherapy*, 95, 1815-1829.
- ♣ Krell, R. (1996). Value-added products from beekeeping (Vol. 124). Food & Agriculture Org..
- ♣ Kumazawa, S., Nakamura, J., Murase, M., Miyagawa, M., Ahn, M. R., & Fukumoto, S. (2008). Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95, 781-786.
- ♣ Kurek-Górecka, A., Rzepecka-Stojko, A., Górecki, M., Stojko, J., Sosada, M., & Świerczek-Zięba, G. (2013). Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19(1), 78-101.

# +L

♣ Laleni, N. C., Gomes, P. D. C., Gkatzionis, K., & Spyropoulos, F. (2021). Propolis particles incorporated in aqueous formulations with enhanced antibacterial performance. *Food hydrocolloids for health*, *1*, 100040.

### **4** M

- ♣ Mahamat, A. A., Haroun, H., & Mahmout, Y. (2024). Preliminary phytochemical analysis, determination of phenolic contents and evaluation of antioxidant activity of propolis collected in Koumra (Southern Chad). *International Journal of Biological and Chemical Sciences*, 18(3), 982-990.
- ♣ Marie Philippe, J. (2007). Le guide de l'apiculteur. Edition Edisud, la clade, Provence, France.
- ♣ Metzner, J., & Schneidewind, E. M. (1978). Studies on the question of potentiating effects of propolis constituents. *Die Pharmazie*, 33(7), 465-465.
- ♣ Michaluart, P., Masferrer, J. L., Carothers, A. M., Subbaramaiah, K., Zweifel, B. S., Koboldt, C., ...& Dannenberg, A. J. (1999). Inhibitory effects of caffeic acid phenethyl ester on the activity and expression of cyclooxygenase-2 in human oral epithelial cells and in a rat model of inflammation. *Cancer research*, 59(10), 2347-2352.
- ♣ Mirzoeva, O. K., & Calder, P. C. (1996). The effect of propolis and its components on eicosanoid production during the inflammatory response. *Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids*, 55(6), 441-449.
- ♣ Mohdaly, A. A., Mahmoud, A. A., Roby, M. H., Smetanska, I., & Ramadan, M. F. (2015). Phenolic extract from propolis and bee pollen: Composition, antioxidant and antibacterial activities. *Journal of Food Biochemistry*, 39(5), 538-547.
- Moura, S. A. L. D., Ferreira, M. A. N. D., Andrade, S. P., Reis, M. L. C., Noviello, M. D. L., & Cara, D. C. (2011). Brazilian green propolis inhibits inflammatory angiogenesis in a murine sponge model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2011(1), 182703.
- ♣ Mutai C., Vagias C., Abatis D. et Roussis V. (2009). Antimicrobial activity of Acacia mellidera extract and triterpens., J. Ethnopharmac

♣ Nikolaev, A. B. (1978). Defending the bee town. Remarkable, hive product: Propolis. Scientific data and suggestions concerning its composition, properties and possible use in therapeutics. APIMONDIA standing commission on beekeeping technology and equipment, Bucharest.

### **4** 0

- ♣ Ohkawa, H., Ohishi, N., & Yagi, K. (1979). Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. *Analytical biochemistry*, 95(2), 351-358.
- ♣ Oliveira, A. V., Ferreira, A. L., Nunes, S., Dandlen, S. A., Miguel, M. D. G., & Faleiro, M. L. (2017). Antibacterial activity of propolis extracts from the south of Portugal. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, 30(1).

### **♣** P

♣ Pamplona-Zomenhan, L. C., Pamplona, B. C., Silva, C. B. D., Marcucci, M. C., & Mimica, L. M. J. (2011). Evaluation of the in *vitro* antimicrobial activity of an ethanol extract of Brazilian classified propolis on strains of Staphylococcus aureus. *Brazilian Journal of Microbiology*, 42, 1259-1264.

## **♣** R

♣ Rhouati, S., & Segueni, N. Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis.

### **♣** S

- ♣ Santos, V. R. (2012). *Propolis: alternative medicine for the treatment of oral microbial diseases* (Vol. 7, pp. 133-169). chapter.
- ♣ Seven, P. T., Yılmaz, S., Seven, I., Cercı, I. H., Azman, M. A., & Yılmaz, M. (2009). Effects of propolis on selected blood indicators and antioxidant enzyme activities in broilers under heat stress. *Acta Veterinaria Brno*, 78(1), 75-83.

**↓** Simone-Finstrom, M., & Spivak, M. (2010). Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie*, *41*(3), 295-311.

### **4** T

- **↓** Teggar, N., Bakchiche, B., Abdel-Aziz, M. E.-S., Bardaweel, S. K., & Ghareeb, M. A. (2023). Chemical Composition and Biological Evaluation of Algerian Propolis from Six Different Regions. *Jordan Journal of Pharmaceutical Sciences*, *16*(2), 184–197.
- → Toreti, V. C., Sato, H. H., Pastore, G. M., & Park, Y. K. (2013). Recent progress of propolis for its biological and chemical compositions and its botanical origin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013(1), 697390.
- ♣ Tosi, E. A., Ciappini, M. C., Cazzolli, A. F., & Tapiz, L. M. (2006). Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentine). *Apiacta*, *41*, 110-120.
- ♣ Trusheva, B., Popova, M., Koendhori, E. B., Tsvetkova, I., Naydenski, C., & Bankova, V. (2011). Indonesian propolis: chemical composition, biological activity and botanical origin. *Natural Product Research*, 25(6), 606-613.

### + W

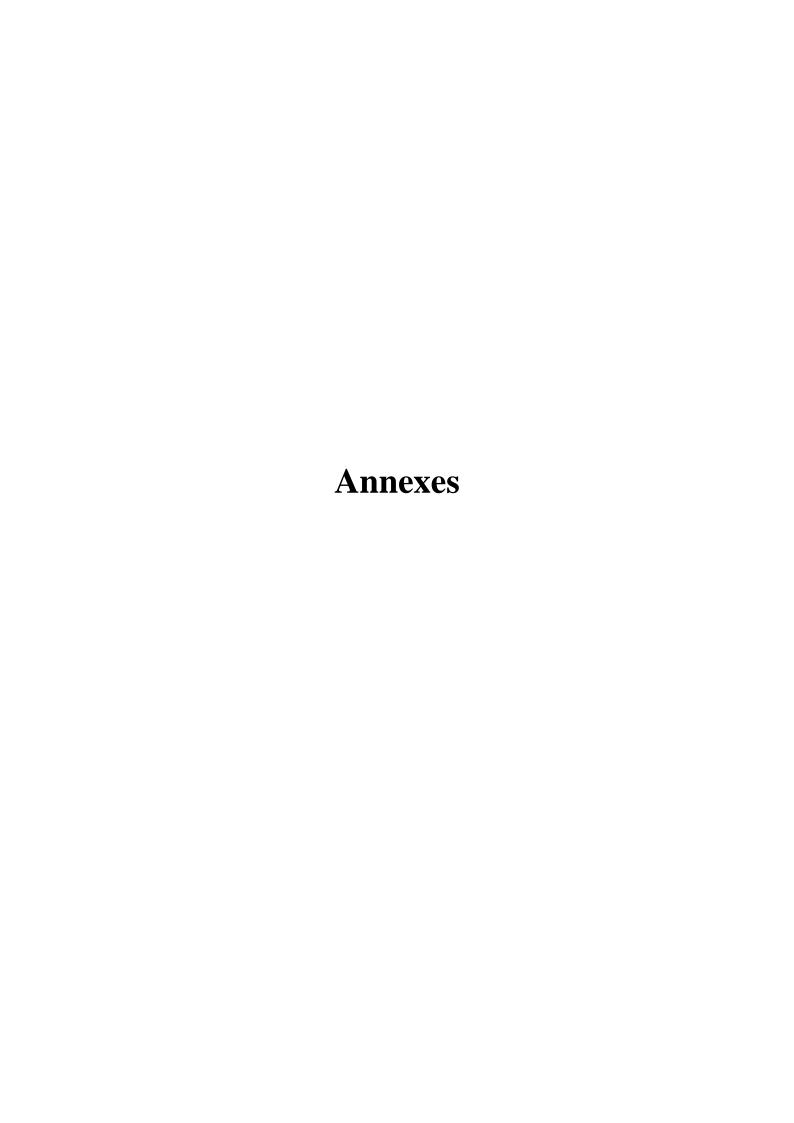
- ♣ Wang, K., Jin, X., Li, Q., Sawaya, A. C. H. F., Le Leu, R. K., Conlon, M. A., ... & Hu, F. (2018). Propolis from different geographic origins decreases intestinal inflammation and Bacteroides spp. populations in a model of DSS-Induced colitis. *Molecular nutrition & food research*, 62(17), 1800080.
- ♣ Wieczorek, P. P., Hudz, N., Yezerska, O., Horčinová-Sedláčková, V., Shanaida, M., Korytniuk, O., &Jasicka-Misiak, I. (2022). Chemical Variability and Pharmacological Potential of Propolis as a Source for the Development of New Pharmaceutical Products. Molecules, 27(5), 1600. https://doi.org/10.3390/molecules27051600

**4** X

♣ Xu, W., Lu, H., Yuan, Y., Deng, Z., Zheng, L., & Li, H. (2022). The antioxidant and anti-inflammatory effects of flavonoids from propolis via Nrf2 and NF-κB pathways. *Foods*, 11(16), 2439.

## **♣ Z**

- ♣ Zakerkish, M., Jenabi, M., Zaeemzadeh, N., Hemmati, A. A., & Neisi, N. (2019). The effect of Iranian propolis on glucose metabolism, lipid profile, insulin resistance, renal function and inflammatory biomarkers in patients with type 2 diabetes mellitus: A randomized double-blind clinical trial. Scientific reports, 9(1), 7289.
- ♣ Zippi, M., Corrado, C., Pica, R., Avallone, E. V., Cassieri, C., De Nitto, D., ... & Vernia, P. (2014). Extraintestinal manifestations in a large series of Italian inflammatory bowel disease patients. World journal of gastroenterology: WJG, 20(46), 17463.
- ♣ Zulhendri, F., Chandrasekaran, K., Kowacz, M., Ravalia, M., Kripal, K., Fearnley, J., & Perera, C. O. (2021). Antiviral, Antibacterial, Antifungal, and Antiparasitic Properties of Propolis: A Review. Foods, 10(6), 1360. doi:10.3390/foods10061360



Annexe 1
Instruments, Appareillage et réactifs utilisés

**Tableau**: Matériel utilisé

Appareillage	Verrerie	Produits	Médicaments	Milieu	Autre
		chimique		de	matériel
				culture	
Broyeur	Bécher	Méthanol	Sulfasalazine	Gélose	Papier filtre
électrique	Erlenmeyers	L'eau distillée	Anesthésie	nutritive	Boites de
Etuve	Tubes à	L'eau		(GN)	Pétri
Plaque chauffante	essais	physiologique		Milieu	Pipettes
Agitateur	Flacons	Alcool		Muller	Pasteur
magnétique	Fiole jaugée	Twin 80		Hinton	Ecouvillons
Bain Marie	Entonnoir	Trichlorure de		(MH)	Barreau
Spectrophotomètr	Eprouvette	fer		Gélose	magnétique
e	Flacons en	(FeCl <sub>3</sub> )		Sabou-	Lames /
Réfrigérateur	verre	Hydroxyle de		raud	lamelles
Bec bunsen		so-dium			Seringues
Balance de		(NaOH 10%)			Spatule
précision		Acide			métallique
Microscope		chlorhydrique			Pissette
Optique		(HCL)			Micropipettes
Densitomètre		Ammoniaque			Embouts
		(NH <sub>4</sub> OH)			Portoire
		Acide			Trousse de
		Sulfurique			dissection:
		Acide			scalpel,
		ascorbique			sonde
		H2SO4			cannelée,
		Acide gallique			pinces, ciseau
		Chlorure			fin, aiguilles
		d'aluminiumAl			Boîtes de
		Cl <sub>3</sub>			préservation,

Carbonate de		tubes ECBU,
sodium(Na <sub>2</sub> Co		boîte de Pétri,
3)		mortier et
DPPH		pilon en
Xylène		porcelaine,
Hématoxyline-		seringue,
Éosine-Safran		sonde de
Paraffine		gavage,
		sonde intra-
		rectale,
		pied à
		coulisse







Figure : Spectrophotomètre UV-Visible (Photo originale, 2025)

Figure : Agitateur (Photo originale, 2025)

Figure : Etuve (Photo originale, 2025)



Figure: Balance (Photo originale, 2025)



Figure: Densitomètre (Photo originale, 2025)



**Figure :** Microscope optique de la marque OPTIKA (**Photo originale, 2025**)



Figure : Coloration HES (Photo originale, 2025)



Figure : Microtome (**Photo** originale, 2025



Figure : Bain marie (Photo originale, 2025)



Figure: Extrait de Sulfasalazine 500 mg(Photo, originale 2025)



Figure: Trousse de dissection (Photo originale, 2025)



Figure: Pied à coulisse et une loupe (Photo originale, 2025)

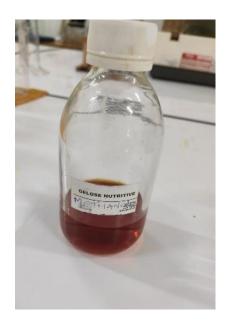


Figure : Extrait méthanolique de propolis (Photo originale, 2025)



**Figure :** Extrait aqueux de propolis (**Photo originale, 2025**)



Figure : Filtration (Photo originale, 2025)

#### Annexe 2

#### Screening phytochimique

## Préparation d'une solution de NaOH à 10 %:

Nous avons dissous 5 g de NaOHdans50 ml d'eau distillée.

# Préparation d'une solution de FeCl<sub>3</sub> à 5 %:

Nous avons dissous 1 g de FeCl<sub>3</sub>dans20 ml d'eau distillée, dans une fiole jaugée, puis nous avons bien agité. Ensuite, la fiole a été couverte avec du papier aluminium.



Figure: Solution de FeCl<sub>3</sub> (photo originale 2025)

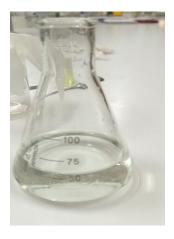


Figure: Solution de NaOH (photo originale 2025)

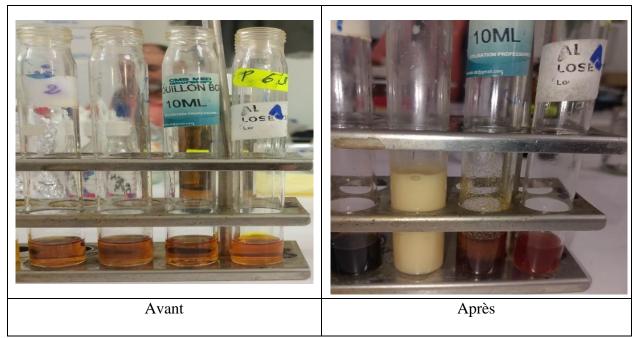


Figure : les tests phytochimiques réalisés sur l'extrait méthanolique de la propolis (Avantaprès) (Photo originale, 2025)

**Tableau** : Caractérisation phytochimique de quelques métabolites secondaires de l'extrait méthanolique de la propolis.

Métabolites	Présence/Absence	Remarque	Résultat
Flavonoïdes	+++	Jaune	
Saponines	+++	Mousse stable (≥ 1 cm) qui persiste plus de 10 minutes	
Tanins	+++	Bleu-noir ( <b>tanins</b> <b>galliques</b> )	

#### Annexe 3

L'évaluation du pouvoir anti-inflammatoire intestinale in *vivo* 

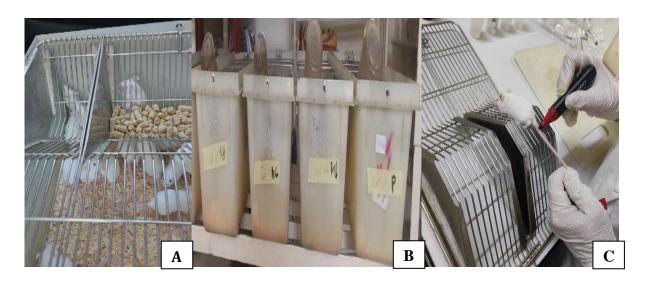


Figure : Matériel biologique utilisé ; A : les souris ; B : la répartition des groupes ; C : marquage avec l'encre indélébile (photo originale 2025)

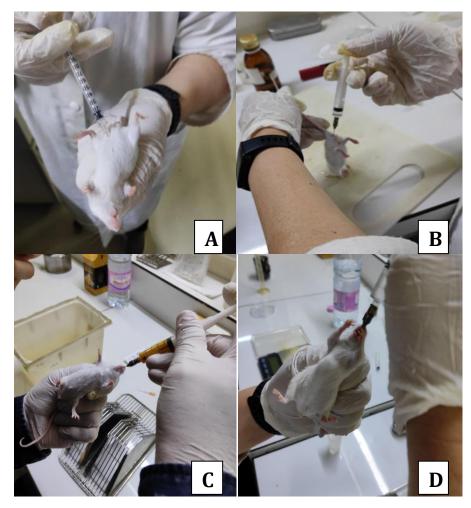


Figure : A : Injection parentérale de l'anesthésique ; B : Administration rectale d'acide acétique ; C : Gavage avec une solution de sulfasalazine ; D : Gavage avec l'extrait de propolis (photo originale 2025)

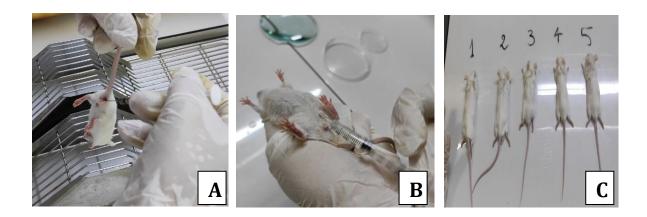


Figure : A : Observation de la consistance des selles et des saignements ; B : Injection intra-péritonéale de l'anesthésique ; C : Sacrifice des souris (photo originale 2025)



Figure: Dissection abdominale et isolement du côlon (Photo original, 2025)



Figure: Mesure du poids du côlon(Photo original, 2025)



**Figure :** Mesure de la longueur du **côlon (Photo original, 2025)** 

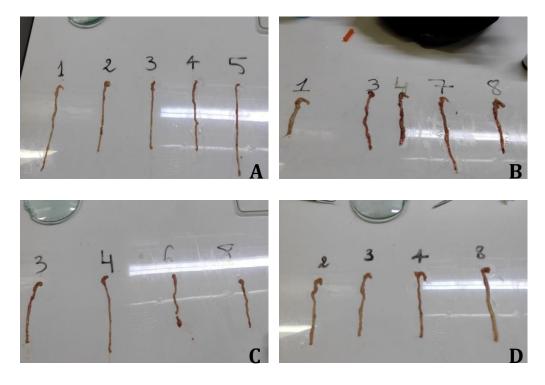


Figure : Isolement du côlon ; A : lot de témoin négatif ; B : lot de l'acide acétique ; C : lot de référence ; D : lot de propolis (photo originale 2025)

#### Réalisation des coupes histologiques :

Les coupes histologiques ont été réalisées à partir de tissus coliques en utilisant des techniques basées principalement sur l'analyse morphologique macro- et microscopique (André et al., 2006). Les échantillons ont été prélevés à partir de pièces opératoires du côlon. Le protocole est comme suit :

La **fixation** des prélèvements, réalisée immédiatement après le prélèvement, permet de préserver les structures tissulaires et de durcir les pièces. Elle s'effectue par immersion dans un fixateur tel que le formol ou le liquide de Bouin. La durée varie selon la taille de l'échantillon.

L'inclusion vise à permettre des coupes fines et régulières. Les tissus, après déshydratation dans des bains d'alcool à degré croissant puis de toluène, sont inclus dans de la paraffine fondue. Après refroidissement, on obtient un bloc solide contenant le tissu.

Les **coupes** fines  $(2 \text{ à } 5 \text{ } \mu\text{m})$  sont réalisées à l'aide d'un microtome, puis déposées sur des lames de verre.

Les **colorations** renforcent le contraste des structures cellulaires. Avant la coloration, les coupes sont déparaffinées puis réhydratées. La coloration Hématéine-Éosine (HE) est la plus courante, mettant en évidence les noyaux (violet) et les cytoplasmes (rose). Des colorations trichromiques comme HES ou le trichrome de Masson permettent de mieux visualiser les fibres de collagène. Afin d'éviter toute sorte d'erreur entre les échantillons, l'étiquetage des lames est obligatoire.

Le **montage** consiste à fixer la coupe colorée entre lame et lamelle à l'aide d'une résine synthétique, formant une préparation permanente prête à l'observation au microscope optique.

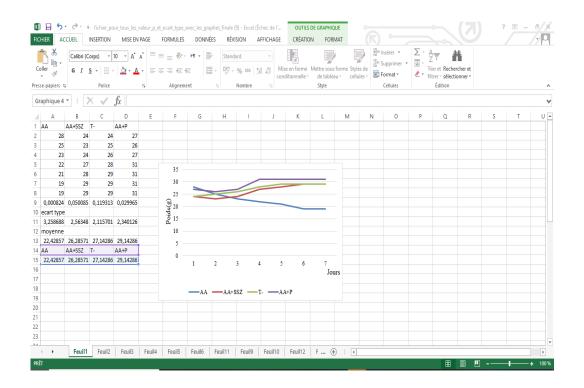


Figure: Analyse statistique sur Excel 2010 (Capture d'écran, 2025)

# Annexe 4

# L'évaluation du pouvoir antibactérien



Figure : Matériel utilisé (Photo originale, 2025)



Figure: Ensemencement par des stries (Photo originale, 2025)



**Figure :** Remplissage des puits par l'extrait aqueux de propolis (**Photo originale, 2025**)

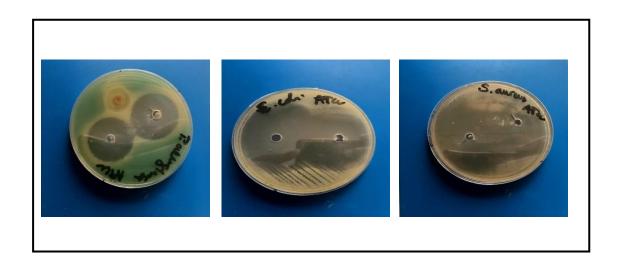


Figure : Résultat de l'antibiotique (l'amoxicilline) de référence (Photo originale, 2025)

# République Algérienne Démocratique et Populaire Ministère de l'Enseignement Supérieure et de la Recherche Scientifique Université Saad Dahleb Blida 1



# Faculté des Sciences et de la Nature et de la Vie Mémoire En Vue de l'Obtention du Diplôme de Master

Département : Biologie

Filière : Biologie

Option : Biochimie

Domaine: Sciences de la Nature et de la Vie

## THÈME:

Screening phytochimique et l'évaluation de quelque activité biologique de la propolis

### Présenté par :

Melle Hamlaoui Imene

Melle Mariche Ryma



Soutenu le: 10/07/2025

#### Devant le jury :

Mme Saidi.F

Pr/USDB1

Présidente

Mme Hamzi.O

MCA/USDB1

Examinatrice.

Mme Drouche.I

MCB/USDB1

Promotrice

Mme Belkadi.A

Dr/Saidal CRD

Co-promotrice

Année universitaire 2024/2025