

**REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE MINISTERE DE  
L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE SCIENTIFIQUE  
UNIVERSITÉ DE SAAD DAHLAB BLIDA-1**



**FACULTÉ DES SCIENCES DE LA NATURE ET DE LA VIE**

Département De Biologie et Physiologie Cellulaire

Laboratoire de Biotechnologie, Environnement et Santé

**MEMOIRE DE MASTER EN BIOLOGIE**

Option : Biologie Moléculaire et Cellulaire

**Chef d'option : Dr. SAADI L.**

**THEME**

**EVALUATION DE L'EFFET DE LA PROPOLIS ALGERIENNE  
SUR LE SYSTEME IMMUNITAIRE**

Présenté par

**M<sup>elle</sup> HAIFI Rahma**

**et**

**M<sup>me</sup> HACHEMANE Oum-elkheir**

Soutenu publiquement le 30/09/2020, devant le jury composé de :

<b>BENYAHIA N.</b>	<b>MAA</b>	<b>USDB1</b>	<b>Président</b>
<b>RAHIM I.</b>	<b>MCB</b>	<b>USDB1</b>	<b>Examinatrice</b>
<b>CHADER H.</b>	<b>Professeur</b>	<b>LNCPP</b>	<b>Promoteur</b>
<b>BOUAZZA M.</b>	<b>Doctorante</b>	<b>USDB1</b>	<b>Co-promoteur</b>

**2019/2020**

## REMERCIEMENTS

*En tout premier lieu, nous tenons à remercier ALLAH qui nous a aidés à réaliser ce travail de recherche et de nous avoir donné la force pour survivre.*

*On tient à remercier sincèrement notre encadreur **Pr. Henni Chader**, pour nous avoir fait l'honneur d'encadrer ce travail et pour son dynamisme pour la recherche scientifique. On la remercie pour sa disponibilité et la confiance qu'elle nous accordée. On aimerait aussi la remercier pour ses conseils*

*On 'exprimetoute notre reconnaissance à **Dr.Benyahia**. N maitre de conférences A, pour avoir bien voulu accepter de présider le jury de ce mémoire.*

*Notre gratitude va également à celui qui nous a fait l'honneur de juger ce travail, **Dr.Rahim.I** maitre de conférences B, On tient à présenter tous notre gratitude, reconnaissance, respects et notre grande estime à vous.*

*Tous nos remerciements et toute notre gratitude vont aux **Mme Bouazza M***

*On 'adresse également nos remerciement a tous ceux qui nous ont soutenu, encouragés et rendu service au cours de la réalisation de ce mémoire.*

## Dédicace

*Nulle œuvre n'est exaltante que celle réalisée avec le soutien moral des personnes qui nous sont proches tous les mots ne sauraient exprimer la gratitude, l'amour, le respect, c'est tout simplement que je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance à :*

*Ma tendre mère, qui a œuvré pour ma réussite, par son amour, son soutien, tous les sacrifices consentis et ses précieux conseils, pour toute son assistance et sa présence dans ma vie, reçois à travers ce travail aussi modeste soit-il l'expression de mes sentiments et de mon éternelle gratitude. Tu as fait plus qu'une mère puisse faire pour que ses enfants suivent le bon chemin dans leur vie et leurs études. Ce travail et le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation le long de ces années.*

*A mon cher papa qui a su se montrer patient, compréhensif et encourageant, sa chaleur paternelle a été et sera toujours pour moi d'un grand réconfort.*

*A mon cher frère **Ridha** : tes sacrifices, ton soutien moral m'ont permis de réussir mes études.*

*A mes chère frères : **Mohamed. Nouredine. Khaled. Zakaria. Youcef***

*A ma meilleure amie : **Meriem Ayed.***

*.A ma chère binôme : **Amel***

*Saurais exprimer mon grand respect et ma profonde estime  
Mon professeur encadreur **MrHenni Chader** pour son aide et sa précieuse attention*

*A mes chères **Pr. Saadi Leila** et **Dr.Aissani Radhia**: Cette humble dédicace ne saurait exprimer mon grand respect et ma profond estime, que dieu vous procure bonne santé et longue vie.*

*A ma chère collègue **Seffah Amina***

*A tous ceux qui me sens chers et que j'ai omis de citer.*

*Rahma*

## Dédicace

*A mes chers parent que dieu les gardes  
A mon cher mari et mes enfants  
A toute ma famille  
.A ma chère binôme **Rahma***

*Oum Elkheir*

## Résumé :

La propolis est utilisée essentiellement comme un produit médicinal vu a sa richesse en molécules actives (flavonoïdes), elle est devenue un sujet d'actualité dans la sphère de la recherche scientifique.

Dans le cadre d'évaluer l'effet de la propolis algérienne sur le système immunitaire nous avons mis en évidence l'évaluation de deux activités : l'activité immunostimulante et l'activité anti-inflammatoire de la propolis algérienne dans différents modèles murins.

L'évaluation de l'effet immunostimulant de la propolis algérienne a été testée dans le cas d'une lymphopénie, induite par l'administration de la ciclosporine à une dose de 50mg/kg/j pendant 9 jours chez les rats et confirmé par l' énumération de la formule numérique sanguine, cette lymphopénie a été suivie par une administration orale de la propolis pendant 15jours a une dose de 0.5g/ml afin d' évalué le développement des taux des globules blancs, les lymphocytes et les granulocytes après 15 jours d'administration. Ainsi que la variation quotidienne du poids corporel des rats a été mise en évidence durant toute l'expérience.

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis algérienne a été démontrée par le modèle de l'œdème aigu induit par le xylène sur les oreilles de souris, l'objectif de cette étude est de vérifier l'activité anti-inflammatoires de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis au niveau de l'oreille interne de souris BLBC femelles par application cutanée de l'extrait en préventif puis induction d'un œdème à l'aide d'un irritant cutané : le xylène et puis une comparaison de la moyenne de la différence de poids de l'oreille traitée et de l'oreille non traitée pour avoir le poids d'œdème.

L'administration d'une concentration de 0,5g/ml/J de la suspension de la propolis, par voie orale, aux rats pendant 15 jours a montré une augmentation de la population lymphocytaires et granulocytaires. Au contraire, les résultats des rats traités par la ciclosporine qui n'ont pas reçu de propolis, évoquent un état d'une lymphopénie létale. La propolis a corrigé cet état de lymphopénie dans l'autre groupe de rat. Cependant une chute de poids a été observée aux derniers jours du traitement. Ceci est attribué à l'ester phényléthylique d'acide caféique (CAPE) dont le mécanisme d'action, est basé sur l'inhibition de la formation de cellules graisseuses à un stade précoce.

Les résultats d'étude de l'activité anti-inflammatoire démontrent que l'extrait hydro-alcoolique de la propolis algérienne a utilisation topique est doté d'une activité anti-inflammatoire remarquable, avec un pouvoir d'inhibition de l'inflammation supérieur au diclofénac pommade.

**Mots clés :** la propolis - immunostimulante - anti-inflammatoire - flavonoïdes- CAPE – œdème.

## **Abstract:**

Propolis is used primarily as a medicinal product because of its richness in active molecules (flavonoids), it has become a topical subject in the sphere of scientific research.

In the context of evaluating the effect of Algerian propolis on the immune system, we have demonstrated the evaluation of two activities: the immunostimulatory activity and the anti-inflammatory activity of Algerian propolis in different murine models.

The evaluation of the immunostimulating effect of Algerian propolis was tested in the case of lymphopenia, induced by the administration of ciclosporin at a dose of 50 mg / k / d for 9 days in rats and confirmed by the Enumeration of the blood count, this lymphopenia was followed by oral administration of propolis for 15 days at a dose of 0.5g / ml in order to assess the development of the levels of white blood cells, lymphocytes and granulocytes after 15 days administration. As well as the daily variation in the body weight of the rats was demonstrated throughout the experiment.

The evaluation of the anti-inflammatory effect of the hydro-alcoholic extract of Algerian propolis was demonstrated by the model of acute edema induced by xylene on the ears of mice, the objective of this study is to check the anti-inflammatory activity of the hydro-alcoholic extract of propolis in the inner ear of female BLBC mice by applying the extract to the skin as a preventive measure followed by induction of edema using a skin irritant: xylene and then a comparison of the average difference in the weight of the treated ear and the untreated ear to have the edema weight.

Oral administration of 0.5 g / ml / day of the propolis suspension to rats for 15 days showed an increase in the lymphocyte and granulocyte population. In contrast, the results of ciclosporin-treated rats that did not receive propolis suggest a state of lethal lymphopenia. The propolis corrected this state of lymphopenia in the other group of rats. However, a drop in weight was observed during the last days of treatment. This is attributed to the phenylethyl ester of caffeic acid (CAPE) whose mechanism of action is based on inhibiting the formation of fat cells at an early stage.

The results of the anti-inflammatory activity study demonstrate that the hydro-alcoholic extract of Algerian propolis for topical use has remarkable anti-inflammatory activity, with a power of inhibition of inflammation greater than diclofenac ointment.

**Keywords:** propolis - immunostimulant - anti-inflammatory - flavonoids - CAPE - edema.



## ملخص:

يستخدم العكبر في المقام الأول كمنتج طبي بسبب ثرائه في الجزيئات النشطة (الفلافونويد) ، وأصبح موضوعًا هامًا في مجال البحث العلمي.

في سياق تقييم تأثير العكبر الجزائري على الجهاز المناعي ، أظهرنا تقييم نشاطين: النشاط المناعي والنشاط المضاد للالتهاب للعكبر الجزائري في نماذج الفئران المختلفة.

تم اختبار تقييم تأثير التحفيز المناعي للعكبر الجزائري في حالة اللمفوبينيا ، الناتجة عن إعطاء السيكلوسبورين بجرعة 50 مغ / كلغ / يوم لمدة 9 أيام في الجرذان وتم تأكيده من قبل تعداد الدم ، اتبعت حالة اللمفوبينيا بتناول العكبر عن طريق الفم لمدة 15 يومًا بجرعة 0.5 غ / مل ثم تقييم تطور مستويات خلايا الدم البيضاء والخلايا الليمفاوية والخلايا الحبيبية. كما اخذ بعين الاعتبار الاختلاف اليومي لوزن جسم الفئران طوال التجربة

تم توضيح تقييم التأثير المضاد للالتهابات للمستخلص المائي الكحولي للعكبر الجزائري من خلال نموذج الوذمة الحادة التي يسببها الزيلين على آذان الفئران ، والهدف من هذه الدراسة هو: تحقق من النشاط المضاد للالتهاب لمستخلص العكبر عن طريق تطبيق المستخلص المائي الكحولي في الأذن الداخلية لإنات فئران على الجلد كإجراء وقائي متبوعًا بتحريض الوذمة باستخدام مهيج الجلد: زيلين ثم المقارنة بين متوسط فرق وزن الأذن المعالجة والأذن غير المعالجة لوزن الوذمة

أظهر إعطاء 0.5 غ / مل / يوم من معلق العكبر للفئران لمدة 15 يومًا زيادة في عدد الخلايا الليمفاوية والحبيبات. في المقابل ، تشير نتائج الجرذان المعالجة بالسيكلوسبورين والتي لم تستقبل معلق العكبر إلى حالة من اللمفوبينيا المميّنة حيث قام العكبر بتصحيح هذه الحالة من اللمفوبينيا في المجموعة الأخرى من الفئران. ومع ذلك ، لوحظ انخفاض في وزن الفئران خلال الأيام الأخيرة من العلاج. يُعزى ذلك إلى إستر فينيلثيل حمض الكافيين الذي تعتمد آلية عمله على تثبيط تكوين الخلايا الدهنية في مرحلة مبكرة.

تظهر نتائج دراسة النشاط المضاد للالتهابات أن المستخلص المائي الكحولي للعكبر الجزائري له نشاط ملحوظ مضاد للالتهابات ، مع قوة تثبيط الالتهاب متفوقة على مرهم ديكلوفيناك.

الكلمات المفتاحية: دنج - منشط مناعي - مضاد للالتهابات - فلافونويد - كيب- وذمة

## LISTE DES ABREVIATIONS

**Ac** : Anticorps.

**Ag** : Antigène.

**TCR** : Recepteur de cellule T.

**BCR** : Recepteur de cellule B.

**CD** : Cellule dendritique.

**CMH I** : Complexe majeur d'histocompatibilité de type I.

**CMH II** : Complexe majeur d'histocompatibilité de type II.

**CPA** : Cellule présentatrice d'antigène.

**CsA** : la ciclosporine

**DL50** : La dose létale médiane

**EDTA** : Acide Ethylène DiaminoTétracétique.

**FNS** : Formule numérique sanguine.

**GB** : Globule blanc.

**GRA** : Granulocyte.

**LB** : Lymphocyte B.

**LT** : Lymphocyte T.

**LYM** : Lymphocytes

**NF- $\kappa$ B** : Facteur nucléaire  $\kappa$ B (facteur de transcription).

**NK** : Cellules tueuses naturelles (Natural Killer).

**NO** : Oxyde nitrique.

**SI** : Système immunitaire.

**T CD4 / T4** : Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD4 (T auxiliaire).

**T CD8 /T8** : Lymphocyte T porteur du marqueur membranaire CD8 (T cytotoxique).

**TGF- $\beta$**  : Facteur de croissance transformant  $\beta$  (transforming growth factor- $\beta$ ).

**Th** : Lymphocyte T auxiliaires ou T helper.

**Th1 / Th2** : Lymphocyte T auxiliaires de type 1 ou 2, produisant des cytokines de type 1 (IL-2, TNF, IFN- $\gamma$ ) ou de type 2 (IL-4, IL-6, IL-10).

**TNF-  $\alpha$**  : Facteur de nécrose tumorale  $\alpha$  (tumornecrosis factor  $\alpha$ ).

**CAPE** : Phényléthylique de l'acide cafféique.

## LISTE DES TABLEAUX

<b>Tableau I</b> : Pourcentages des composés de la propolis algérienne .....	09
<b>Tableau II</b> : lot numéro 01: Placebo.....	46
<b>Tableau III</b> : lot numéro 02: témoin négatif .....	47
<b>Tableau IV</b> : lot numéro 03 : extrait hydro-alcoolique de la propolis. ....	47
<b>Tableau V</b> : lot numéro 04 : témoin positif .....	48
<b>Tableau VI</b> : Tableau regroupant les PM ainsi que les pourcentages d'inhibition.....	48

## LISTE DES FIGURES

<b>Figure 01</b>	Aspect de la propolis brune	6
<b>Figure 02</b>	Composition moyenne globale de propolis	9
<b>Figure 03</b>	Exemple de quelques acides hydroxybenzoïques	11
<b>Figure 04</b>	Structure chimique de l'acide hydroxycinnamique	11
<b>Figure 05</b>	Structure du noyau flavone et le noyau flavane	12
<b>Figure 06</b>	Structure chimiques des chalcones et auronnes	12
<b>Figure 07</b>	Structure chimiques des flavanones et flavanonols	13
<b>Figure 08</b>	Structure chimiques des flavones	13
<b>Figure 09</b>	Structure chimiques des Flavonols	14
<b>Figure 10</b>	Structure chimiques des Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols	14
<b>Figure 11</b>	Structure chimiques des isoflavones	15
<b>Figure 12</b>	Structure chimiques des anthocyanes	15
<b>Figure 13</b>	Structure chimiques des tanins	16
<b>Figure 14</b>	Structure chimique des lignines	17
<b>Figure 15</b>	Structure chimique des stilbènes	17
<b>Figure 16</b>	Les cellules du système immunitaire	25
<b>Figure 17</b>	Structure de la ciclosporine	29
<b>Figure 18</b>	Rattes au niveau de l'enceinte d'élevage	32
<b>Figure 19</b>	La propolis algérienne brune	33
<b>Figure 20</b>	La ciclosporine	33
<b>Figure 21</b>	Le prélèvement par ponction dans le sinus rétro-orbital	34
<b>Figure 22</b>	Le sang prélevé dans des tubes EDTA	34
<b>Figure 23</b>	La suspension de la propolis 0,5g/1ml	35
<b>Figure 24</b>	Gavage d'une ratte	35
<b>Figure 25</b>	le plan de l'étude de l'effet immunostimulante de la propolis	36
<b>Figure 26</b>	Etape de la pesée puis de la numérotation des souris	37
<b>Figure 27</b>	Diclofénac gel 1% utilisé comme témoin positif	38
<b>Figure 28</b>	Application de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis sur l'oreille gauche (OG)	38
<b>Figure 29</b>	Lot de souris dans le bain d'éther de pétrole	39
<b>Figure 30</b>	Disques cutanés obtenus	39
<b>Figure 31</b>	l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des lymphocytes.	42
<b>Figure 32</b>	l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des globules	42

	blancs.	
<b>Figure 33</b>	l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des Granulocytes.	43
<b>Figure 34</b>	l'ordre chronologique des différentes phases et leurs durée.	45
<b>Figure 35</b>	graphique de distribution dupoids corporel des rats en gramme pendant les différentes phases.	45
<b>Figure 36</b>	un graphique des boites à moustaches représentent la distribution des valeurs de poids des rats avec leurs médianes, les intervalles interquartiles et les valeurs maximales et minimales de la distribution.	45
<b>Figure 37</b>	histogramme représentant le poids de l'œdème quatre heures après application du préventif - à savoir- l'extraits hydro-alcoolique et diclofenac 1% ainsi que le poids de l'œdème du témoin négatif.	49
<b>Figure 38</b>	histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par le xylène. La comparaison est faite par rapport au diclofénac CLOGEL® gel 1% comme témoin positif et le témoin négatif	50

# Table des matières

<b>INTRODUCTION</b> .....	01
<b>Chapitre I : DONNES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	04
I. La propolis .....	05
I.1.Définition et étymologie.....	05
I.2.Origine de la propolis .....	05
I .3.Role de la propolis dans la ruche :.....	06
I .4. Caractéristiques et composition chimique de la propolis.....	06
I .5. Composition de la propolis algérienne :.....	08
I.6. Les composés phénoliques .....	09
I.6.1.Les polyphénols .....	09
I.6.2 Les principales classes des composés phénoliques .....	09
I.6.2.1 Polyphénols monomériques.....	09
I.6.2.2 Les polyphénols polymères « Les formes condensées » .....	14
I.7.Toxicité de la propolis :.....	17
I .8. L'activité de la propolis sur le système immunitaire :.....	17
I .8.1 Activité immun-modulatrice:.....	17
I.8.2 Activité anti-inflammatoire:.....	18
I.8.3Activité anti-carcinogène:.....	18
I.8.4 Activités anti-oxydante.....	19
II. Système immunitaire :.....	19
II.1.Définition :.....	19
II.2. Composition du système immunitaire .....	20
II.2.1. Les organes immunitaires.....	20
II.2.2. Les cellules immunitaires .....	21
II.2.3Les substances plasmatiques soluble.....	25
II.3.Fonctionnement du système immunitaire.....	25
II.3.1Les mécanismes de l'immunité innée.....	26
II.3.2Lesmécanismes de l'immunité adaptative.....	26
II.4L'immunodéficienc.....	26
II.4.1 Définition.....	26
II.4.2 Type de l'immunodéficienc.....	27
II.4.3Traitement immunosuppresseur .....	28
<b>Chapitre II :MATERIEL ET METHODES</b> .....	30
III.1.Matériels :.....	31
III.1.1Matériels biologique .....	31
III.1.2Matériels végétales .....	32
III.1.3Matériels chimiques .....	32
III.1.4Equipements.....	32
III.2. Méthodes .....	33
III.2.1. Etude de l'effets immun-stimulateur de la propolis sur chez les rats wistar : .....	33
III.2.2. Etude de l'effets anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis chez les souris .....	36

<b>IV. RESULTATS ET DISCUSSION.....</b>	<b>39</b>
IV.1. Résultat 01.....	40
IV.1.1. Etude de l'effet immunostimulante de la propolis:.....	40
IV.1.1. 1.Variation des cellules LYM, GB et GRA a T0 et T1.....	40
IV.1.1.2.Variation du poids corporel : .....	42
IV.2 Résultat 02.....	43
IV.2.1 L'étude de l'activité anti inflammatoire in vivo .....	45
IV.3. Discussions .....	50
IV.3.1Etude de l'effets de propolis sur la Formule de Numération Sanguin et sur le poids chez les rats .....	50
<b>CONCLUSIONET PERSPECTIVES.....</b>	<b>54</b>
<b>Références Bibliographiques.....</b>	<b>56</b>

# INTRODUCTION



## **INTRODUCTION**

La propolis est un produit de consommation courante qui a été largement utilisé en médecine alternative et a récemment acquis un intérêt à l'échelle mondiale en tant qu'ingrédient essentiel des aliments et des produits cosmétiques sains. On considère également que la propolis améliore la santé humaine et prévient des maladies telles que l'inflammation, les maladies cardiaques, le diabète et même le cancer (**Kasiotiset *et al.* 2017**).

La propolis utilisée dans de nombreux procédés et produits finis brevetés provenant de différents pays asiatiques dont le Japon (32%), la Corée (21%) et la Chine (18%) mais également en Russie (18%) (**Séverine, 2014**).

La propolis est un sujet de recherche populaire dans le monde entier en raison de son potentiel thérapeutique (**Ivana *et al.* 2017**). Différents travaux ont montré les variations de la composition chimique, et par voie de conséquence, l'activité biologique de la propolis associée à son type et à son origine géographique (**Devequi *et al.* 2018**).

Compte tenu de l'urgence actuelle causée par la pandémie COVID-19 et des options thérapeutiques limitées qui a renouvelé l'intérêt pour les produits à base de propolis dans le monde entier, la propolis est présentée comme une option thérapeutique prometteuse et pertinente à cause de ses propriétés antiseptiques et un antiviral importante. (**Andresa *et al.*, 2020**)

Dans le cadre d'explorer le règne naturel, nous nous sommes intéressés à évoluer l'effet de la propolis algérienne sur le système immunitaire, pour cette raison nous avons choisi l'étude de deux fameuses activités de cette dernière : l'activité immunostimulante et l'activité anti-inflammatoire.

L'évaluation de l'effet immunostimulant de la propolis algérienne (de la région de Tipaza) a été testée dans le cas d'une lymphopénie, induite par l'administration de la ciclosporine chez des rats Wistar femelles, cette lymphopénie a été suivie par une administration orale de la propolis afin d'évaluer le développement des taux des globules blancs, les lymphocytes et les

granulocytes. Ainsi que la variation quotidienne du poids corporel des rats a été mise en évidence durant toute l'expérience.

L'évaluation de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis algérienne (de la région de Boumerdes) a été démontrée par le modèle de l'œdème aigu induit par le xylène sur les oreilles de souris, l'objectif de cette étude est de vérifier l'activité anti-inflammatoires de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis au niveau de l'oreille interne de souris BLBC femelles par application cutanée de l'extrait en préventif puis induction d'un œdème à l'aide d'un irritant cutané : le xylène et puis une comparaison de la moyenne de la différence de poids de l'oreille traitée et de l'oreille non traitée pour avoir le poids d'œdème.

Ce travail est structuré en deux parties, une partie bibliographique suivie d'une autre expérimentale.

1- La première partie comprend deux chapitres :

- ✓ Le premier chapitre consiste à décrire la propolis, son origine et ses différents composants et l'influences de ses dernières sur le système immunitaire.
- ✓ Le deuxième chapitre comporte décrit un cliché sur le système immunitaire.

2-La deuxième partie expérimentale qui comprend a son tour les deux études :

- ✓ étude de l'activité immunostimulants de la suspension de la propolis sur des rats Wistar.
- ✓ étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro alcoolique de la propolis sur les souris BLBC.

Cette deuxième partie est suivie par une discussion qui résume tous les travaux déjà publiés sur le sujet.

# CHAPITRE I :

# DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES

## **I- LA PROPOLIS**

### **I-1 Définition et étymologie**

La propolis, ou «colle d'abeille», Le nom propolis (du grec pro polis) signifie devant la cité, et provient du fait que les abeilles utilisent cette substance à l'entrée de la ruche ainsi en apiculture sa signification fait référence à l'hébergement de la ruche (**kasiotiset al., 2017**)

C'est une série de substances résineuses (**Ferhoum, 2010**), gommeuses et balsamiques, de consistance visqueuse, recueillies sur des bourgeons et des écorces de certains végétaux (telles que les peupliers, bouleaux, saules, conifères, ...etc. Une fois dans la ruche, cette résine est mélangée avec la cire d'abeille produite à partir des glandes hypo pharyngées des abeilles ouvrières des sécrétions salivaires, pour faire une sorte de mastic (**Segueni, 2011**).



**Figure 1** : Aspect de la propolis brune (**Blanc, 2010**).

### **I-2 Origine de la propolis**

Des études scientifiques démontrent que les composants de la propolis provenaient de trois sources distinctes :

➤ **Végétal**

Des exsudates de la plante rassemblé par les abeilles, les résines secrétés par les bourgeons de peuplier, pin, bouleau, châtaigne, érable, et les substances lipophiliques secrétés par les lésions des plantes (des résines ou des colles). (**Donadieu, 2008**)

➤ **Animal**

Substances secrétés par les abeilles (la cire, la salive). (**Ghediraet al., 2013**).

➤ **Matières secondaires**

Matières accessoires introduites lors de la production de propolis (pollen, nectar ou le miel)(**Ghediraet al. 2013**)

Selon la flore Algérienne, nous peut en déduire que notre propolis est à l'origine en pin (*Pinus sp*) qui occupe les régions semi arides : chêne (*Quercus suber* et *Quercus canariensis*), châtaignier, cyprès, peuplier, et casuarina se trouve dans le nord- est du pays (**Debabet al., 2016**).

### **I-3Rôle de la propolis dans la ruche**

Les abeilles utilisent les propriétés mécaniques de la propolis (**Bankova et al., 2008**) pour défendre la ruche contre l'envahisseur et de réduire le flux d'air dans la ruche pour retenir la chaleur et assurer une meilleure isolation thermique (**Pierre et al, 2005**), obturer les fissures et réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid.

- ❖ Construire éventuellement de véritables barrières de défense (**Moudir, 2004**) ;
- ❖ Vernisser l'ensemble des surfaces intérieures, afin d'en supprimer les aspérités (**Moudir, 2004**) ;
- ❖ Recouvrir les corps étrangers (souris, cétoines, frelons ...etc.) qu'elles ne peuvent pas évacuer (**Pierre et al, 2005**) ;
- ❖ Réparer les rayons et renforcer et stériliser les minces parois des alvéoles avant la ponte en l'incorporant à la cire que l'abeille sécrète (**Moudir, 2004**)
- ❖ Et enfin, pour consolider les cadres (**Blanc, 2010**).

### **I-4 Caractéristiques et composition chimique de la propolis**

La propolis est une matière lipophile, dure et cassante à froid, mais devient molle, souple, caoutchouteuse et très collante à chaud (**Hausenet al., 2006**).Elle possède une odeur aromatique caractéristique et agréable et une couleur variant du jaune-vert, au rouge et au brun foncé en fonction de sa source et de l'âge de l'abeille (**Marcucci, 2000; Bankovaet al., 2008**).

Les progrès des méthodes analytiques chromatographiques ont permis la séparation et l'extraction de plusieurs composants de la propolis. Jusqu'à présent, plus de 300 substances composées différents ont été identifiés. (Marcucci, 2000 ; Bankova, 2005 ; Kurek-Gorecka et al., 2014).

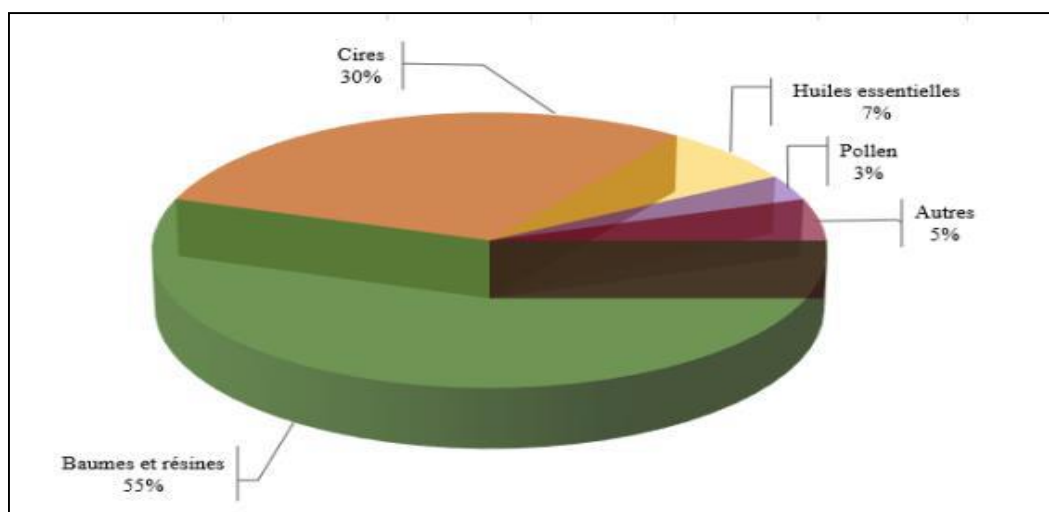
Parmi les autres composés présents dans la propolis, il y a des micro et macroéléments. Environ 30 des éléments ont été découverts dans la propolis : Calcium, magnésium, zinc, cuivre, silicium, fer, et l'aluminium est présent en plus grande quantité. Des vitamines du groupe B, ainsi les vitamines C, D, et E, ainsi que provitamine A (Góreckaetal., 2014).

La combinaison de ces substances entrainant probablement un effet synergique est essentielle pour son activité biologique (Yalfaniet al.,2013).

Cette composition de dépend-elle directement de la flore locale au niveau des sites de collecte et donc des caractéristiques géographiques et climatiques de ces régions (Bankova,2005) et de la saison de l'année et le moment de la collecte (Bankova, 2005 ; Salatino et al., 2015).

La composition de la propolis brute diffère complètement de celle de la propolis pure(Nader, 2013). Cependant, la composition d'un échantillon de la propolis peut se synthétiser comme suit : (Cottica et al., 2015).

- ❖ 50 à 55% de résines et de baumes, dont des métabolites secondaires. (flavonoïdes et acides aromatiques essentiellement).
- ❖ 25 à 35% de cire végétales, la cire d'abeille.
- ❖ 10% des huiles essentielles.
- ❖ 5% de pollen.
- ❖ 5% de matières diverses organiques et minérales.



**Figure 2** : Composition moyenne globale de la propolis. (Marion, 2016).

D’après les études déjà réalisées (Savka et al., 2015), on peut classer les composants de la propolis purifiée dans les groupes suivants :

- ❖ Les composés phénoliques : (On retrouve de l'acide caféique, de l'acide ferrulique, l'acide myristique. L'ester phényléthylique).
- ❖ Les flavonoïdes : (Tels que les flavones, flavonoles, chalcones, la quercétine, la chrysin, la galangine, la pinocembrine. La pinobanksine est le principal représentant de la propolis).
- ❖ Les terpènes (L'anéthol, eugénol, géraniol)
- ❖ Les huiles essentielles (Le guaïol, eugénol, anéthol, le pinène)
- ❖ Les acides organiques (L'acide salicylique, l'acide benzoïque).

### **I-5 Composition de la propolis algérienne**

D’après une étude réalisée dans quatre régions différentes de l’Algérie (Tlemcen, Guelma, et Tizi-Ouzou), la propolis algérienne est constituée de cinq familles principales : les acides aliphatiques, les acides aromatiques, les esters, les flavonoïdes et les terpènes (Tableau I) (Moudir, 2004)

**Tableau I : Pourcentages des composés de la propolis algérienne (Moudir, 2004)**

Famille	Tlemcen	Guelma	M’sila	Tizi-Ouzou
Acides aliphatique	2,80	4,90	4,20	4,30
Acides aromatiques	3,70	3,60	2,70	8,80
Esters	17,20	9,00	9,80	2,60

Flavonoïdes	42,30	37,40	23,10	3,90
Terpènes	6,60	19,90	26,80	12,60

## I-6 Les composés phénoliques

Les sources botaniques et l'origine géographique de la propolis sont principaux déterminants de la diversité des composés phénoliques. A côté de ceux-ci, il y a plusieurs autres facteurs importants influencent le contenu phénolique, comme l'âge de l'abeille, les conditions de ruche, la force de la colonie et méthode utilisée pour collecter l'échantillon (Spulber *et al.* 2017).

### I-6-1 Les polyphénols

Les polyphénols sont des molécules synthétisées par les plantes en réponse à un stress de l'environnement. Ils forment une large famille de composés chimiques qui contient plus de 8000 molécules organiques différentes (Sagols *et al.* 2010).

L'expression de « composés phénoliques » est utilisée pour toutes substances chimiques possédant dans sa structure un noyau aromatique, portant un ou plusieurs groupements hydroxyles. Un nombre considérable de ces composés sont formés de deux noyaux benzéniques A et B reliés par un hétérocycle de type pyrane. Ces composés diffèrent les uns des autres par la position des substitutions sur les noyaux A et B, par la nature de l'élément central et par la position, la nature et le nombre de molécules de sucre fixées ainsi que par la nature de la liaison hétérosidique (Nkhili, 2009).

### I-6-2 Les principales classes des composés phénoliques

Il existe deux grandes classes de polyphénols : Les monomères qui comprennent les acides phénoliques, les flavanoïdes, les polymères qui comprennent les oligomères, les tanins, les stilbènes, les lignanes (Sagols *et al.*, 2010).

#### I-6-2-1 Polyphénols monomériques

Les formes phénoliques les plus simples présentent des structures chimiques allant du simple phénol en C<sub>6</sub> (non présent naturellement chez les végétaux) aux flavanoïdes en C<sub>15</sub> et à des molécules proches. Sauf exception ; ces substances sont présentes sous forme soluble dans la vacuole (Machiex *et al.*, 2006).

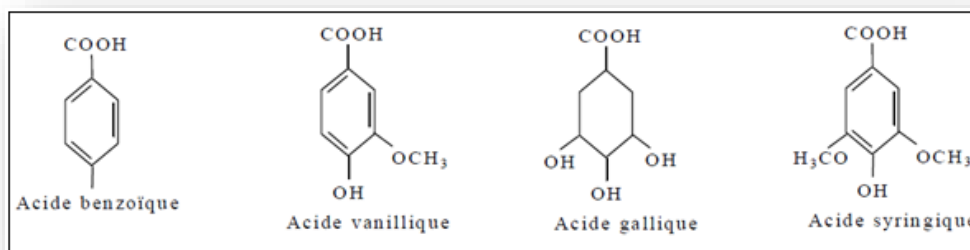


a- Les acides phénoliques

Ils sont composés d'un seul noyau phénolique et d'au moins une fonction carboxylique (Frédéric, 2011). Ils sont de deux types :

➤ Acides hydroxybenzoïques

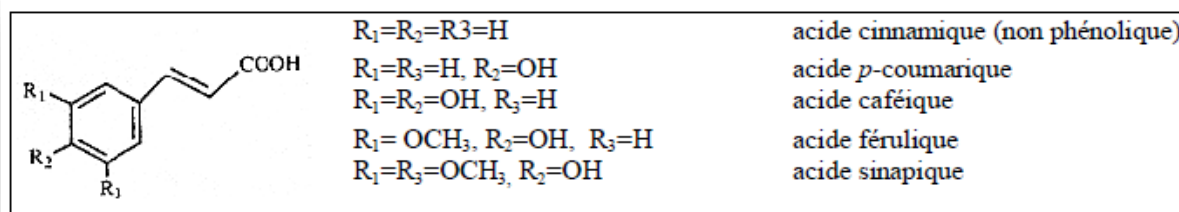
Ils sont dérivés de l'acide benzoïque et ayant une formule de base de type C6 - C1. (Exemple : l'acide gallique, acide vanillique, acide syringique...) (Figure 3).



**Figure 3:** Exemple de quelques acides hydroxybenzoïques. (Bellebcire, 2008).

➤ Acides hydroxycinnamiques:

Ils sont dérivés de l'acide cinnamique ayant la structure de base (C6 – C3). (Exemple : l'acide p-coumarique, l'acide caféique, l'acide férulique et son dérivé 5-hydroxyle et enfin l'acide sinapique...) (Figure 4).

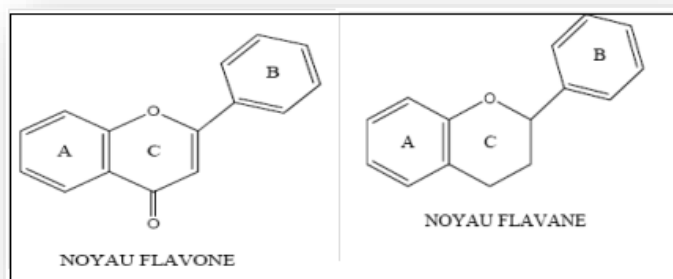


**Figure 4 :** structure chimique de l'acide hydroxycinnamique (Bellebcire, 2008).

b- Les flavonoïdes

Le nom flavonoïde est dérivé du mot « Flavus » en latin, qui signifie jaune. Les flavonoïdes sont des pigments hydrosolubles responsables de la couleur des végétaux. Il en existe plus de 4000 variétés regroupées en 6 classes principales. Ils ont des propriétés

antioxydantes supérieures à celles des vitamines. Les flavonoïdes sont des dérivés du noyau flavone ou 2-phenyl chromone (figure 08) portant des fonctions phénols libres, éthers ou glycosides. Le noyau flavone est lui-même un dérivé du noyau flavane de base (figure 5) (Kebieche, 2009).



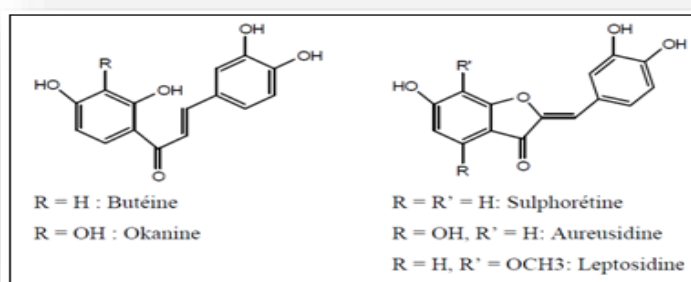
**Figure 5:** Structure du noyau flavone et le noyau flavane. (Kebieche, 2009).

Les flavonoïdes sont donc des polyphénols complexes dont la structure en C<sub>15</sub> (C<sub>6</sub>-C<sub>3</sub>-C<sub>6</sub>) est constituée de deux noyaux aromatiques (noyaux A et B) et d'un hétérocycle oxygéné, cycle C (Milane, 2004).

Les différentes classes des flavonoïdes

➤ Les chalcones et aures

Les chalcones sont différents des autres types des flavonoïdes par l'ouverture du noyau pyranique central, elles sont donc constituées de deux unités aromatiques reliées par une chaîne tricarbonée, cétonique,  $\alpha$ ,  $\beta$ -insaturée. Le noyau B est fréquemment non substitué, alors que les substitutions sur le cycle A sont identiques à celles des autres flavonoïdes (figure 6) (Nkhili, 2009).

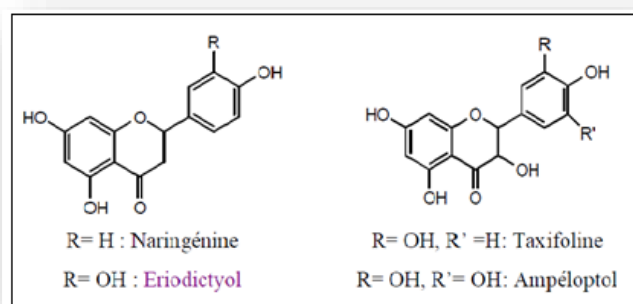


**Figure 6:** Structure chimiques des chalcones et aures (Francisco et Juan, 2010)

➤ Les flavanones et flavanonols

Dérivent des précédentes par une cyclisation au centre du squelette, d'où un hétérocycle. Ils se caractérisent par l'absence de la double liaison entre C2 et C3 par la présence des centres d'asymétrie (figure 10) (Bellebcire, 2008).

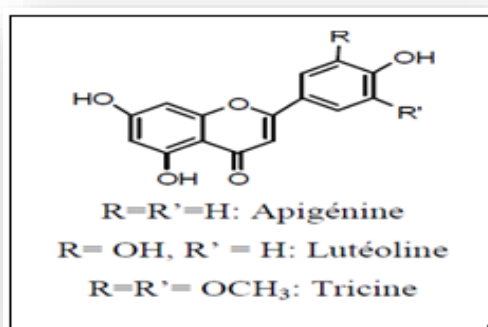
Les flavanonols (encore appelés dihydroflavonols) se distinguent des flavanones par l'hydroxylation de la position C-3 (figure 7) (Nkhili, 2009).



**Figure 7:** structure chimiques des flavanones et flavanonols (Min et al., 2010).

➤ Les flavones

Dérivent des flavanones par une oxydation qui introduit une seconde double liaison dans l'hétérocycle. Dans plus de 90%, le cycle A est substitué par deux hydroxyles phénoliques en C5 et C7 (figure 8) (Bellebcire, 2008).

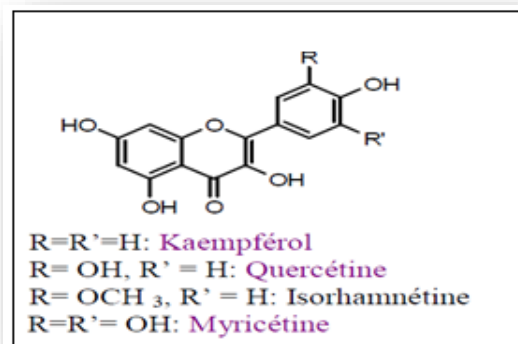


**Figure 8 :** structure chimiques des flavones (Alok et Ram, 2010).

➤ Les flavonols :

Se différencient des flavones par la présence d'un OH en C3 (Bellebcire L, 2008). Ces composés constituent le groupe le plus hydroxylé de la famille des flavonoïdes. Ils peuvent

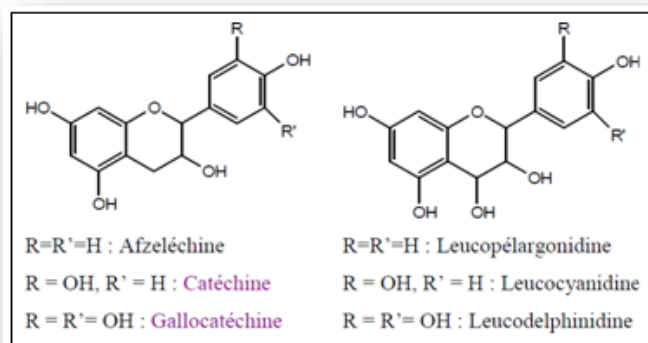
exister soit sous forme d'aglycones, soit sous forme d'hétérosides. Les sucres les plus souvent impliqués sont des aldoses : D-glucose, D-galactose, L-rhamnose et L-arabinose (**figure 9**) (Nkhili, 2009).



**Figure 9** : structure chimiques des Flavonols (Alan C et al., 2009).

➤ Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols

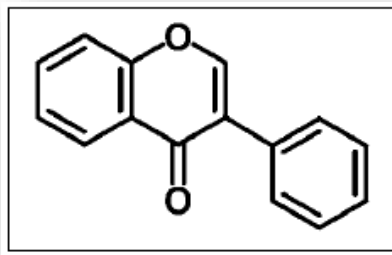
À la différence des flavanones et des flavanonols, ces deux groupes de molécules sont toujours hydroxylés en position 3 et se caractérisent par l'absence du groupe carbonyle en C4. Les flavan-3-ols (appelés aussi les catéchines) possèdent deux atomes asymétriques en C2 et C3. Les flavan-3,4-diols se distinguent des catéchines par la présence du OH en position 4 (**figure 10**) (Nkhili, 2009).



**Figure 10** : structure chimiques des Flavan-3-ols, flavan-3,4-diols (Alan C et al. 2009).

➤ Les isoflavones

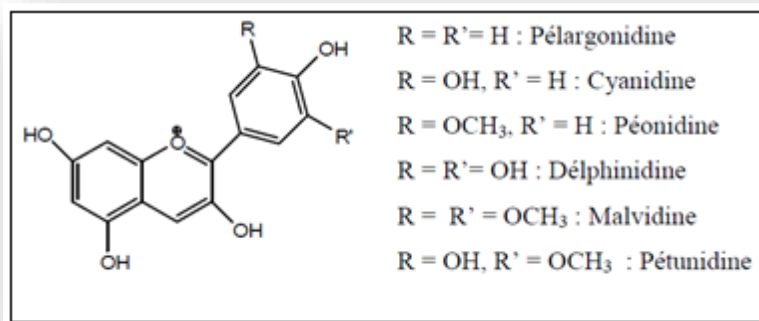
Dérivent aussi des flavanones mais outre une oxydation centrale, il y a transposition du cycle latéral du C2 au C4 de l'hétérocycle (**figure 11**) (Bellebcire, 2008).



**Figure 11** : structure chimiques des isoflavones (Min et al. 2010).

➤ Les anthocyanes

Les anthocyanes sont des pigments rouges très répandus dans les fleurs et les fruits. Ils sont des dérivés du cation 2-phényl-1-benzopyrylium (flavylium) porteur de 3 cycles aromatiques conjugués d'où l'absorption de lumière visible (Nkhili, 2009). Chez les anthocyanes, en plus de la position 3 qui est toujours glycosylée, il y a préférentiellement la position 5 qui est glycosylée. La partie phénolique seule est désigné sous le nom d'anthocyanidine, alors que l'hétéroside (molécule phénolique associée à un sucre) est appelé anthocyanine (figure 12) (Bellebcir, 2008).



**Figure 12**: structure chimiques des anthocyanes (Alok et Ram, 2010).

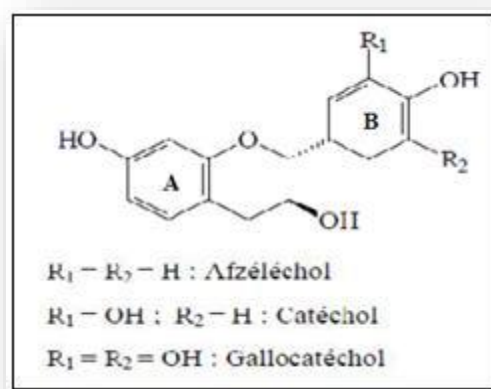
### I-6-2-2 Les polyphénols polymères « Les formes condensées »

Ces composés résultent généralement de la condensation de certaines des formes simples précédemment évoquées. Dans tous les cas, les formes condensées sont particulièrement difficiles à étudier et, dans la plupart des cas, on est obligé de les dégrader, chimiquement ou enzymatiquement, avant de pouvoir les analyser. Selon la nature des constituants impliqués et selon le type de condensation, on obtient des composés plus ou moins complexes pouvant encore présenter une hydrosolubilité suffisante pour être présents dans la vacuole (tanins, certains produits de brunissement) ou au contraire acquérir un

caractère lipophile marqué et s'accumuler alors dans les structures pariétales (lignines, acides phénoliques intégrés dans la cutine et la subérine...) (Macheix et al. 2006).

**a- Les Tanins**

Ils représentent un groupe hétérogène assez difficile à définir de façon rigoureuse et concise car il n'y a pas de structure chimique de base (Nkhili, 2009). Il est classique de distinguer deux grands groupes de tanins, différents à la fois par leur réactivité chimique et par leur composition (Figure 13) (Bellebcire, 2008).



**Figure 13:** Structure chimiques des tanins (Kanoun, 2011).

➤ Les tanins hydrolysables

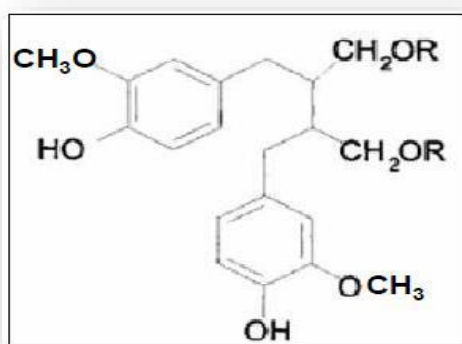
Ce sont des esters de glucose et d'acide gallique. Ils sont d'abord caractérisés par le fait qu'ils peuvent être dégradés par l'hydrolyse chimique (enzymatique). Libérant ainsi une partie non phénolique (glucose) et une partie phénolique ou l'acide ellagique

➤ Les tanins condensés

Ce sont des oligomères ou des polymères de flavane 3-ol dérivés de la catéchine ou de ses nombreux isomères. Ces tanins catéchiqes ne sont hydrolysables que dans des conditions fortement acides (Awika et Rooney, 2004). Ils ont la propriété de coaguler les protéines du derme, d'où leur utilisation dans le tannage des peaux (Guignard, 2000).

**b- Les lignanes**

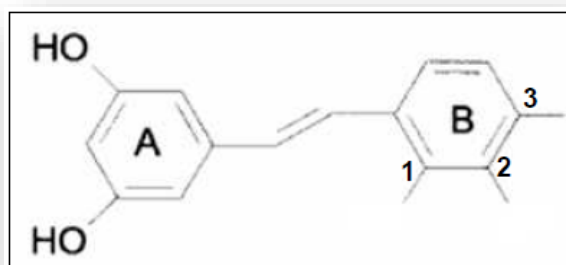
Les lignanes résultent de la polymérisation tridimensionnelle de trois unités phénoliques de base dénommées monolignols et qui sont les alcools coumarylique, coniférylique et sinapylique, dérivant respectivement des acides *p*-coumarique, férulique et sinapique (**Machiex et al. 2006**). Ces composés de haut poids molécules contribuent à former, avec la cellulose et les dérivés hémicellulosiques, la paroi des cellules végétales (**Figure 14**) (**Nkhili, 2009**).



**Figure 14** : Structure chimique des lignines.

**c- Les stilbènes**

Les stilbènes présentent une structure en C6-C2-C6, et sont synthétisés à partir de dérivés d'acides cinnamiques dont. Ils sont présents dans la plante sous forme de monomères, dimères, trimères ou polymères. La molécule la plus courante et la plus étudiée est le resvératrol (3,5,4'trihydroxystilbène) (**Figure 15**).



**Figure 15** : Structure chimique des stilbènes (**Loïc, 2011**)

## **I-7 Toxicité de la propolis**

La toxicité de la propolis est très faible. Chez le rat, la DL50 (dose létale médiane) d'un extrait concentré de propolis a été évalué à 15 g/ kg. (**Séverine, 2014**). La dose la plus élevée sans effets indésirables (NAOEL) est de 1.4 g/ kg chez l'animal et qu'une supplémentation de 1.95 g/ jour pendant 30 jours n'a pas entraîné d'effets indésirables chez l'homme (**Jasprica et al. 2007**).

Cependant, il peut exister des cas d'allergies de contacts (dermatose, eczéma) avec un allergène bien identifié : le caféate de prényle (**Gardana et al. 2011**).

## **I-8 L'activité de la propolis sur le système immunitaire**

### **I-8-1 Activité immun-modulatrice**

La propolis possède une activité immun-modulatrice in vivo et in vitro sur l'ensemble des cellules immunitaires responsables de la réponse immunitaire innée ou acquise qui se traduit par une stimulation du pouvoir de présentation des macrophages. La propolis active les macrophages par la génération d'oxyde nitrique, à partir de la L-arginine. L'oxyde nitrique est un mécanisme microbicide important des macrophages pour inhiber la respiration mitochondriale, la synthèse d'ADN et le transport actif dans la membrane bactérienne et fongique. (**Hadj Salem, 2009**).

Elle renforce la coopération entre les lymphocytes CD4 et CD8 (**Orsatti et al. 2010**) (**Parck et al. 2004**), ainsi qu'elle stimule de la production des anticorps par les plasmocytes (**Orsi et al. 2000 ; Sforcin, 2007**).

D'autres études ont montré que la prise de propolis entraîne une inhibition de la libération de l'histamine chez des patients souffrant d'une rhinite allergique (**Shinmei et al. 2009**).

En outre, ils ont constaté que la prise orale quotidienne de la propolis pendant 2 à 3 mois entraînait une diminution du taux des prostaglandines, des leucotriènes et des cytokines pro-inflammatoires et parallèlement une augmentation des cytokines anti-inflammatoires chez des patients asthmatiques (**Khayyal et al. 2003**).



### **I-8-2** Activité anti-inflammatoire

Ce sont les flavonoïdes qui jouent le rôle principal dans l'inflammation suite à leur capacité d'inhiber l'action de protéines kinases (protéine kinase C ou encore protéine tyrosine kinase). Alors, ils inhibent la prolifération des lymphocytes T et B, ainsi que la synthèse des prostaglandines. En outre, une stimulation des macrophages sera observée (**Borrelli et al, 2002**).

L'inflammation ou la réaction inflammatoire est la réponse des tissus vivants, vascularisés à une agression. L'agresseur peut être d'origine physique (radiations, chaleur, traumatisme..), chimique (toxines, venins, produits chimiques ...), biologique tel que les composés issus de la réaction immunitaire (complexes immuns, anticorps, cytokines...), quel que soit l'agresseur, la réponse inflammatoire reste la même mais avec des intensités et des durées variables (**Zerbato, 2010**).

La propolis possède un effet anti inflammatoire significatif sur différents modèles *in vivo* d'arthrite, d'œdème de la patte ou d'inflammation chronique ou aiguë. Plusieurs mécanismes d'actions ont été proposés : inhibition de l'activation de certaines molécules du système immunitaire (IL-6) et inhibition de certaines enzymes impliquées dans la voie métabolique de l'inflammation (cyclo-oxygénase, lipo-oxygénase, myéloperoxidase, NADPH-oxydase, ornithine décarboxylase).

Le CAPE (phényléthylique de l'acide caféique) est le plus puissant modulateur du métabolisme de l'acide arachidonique à la base de la synthèse des prostaglandines et leucotriènes pro -inflammatoire (**Rossi et al, 2002**). Il inhibe le NFkb et la cyclo-oxygénase (**Sauvager, 2014**).

### **I-8-3** Activité anti-carcinogène

L'activité anti-carcinogène est due aux flavonoïdes (dont la quercétine) et a un dérivé de l'acide caféique connu sous le nom CAPE identifié comme un inhibiteur du processus tumoral (**Banskota et al., 2002 ; Huleihel et Ishano, 2004**).

La tectochrysin et la pinocembrine sont des flavones qui ont la capacité de bloquer la mutagenèse et sont reconnues pour leurs effets antioxydants, anti-tumoraux, anti-

inflammatoires et antimicrobiens (**Eng-Chong et al. 2012**) qui sont présents en grande quantité dans la propolis originaire de différentes régions géographiques (**Hamasaka et al. 2004**).

La majorité des cancers dépendent de la voie de signalisation Pka1 pour leur croissance. Des études ont montrés que la propolis était capable d'inhiber cette dernière (Pka1) en modulant l'expression ou l'activité de certaines molécules impliquées dans cette voie de signalisation comme Gtpase et Rac (**Szliszka et al. 2009 ; Avci et al. 2011**).

L'effet antiprolifératif se résulte d'une restauration du signal d'apoptose par induction des protéines pro-apoptotique (p21, p53) où par inhibition des protéines anti-apoptotiques (Bcl 2, Bc-xl) (**Popolo et al. 2011**).

L'effet antiprolifératif peut également résulter d'un arrêt du cycle cellulaire en G1 par inhibition des cyclines ou par blocage des récepteurs hormonaux (**Weng et al. 2007**).

#### **I-8-4 Activité anti-oxydante**

Plusieurs études ont montré que l'activité antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec sa teneur en polyphénols et en flavonoïdes par inhibition de la lipoperoxydation de l'acide Linoléique (**Bonvehí, 2011**). Les flavonoïdes s'opposent ainsi à l'oxydation des lipides et leur transformation en radicaux libres et le CAPE inhibe la formation de l'anion superoxyde (**Gregoris etStevanato, 2010**).

La propolis présente un *large éventail* d'activités pharmacologique en citant quelque activité comme : l'activité antivirale (**Lemosetal., 2020**), l'activité anti-infectieuse (**Ghediraet al. 2009**), l'activité antibactérienne (**Saad Almuhayawi,2020**), activité cicatrisante (**Blanc, 2010**) activité antiulcéreuse (**Nader El Housseini, 2013**).

## **II-SYSTEME IMMUNITAIRE**

### **II-1Définition**

Le système immunitaire est apparu au cours de l'évolution afin de protéger les organismes (**Chapel et al. 2004**). Il les protège contre les micro-organismes, les cellules malignes, les matières étrangères et toxiques. Ainsi, le système immunitaire est, par définition, l'ensemble des molécules, cellules et tissus qui concourent à opposer une résistance aux menaces (**Abbas et Lichtman, 2009**). Cette résistance porte le nom d'immunité ; la réaction coordonnée de ces

molécules et cellules constitue la réponse immunitaire. Et surtout, il peut faire la discrimination entre les molécules étrangères et les cellules ou protéines de l'organisme qui le possède (discrimination Soi – non Soi). Cependant, il arrive parfois que ce système puisse être défaillant. Il devient alors délétère pour l'organisme en s'attaquant à certains organes comme s'il s'agissait de corps étrangers provoquant ainsi des maladies auto-immunes (**Bergereau, 2010**).

## **II-2 Composition du système immunitaire**

Le système immunitaire est un ensemble d'organes, de tissus, de cellules et de molécules composants un réseau dynamique capable de nous protéger des pathogènes.

### **II-2-1 Les organes immunitaires :**

#### **II-2-1-1 Organes lymphoïdes primaires**

Ils comprennent la moelle osseuse (bonne marron) et le thymus ; le rôle de ces organes primaires est de permettre la formation, la différenciation et la maturation des cellules du système immunitaire (**Owen et al. 2014**).

##### **a- Moelle osseuse (moelle rouge)**

Elle occupe les espaces entre les travées de l'os spongieux médullaire, elle permet l'auto renouvellement et la différenciation des cellules souches hématopoïétiques (CSH) en cellules sanguines matures (**Owen et al. 2014**). Elle constitue le site de différenciation des lymphocytes B, c'est le principale tissu contenant les plasmocytes produisant les immunoglobulines (**chatenoud et Bach, 2012**).

##### **b- Le Thymus**

Organe lympho-épithélial situé au-dessus du cœur, formé de deux lobes, comprenant chacun une zone corticale externe divisée en cortex superficiel et profond et une zone médullaire centrale (**Letonturier, 2007**).

C'est le lieu de maturation des lymphocytes T à partir des précurseurs des lymphocytes T venant de la moelle osseuse ; les cellules T matures sont ensuite relâchées dans la circulation sanguine (**Baudry et Brezzellec, 2006**)

## **II-2-1-2- Les Organes lymphoïdes secondaires**

### **a- La rate**

Organe lymphoïdes, de forme ovale, le plus volumineux, situer sur le courant sanguin .La rate est spécialisée dans la filtration du sang des globules rouges endommagées ou vieillis, et la capture des antigènes circulants et utilises pour activer les lymphocytes (**Bergereau, 2010**).

### **b- Les ganglions lymphatiques**

Sont des agrégats nodulaires de tissus lymphoïdes situés le long des voies lymphatiques qui traversent l'organisme (**Abbas et Lichtman, 2009**). Sont les OLS les plus spécialisés. Contrairement à la rate, qui régule également le taux de globules rouges et leur élimination, les ganglions sont totalement engagés dans la régulation de la réponse immunitaire (**Owen et al. 2014**).

### **c- Les systèmes immunitaires cutanés et muqueux**

Sont respectivement situés sous les épithéliums de la peau et des tractus gastro-intestinal(MALT) et respiratoire (BALT).Les amygdales pharyngiennes et les plaques de Peyer de l'intestin constituent deux formations lymphoïdes annexées aux muqueuses. À tout moment, plus de la moitié des lymphocytes de tout l'organisme se trouvent dans les muqueuses (**Abbas et Lichtman, 2009**). Ce qui reflète l'importance fonctionnels de ces tissus dans la décence de l'organisme qui est prouvée par sa grande population de plasmocytes producteurs d'anticorps (**Kindt et al. 2007**)

## **II-2-2 Les cellules immunitaires**

Toutes les cellules du système immunitaire sont issues de précurseurs hématopoïétiques de la moelle osseuse. Ces précurseurs, suivant le milieu cytokinique. Ils se différencieront soit en progéniteurs myéloïdes soit en progéniteurs lymphoïdes (**Bergereau, 2010**).

### **II-2-2-1 La lignée myéloïde**

Toutes les cellules du sang se développent à partir des cellules pluripotentes de la moelle osseuse appelé «cellule souche hématopoïétique» capable de s'auto renouveler et de donner naissance aux différents types cellulaires. (**chatenoud et Bach, 2012**).

Le progéniteur myéloïde rassemble les globules rouges (érythrocytes), les plaquettes (thrombocytes) et les cellules phagocytaires qui ont une fonction de cellules présentatrices d'Antigènes professionnelles (CPA). **(Baudry et Brezzellec, 2006)**

La phagocytose est partagée entre : les macrophages (polynucléaires), les macrophages (monocytes sanguins) et les cellules dendritiques **(Owen et al. 2014)**.

#### **a- Les polynucléaires**

Ils représentent la première ligne d'attaque au cours d'une réponse immunitaire, il en existe trois catégories :

-Neutrophiles : représentent 65% des leucocytes du sang et 99% des granulocytes. Ils ont un noyau lobé et possèdent de petites granules qui peuvent être exocytés afin de limiter l'inflammation à l'endroit de l'infection, ils se trouvent ainsi sur la première ligne de la défense innée où ils exercent leur activité phagocytaire et microbicide **(Parham, 2003)**.

-Basophiles : représentent 1% des leucocytes du sang. Ils ont un noyau diffus et de grosses granules pourpres contenant de l'Histamine qui une fois déversé, attire les autres globules blancs et active la réaction inflammatoire. Ils interviennent dans les réactions allergiques **(Owen et al. 2014)**.

-Eosinophiles : Ils ont un noyau lobé, granulations rouges ou jaunes. Ils s'attaquent aux parasites de l'organisme sans les phagocyter ; ils se fixent dessus, déversent leurs granules qui contiennent des enzymes destinés à les détruire. Ces dernières peuvent également limiter l'action de l'histamine des granulocytes basophiles **(Male et al. 2007)**.

#### **b- Les monocytes / macrophages**

Les monocytes sont des cellules de grandes tailles avec un noyau en forme de rein et nombreuses organelles cytoplasmiques, ils représentent entre 2 à 10 % de leucocytes totaux du sang. Pendant huit heures ils migrent vers les tissus où ils se différencient en macrophages qu'ils font partie du système phagocytaire mononucléé et appartiennent aux phagocytes professionnels et qu'ils forment une population très hétérogène **(Miroslav 2004)** et **(Bergereau, 2010)**.

### **c- Les cellules dendritiques (CD)**

Elles jouent un rôle primordial dans l'initiation d'une réponse immunitaire et tirent leurs noms de leurs longues extensions membranaires ressemblant aux dendrites des cellules nerveuses. Elles représentent 0.5% des cellules mononuclées du sang, elles réalisent la fonction distincte de capture de l'antigène dans un site et de présentation antigénique dans un autre, elles sont trouvées pratiquement dans tous les organes (Owen et *al.* 2014).

#### ➤ **Les cellules dendritiques folliculaires**

Ces cellules tirent leur nom de leur localisation exclusive au sein des follicules lymphoïdes (structures organisées des ganglions lymphatiques) qui sont enrichis de lymphocytes B.

Elles ne possèdent pas des fonctions de capture ni de présentation antigénique, leur interaction avec les cellules B est une étape importante dans la maturation et différenciation des cellules B (Owen et *al.* 2014).

## **II-2-2-La lignée lymphoïde**

Un progéniteur commun donnant naissance à deux types majeurs de lymphocytes : LB et LT ainsi que les cellules NK :

### **a- Les lymphocytes B**

La cellule LB vient de « bonne marron » qui signifie « moelle osseuse » en anglais qui désigne l'organe où les lymphocytes B achèvent leur maturation. Responsable de la réponse immunitaire humorale, chaque lymphocyte B mature porte à sa surface sous la forme d'un complexe : le récepteur des cellules B (BCR) pour un antigène soluble ou particulaire. Une fois stimulés, ces lymphocytes B peuvent se différencier en plasmocytes qui sécrètent un grand nombre d'immunoglobulines (AC) identiques et spécifiques à l'Ag en cause ainsi que des cellules LB mémoires (Male, 2005).

### **b- Les lymphocytes T**

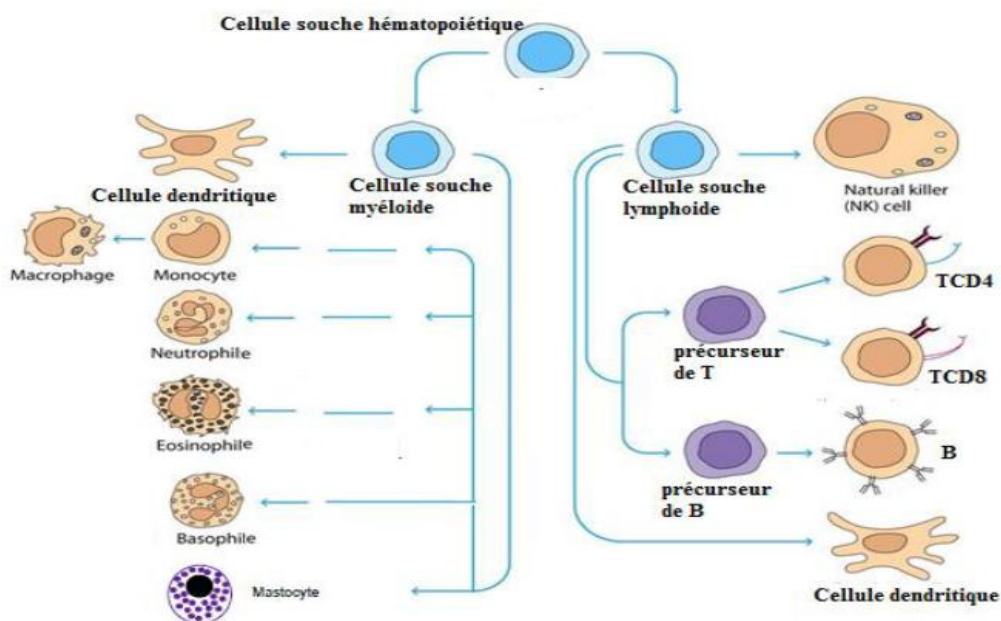
Sont le support de l'immunité à médiation cellulaire, représentent 70 à 85 % de lymphocytes circulants (Masmoudi, 2015). Ces cellules tiennent leur nom de leur site de maturation, le thymus où elles expriment ensuite leur récepteur pour l'antigène appelée Récepteur des Cellules T (TCR) et se différencient en deux sous populations, l'une portant le marqueur CD4 et l'autre le marqueur CD8. Aussi on peut distinguer deux autres sous

populations selon le type de récepteur, soit  $\alpha\beta$ (TCR2) soit  $\gamma\delta$  (TCR1) (Male, 2004). Elles sont caractérisée par une durée de vie longue, mobiles et se trouvent dans le sang, la lymphé et dans certaines régions des organes lymphoïdes dites thymus-dépendantes (Letonturier, 2007).

### c- Les cellules NK

Autrefois appelées « grands lymphocytes granuleux » suite à la présence des granules cytotoxiques, elles constituent 5% à 10% des lymphocytes dans le sang périphérique chez l'homme, proviennent du même précurseur des cellules T et deviennent matures dans la moelle osseuse. Ce sont des cellules tueuses très efficaces qui attaquent une grande variété de cellules anormales, y compris certaines cellules tumorales et certaines cellules infectées par des virus (Owen et al. 2014).

On peut également ajouter un autre type de cellules immunitaire, les mastocytes qui sont localisés dans la plupart des organes à l'exception du cerveau .Ils contiennent des granules riches en substances telles que l'héparine , l'histamine ,la sérotonine ainsi que de nombreuses enzymes ,ces éléments sont libérés dans le sang lors d'une réaction antigène-anticorp en stimulant la vasomotricité ,activant d'autres cellules du système immunitaire ou en participant à la coagulation sanguine. Interviennent dans le phénomène d'inflammation et responsables de l'allergie par la libération de l'histamine (Bourillon et al. 2013).



**Figure 16 :** Les cellules du système immunitaire.

### **II-2-3- Les substances plasmatiques soluble**

#### **II-2-3-1- Système du complément :**

Il se compose d'un ensemble de 20 glycoprotéines dans le sérum, et d'autres à la surface des cellules, où elles participent à la formation de divers récepteurs (**Lydyard, 2013**).

On distingue trois voies d'activation du système de complément (la voie classique, la voie des lectines et la voie alterne), à l'origine de leurs fonctions (la lyse des cellules cibles, l'opsonisation des pathogènes et l'activation de la réponse inflammatoire) (**Kindt et al. 2008**).

#### **II-2-3-2- Les anticorps (AC) ou immunoglobulines (Ig) :**

Produits par les plasmocytes, ils ont deux fonctions essentielles, la reconnaissance et la fixation sur le déterminant antigénique, et fonctions effectrices, comprenant la capacité de se fixer au récepteur Fc et d'activer le complément, etc. (**Miroslav, 2004**).

#### **II-2-3-3- Les cytokines**

Elles sont des glycoprotéines produites par de très nombreux types cellulaires, exprimant l'un des mécanismes principaux d'interactions cellulaires et régulant des fonctions biologiques extrêmement variées (prolifération, différenciation, activation, survie ou mort cellulaire).

Les cytokines peuvent être classées en :

- Interleukines : d'IL-1 à IL-26.
- Interférons : IFN- $\alpha$ , IFN-  $\beta$  et IFN- $\gamma$ .
- Facteur de nécrose tumorale (Tumor Necrosis Factor) : TNF
- Facteur de croissance de transformant (Transforming Growth Factor) : TGF
- Facteur stimulant les colonies (Colony Stimulating Factor) : GM-CSF, M-CSF et GCSF.
- Chimiokines : CCL ou CXCL

### **II-3 FONCTIONNEMENT DU SYSTEME IMMUNITAIRE**

Pour assurer sa protection, l'organisme possède deux types de mécanismes de défense :



### **II-3-1 Les mécanismes de l'immunité innée :**

Assurent la défense initiale contre les infections. Certains des mécanismes empêchent les infections (ex : les barrières épithéliales), tandis que d'autres éliminent les microbes (ex : les phagocytes, les cellules NK et le système du complément). Ils entrent en action rapidement mais ne sont pas spécifique à un agresseur en particulier (**Abbas et al. 2013**).

### **II-3-2 Les mécanismes de l'immunité adaptative :**

Se développent plus tardivement lorsque l'agent pathogène réussit à déjouer les défenses naturelles non spécifiques (**Lydyard, 2013**) et sont assurées par les lymphocytes et leurs produits. Les anticorps bloquent les infections et éliminent les microbes (réponse immunitaire humorale), les lymphocytes T éliminent les microbes intracellulaires (réponse immunitaire cellulaire). (**Abbas et al. 2013**).

Ces mécanismes sont spécifiques et dotés d'une mémoire (**Abbas et al. 2013**), ces deux réponses sont intimement liées suite aux messagers chimiques (Cytokine) de la communication intercellulaire (**Lydyard, 2013**).

## **II-4 DYSFONCTIONNEMENT DU SYSTEME IMMUNITAIRE CAS DE L'IMMUNODEFICIENCE**

### **II-4-1 Définition**

Le déficit immunitaire est une pathologie correspondant à une insuffisance ou un mauvais fonctionnement d'une ou de plusieurs fonctions du système immunitaire. Il en résulte d'une augmentation de la susceptibilité aux infections. (**Notarangelo et Fischer, 2010**).

Elles surviennent lorsqu'un ou plusieurs composants du système immunitaire sont défectueux. Les déficits immunitaires altèrent les capacités du système immunitaire à défendre l'organisme contre l'invasion ou l'attaque de cellules étrangères ou anormales (telles que des bactéries, des virus, des champignons et des cellules cancéreuses). Par conséquent, des infections bactériennes, virales ou fongiques inhabituelles ainsi que des lymphomes ou d'autres cancers peuvent se développer. (**Abbas et al. 2013**)

Un autre problème réside dans le fait que jusqu'à 25 % des personnes présentant un déficit immunitaire sont également atteintes d'une maladie auto-immune (thrombocytopenie

immunitaire, par exemple). Lorsqu'une personne est atteinte d'une maladie auto-immune, son système immunitaire attaque les tissus de son propre organisme. Parfois la maladie auto-immune apparaît avant que l'immunodéficience ne provoque de symptômes (McCusker, 2011).

Il existe deux types de déficits immunitaires :

#### **II-4-1-1 Les immunodéficiences primaires**

Sont causées par des mutations héréditaires dans un grand nombre de gènes impliqués dans les réponses immunitaire ou dans leur contrôle. Bien plus de 150 immunodéficiences ont été décrites, elles affectent le développement des cellules immunitaire, leur fonction ou les deux. Ces troubles sont d'ordinaire présents à la naissance et sont des troubles génétiques généralement héréditaires (Notarangelo et Fischer, 2010). Ils se manifestent en général au cours de l'enfance, voire de la petite enfance. Toutefois, certains déficits immunitaires primitifs (tels que l'hypogammaglobulinémie à expression variable) ne sont diagnostiqués qu'à l'âge adulte (Mc cusker, 2011).

#### **II-4-2-2 Immunodéficiences secondaires**

Sont acquises à la suite d'autres maladies ou sont secondaires a des facteurs environnementaux tels que la famine ou sont une conséquence défavorable de l'intervention médicale. Certaines formes d immunodéficiences affectent principalement les voies de régulation immunitaire Des défauts de ce type peuvent entraîner une allergie, une prolifération anormale de lymphocyte, une auto immunité et certain type de cancer.

Ces troubles peuvent être dus à :

- Pathologies prolongées (chroniques) et/ou graves comme le diabète ou le cancer
- Médicaments
- Rarement, la radiothérapie

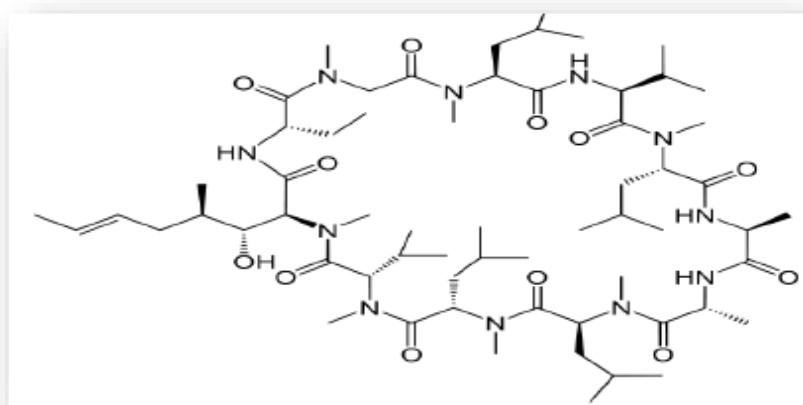
Un déficit immunitaire secondaire peut résulter de presque toute maladie grave prolongée. Le diabète peut par exemple entraîner un déficit immunitaire, par dysfonctionnement des globules blancs consécutif aux taux élevés de sucre dans le sang. Une infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) induit un syndrome d'immunodéficience acquise (sida), qui est le déficit immunitaire acquis grave le plus fréquent (Mc cusker, 2011).

## II-4-2 Traitement immunosuppresseur

Les traitements immunosuppresseurs agissent sur le mécanisme immunitaire en induisant une déplétion des lymphocytes T. Le taux de réponse est de 60% à 80% selon les études, avec un taux de survie à 5 ans entre 55 et 80%, proche des résultats obtenus avec l'allogreffe de CSH. Toutefois, l'hématopoïèse d'un patient après traitement immunosuppresseur reste profondément anormale et potentiellement sujette à une évolution (Socie, 2005).

### II-4-2-1Ciclosporine A

La ciclosporine A (CsA) est une molécule appartenant à une famille de polypeptides cycliques produits par la levure *Tolypocladium inflatum* (Figure 17).



**Figure 17** : Structure de la ciclosporine (Lydyard, 2013).

### II-4-2-2 Mécanisme d'action

La CsA appartient à la famille pharmaco-thérapeutique des inhibiteurs de la calcineurine. La CsA inhibe très sélectivement la prolifération des lymphocytes T en supprimant la réponse cellulaire précoce aux stimuli antigéniques et régulateurs. Un complexe hétérodimérique se forme par la liaison entre la CsA et la cyclophiline (récepteur cytoplasmique), qui va ensuite se lier à la calcineurine, inhibant de ce fait l'activité phosphatase sérine-thréonine  $Ca^{2+}$  dépendante (Lydyard, 2013).

Sans cette activité phosphatasique de la calcineurine, la déphosphorylation des protéines cytosoliques de régulation est impossible. Ces dernières ne peuvent donc pas passer dans le noyau pour servir de sous-unités du complexe de facteurs de transcription.

L'activation des cellules T augmente la transcription de nombreux gènes qui codent pour des cytokines spécifiques, particulièrement pour l'IL-2, certains proto-oncogènes et certains récepteurs de cytokines (par exemple le récepteur pour l'IL-2) (**Philip, 2016**).

La liaison de la CsA à la cyclophiline a pour conséquence l'inhibition de l'activité de la calcineurine et donc, la suppression de la cascade d'évènements qu'elle stimule. La CsA peut également déprimer la sécrétion d'IL-2 en augmentant l'expression du facteur de transformation de croissance  $\beta$  (TGF  $\beta$ ), qui est un puissant inhibiteur de la prolifération des cellules T stimulées par l'IL-2 et de la production de lymphocytes cytotoxiques spécifiques de l'antigène. La surexpression de TGF  $\beta$  peut contribuer à l'effet immunosuppresseur global de la CsA (**Philip, 2016**).

#### **II-4-3-3 La toxicité de la ciclosporine :**

La DL<sub>50</sub> de la ciclosporine administrée par voie orale est de 2329 mg/kg chez la souris, 1480 mg/kg chez le rat et > 1000 mg/kg chez le lapin. La DL<sub>50</sub> lors de l'administration par voie intraveineuse est de 148 mg/kg chez la souris, 104 mg/kg chez le rat et 46 mg/kg chez le lapin (**VIDAL, 2020**)

# CHAPITRE II :

# MATERIEL ET METHODES

Notre étude a été menée au niveau de l'unité des bio-essais *in vivo* du service de Pharmacotoxicologie du Laboratoire National de Contrôle des Produits Pharmaceutiques (LNCPP) à Dely Brahim. L'animalerie se trouve au sein de cette unité.

Les résultats de la formule de numération sanguine ont été fournis par le laboratoire de l'hôpital ISSAAD HASSANI de BENI-MESSOUS.

## **I-MATERIELS**

### **I-1 Matériels biologiques 1**

#### **I-1-1 Le modèle expérimentale**

On a réalisé la première étude sur un échantillon de 10 Rats Wistar Albinos femelles avec un poids corporel varie entre 170 et 280g.

La deuxième étude été réalisée sur un échantillon de 40 souris BLBC femelles du poids corporel de  $18 \pm 2,1g$ .

#### **I-1-2 Conditions d'élevage**

Les rats sont hébergées à l'animalerie de l'unité des bio-essais *in vivo* du service de Pharmacotoxicologie du LNCPP dans cages en polypropylène tapissés d'une litière constituée de copeaux de bois, ces cages sont nettoyé un jour sur deux par l'eau et un détergeant (eau de javel). Les rats sont nourris par un régime granulé et de l'eau présentée dans des biberons.



**Figure 18:** rats au niveau de l'enceinte d'élevage.

La salle de l'animalerie dispose d'une température ambiante et contrôlée (elle est à 24°C), une humidité convenable ainsi que l'air est renouvelé à l'aide d'un extracteur d'air. Une photopériode est assurée 12/24 heures par un éclairage artificiel.

## 1-2 Matériels biologiques 2

- Propolis algérienne brune de la wilaya de Tipaza.
- Propolis algérienne brune de la wilaya de Boumerdes L'extrait hydro-alcoolique.

## 1-3 Matériels chimiques

- La ciclosporine (Neoral 100mg)
- Le tween (émulsifiant)
- Diethylether
- Huile de tournesol (placebo)
- Xylène
- Diclofénac gel 1%
- Ether de pétrole



**Figure 19** : La propolis algérienne brune



**Figure 20** : La ciclosporine

## 1-4 Equipements

Vortex, Mortier, Balance de précision, Balance de pailleuse, Sonde des rats, Seringues, Micropipettes, Becher, Erlenmeyer, Pipettes pasteurs, Spatule, Tube EDTA, Burette graduée, Ballons, coton, Cages en polyéthylène, Ciseaux, emporte-pièce, marteau, Tambour.

## **II- METHODES**

Notre étude a été réalisée en deux parties:

- ✓ Etude de l'effet immun-stimulateur de la propolis sur chez les rats Wistar.
- ✓ Etude de l'effet anti-inflammatoire de propolis chez les souris BLBC.

### **II-1-Etude de l'effet immun-stimulateur de la propolis chez les rats Wistar :**

L'objectif de cette étude est de vérifier l'activité immunostimulante de la propolis en suspension suite à une induction d'une lymphopénie par la ciclosporine.

#### **II-1-1-Evaluation de la formule de numération sanguine**

L'évaluation de la formule de numération sanguine est faite afin d'avoir le nombre des Lymphocytes, Globules Blancs et les Granulocytes.

##### ➤ Prélèvement sanguin

Le prélèvement se fait après anesthésie par inhalation du diéthyléther. Le sang est prélevé par ponction dans le sinus rétro-orbital à l'aide d'une pipette pasteur héparinée. Un léger mouvement rotatoire de la pipette perforant le sinus permet au sang de remonter par capillarité dans celle-ci. Le sang ainsi prélevé est recueilli dans des tubes à hémolyse EDTA.



**Figure 21** : Le prélèvement par ponction dans le sinus rétro-orbital.



**Figure 22** : Le sang prélevé dans des tubes EDTA

##### ➤ Enumération de la formule de numération sanguine

L'énumération de la formule sanguine a été faite au niveau le laboratoire de l'hôpital ISSAAD HASSANI de BENI-MESSOUS.



### **II-1-2-L'induction de la lymphopénie par la ciclosporine :**

L'administration orale de la ciclosporine à l'aide d'une sonde de gavage des rats a été faite quotidiennement le matin à 8h30-9h00 à une dose de 50mg /1kg/J pour chaque rat pendant huit (09) jours selon le protocole professeur Chader H avec quelque modifications.

### **II-1-3 Prélèvement sanguin et énumération de la formule sanguine pour confirmer l'induction la lymphopénie :**

Un deuxième prélèvement a été effectué pour les dix (10) rattes afin de confirmer l'effet de la ciclosporine et l'induction de la lymphopénie.

### **II-1-5Administration de la suspension de la propolis**

- Préparation de la suspension de la propolis :

La suspension été préparée selon le protocole de professeur Chader H : un 0,5g de propolis été mélangé avec 04 gouttes de Tween en utilisant un mortier et on ajoutant progressivement 1ml d'eau distillé jusqu'à avoir une suspension homogène.

- Gavage de la suspension de la propolis

Après l'induction de la lymphopénie chez les dix (10) rats, on a reparti ces rats en 02 lots:

- ✓ 1<sup>er</sup> lot témoin : ne reçoit aucun traitement.
- ✓ 2<sup>eme</sup> lot traité : reçoit 1ml de la suspension de propolis quotidiennement pendant 15 jours.



**Figure 23:** La suspension de la propolis 0,5g/1ml.



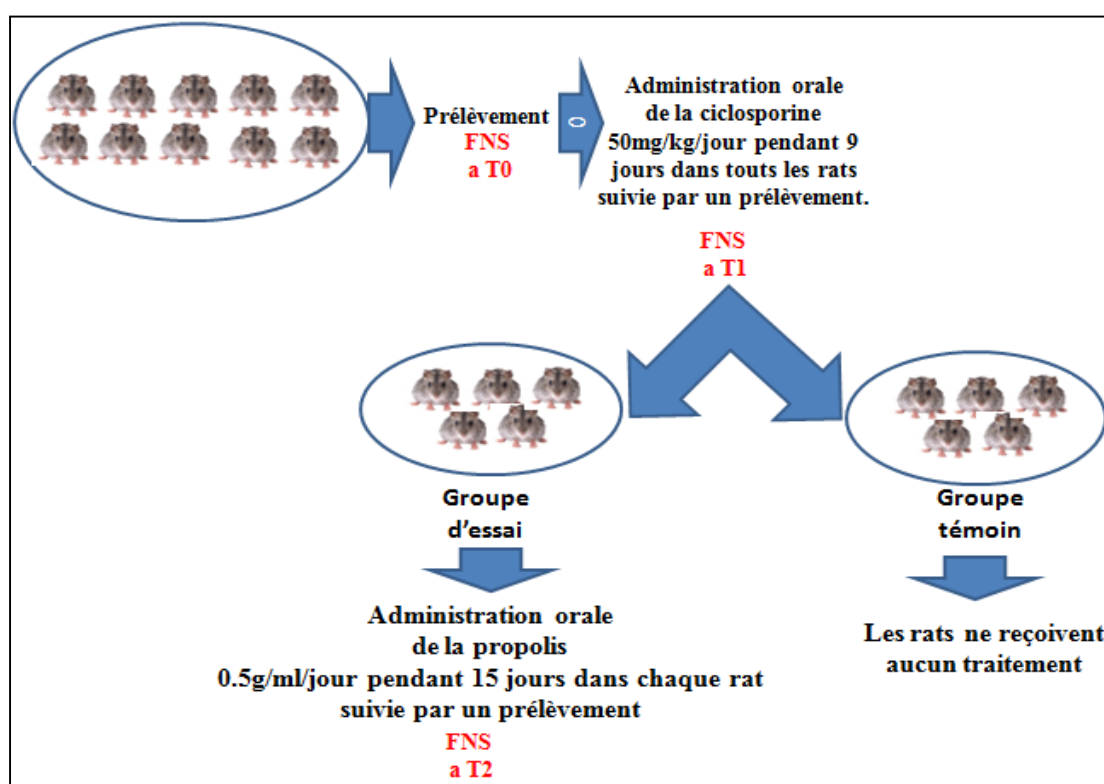
**Figure 24:** Gavage d'un rat.

### II-1-6 Prélèvement sanguin et énumération de la formule sanguine :

Un troisième prélèvement a été faite dans le but de déterminer l'évolution de taux des globules blancs, des lymphocytes et les granulocytes suite à l'administration de la suspension de la propolis.

### II-1-7 Evaluation de poids corporel :

Les rats ont été pesés quotidiennement toute la durée de notre expérimentation à 8h :00 à l'aide d'une Balance de paillasse.



**Figure 25** : le plan de l'étude de l'effet immunostimulante de la propolis

## II-2 -Etude de l'effet anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis :

L'objectif de cette étude est de vérifier l'activité anti-inflammatoires de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis au niveau de l'oreille interne de souris BLBC femelles par application cutanée de l'extrait en préventif puis induction d'un œdème à l'aide d'un irritant cutané : le xylène.

### II-2-1Principe

L'étude de l'activité anti-inflammatoire de l'extraits hydro-alcooliques de la propolis sur le model d'œdème de l'oreille induit par le xylène chez la souris a été réaliser selon le protocole adapté par (Gloaguen et krausz, 2008).

#### ➤ Répartition des lots

04 lots de 10 souris chacun ont été formés, à savoir, un lot témoin négatif, un lot placebo, un lot témoin positif, et un lot traité par l'extrait hydro-alcoolique de la propolis. Les souris de chaque lot ont été pesées puis ont été numérotées de 1 à 10 et localisés dans des cages étiquetées.



**Figure 26:** étape de la pesée puis de la numérotation des souris.

#### ➤ Dilution de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis

L'extrait hydro-alcoolique de la propolis est dilué préalablement à 10% dans de l'huile de tournesol. Ainsi, la concentration finale est de 100µl/ml pour cet extrait.

❖ Au temps T0 :

- **1<sup>er</sup>Lot :** Lot placebo chaque souris reçoit sur la face interne d'oreille gauche 100µl d'huile de tournesol appliquée localement.
- **2<sup>eme</sup>Lot :** témoin négatif où les souris ne reçoivent aucun traitement préventif
- **3<sup>eme</sup>Lot :** Lot d'essai où chaque souris reçoit sur la face interne de l'oreille gauche 100 µl de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis à une concentration de 1%, appliquée localement.
- **4<sup>eme</sup>Lot:** témoins positif où chaque souris reçoit sur la face interne de son oreille gauche 100 µl de Diclofénac pommade 1% appliquée localement.

❖ Au temps T0+01h :

Une heure après, 30 µl de xylène (solvant irritant) ont été appliqués sur la face interne de l'oreille gauche de la souris des lots préalablement traités par le préventif (OT).

Le lot de souris témoin négatif et placebo ont reçu directement 30µl de xylène sur la face interne de l'oreille gauche.



**Figure 27:** diclofénac gel 1% utilisé comme témoin positif



**Figure 28 :** application de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis sur l'oreille gauche (OG)

❖ Au temps T0+04h :

Quatre heures après l'application du xylène, les 5 lots de souris ont été sacrifiés par asphyxie dans de l'éther de pétrole.

Les souris ont été récupérés, leur oreille gauche et droite ont été coupés à l'aide d'un ciseau, ensuite, des disques cutanés ont été formés par un emporte-pièce.



**Figure 29:** Lot de souris dans le bain d'éther de pétrole.



**Figure 30:** disques cutanés obtenus.

Les disques cutanés obtenus ont été pesés à l'aide d'une balance analytique et leur poids notés.

Les résultats sont présentés sous forme de Moyenne  $\pm$  écart type sont effectuées par le test one way ANOVA with tukey post hoc test.

Le poids a été analysé par le test de Fisher (LSD), l'Analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%.

La différence est jugée statistiquement comme :

- Non significative lorsque  $p > 0,05$
- Significative (\*) lorsque  $0,05 > p > 0,02$
- Très significative (\*\*) lorsque  $0,02 > p > 0,01$
- Hautement significative (\*\*\*) lorsque  $0,01 > p$

# CHAPITRE III :

# RESULTATS ET DISCUSSION

## **1- Résultats 01 :**

### **I-1 Etude de l'effet immunostimulante de la propolis:**

Notre étude d'évaluation de l'activité immunostimulante de la propolis suite à une induction d'une leucopénie par la ciclosporine par une dose de 50mg/kg/j pendant 9jours par voie orale est basée sur la comparaison du nombre des globules blancs(GB), les lymphocytes (LYM) et les granulocytes (GRA) avant et après l'administration orale de la suspension de la propolis pendant 15jours a une dose de 0.5g/ml/jour.

Les graphiques ci-dessous comprennent respectivement l'énumération des lymphocytes, globules blancs et les granulocytes de chaque rat dans des temps différents.

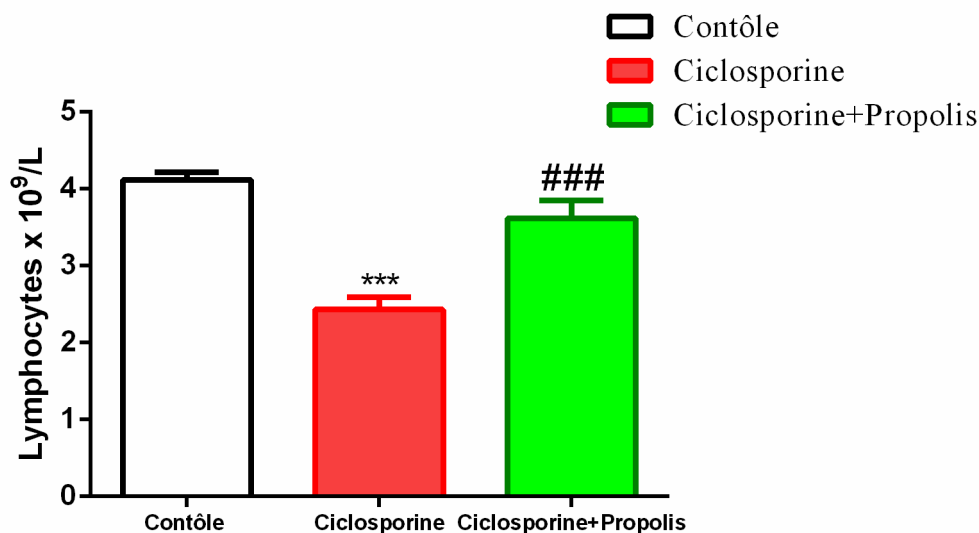
- Le contrôle : représente les taux normaux des cellules (GB), (LYM), (GRA) à T0.
- Ciclosporine : représente les taux des cellules (GB), (LYM), (GRA) après administration de la ciclosporine pendant 9jours (T1).
- Ciclosporine+ Propolis : représente les taux des cellules (GB), (LYM), (GRA) après une leucopénie suivie par une administration orale de la propolis pendant 15 jours (T2).

La variation quotidienne du poids corporel est ainsi mise en évidence.

### **IV-1-1-1 Enumération des cellules LYM, GB et GRA :**

#### **1) Enumération des Lymphocytes ( $10^9/l$ ) :**

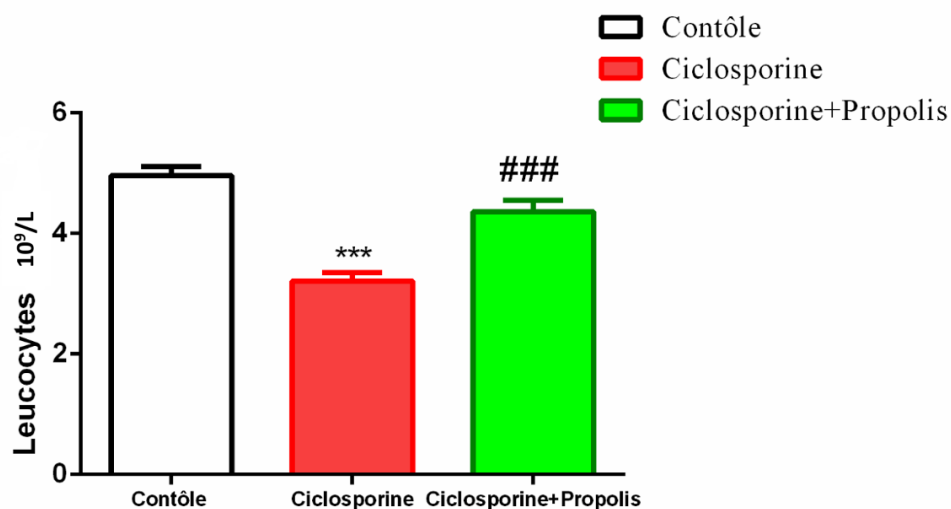
La ciclosporine a induit une diminution hautement significative des taux des lymphocytes avec un pourcentage de 41,01%, cependant la propolis augmente hautement significative les taux des lymphocytes a 48,97%.



**Figure 31** : l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des lymphocytes.  
 \*\*\*P<0.001 vs contrôle, ###P<0.001 vs ciclosporine

## 2) Enumération des Globule blancs: (10<sup>9</sup>/l)

La ciclosporine a induit une diminution significative des taux des lymphocytes avec un pourcentage de 35%, cependant cette diminution a été rétablie par la propolis avec des valeurs comparable au contrôle par une augmentation hautement significative.

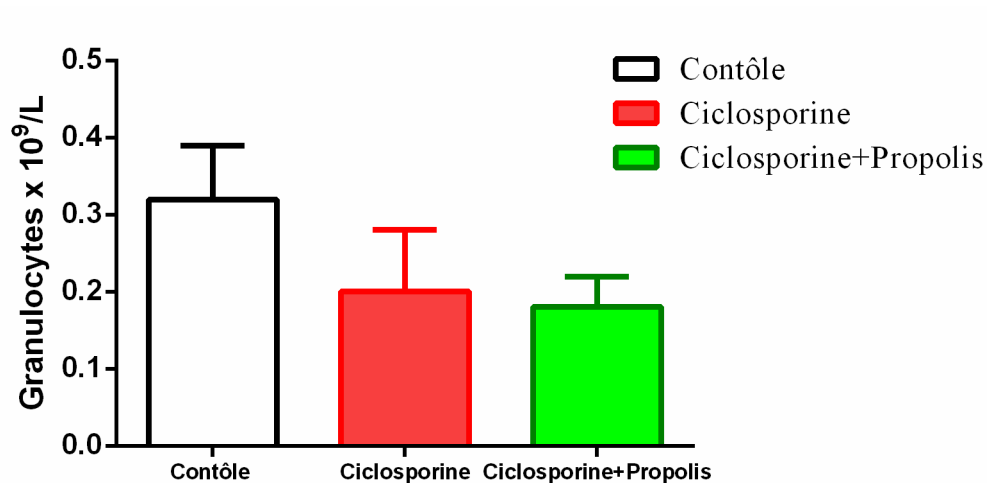


**Figure 32** : l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des globules blancs.  
 \*\*\*P<0.001 vs contrôle, ###P<0.001 vs ciclosporine



### 3) Enumération des Granulocytes ( $10^9/l$ )

La ciclosporine aboutie une diminution des taux des granulocytes de 37,5%, mais l'effet de la propolis n'est pas significatif.



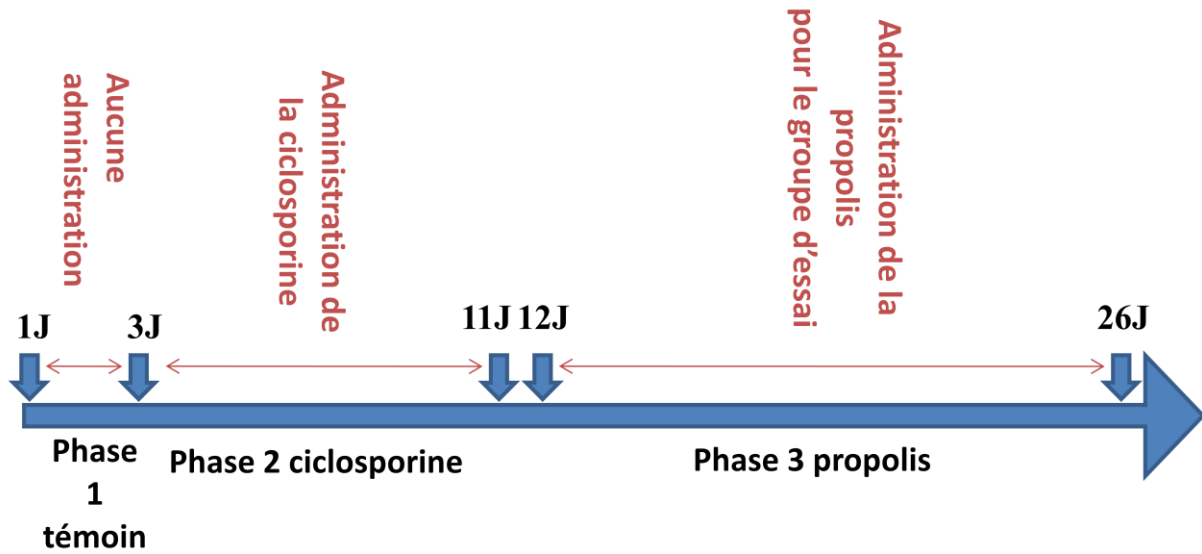
**Figure 33** : l'effet de la ciclosporine et la propolis sur les taux des Granulocytes.  
\*\*\*P<0.001 vs contrôle, ###P<0.001 vs ciclosporine

#### IV-1-1-3 Variation du poids corporel :

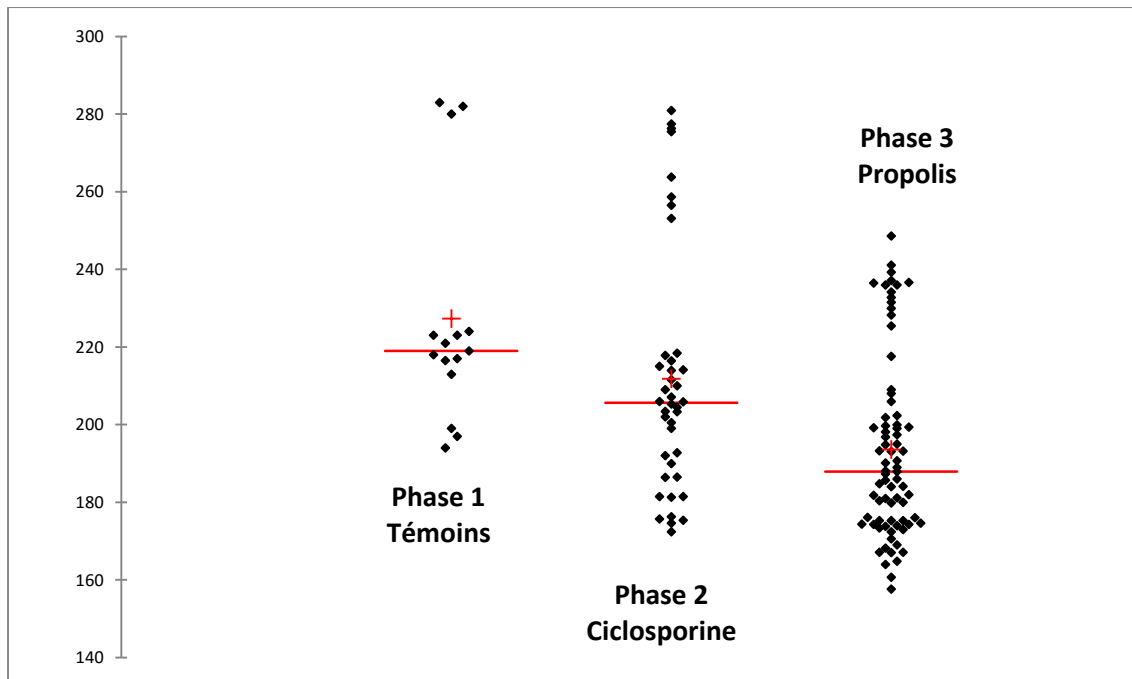
Les rats ont été pesés quotidiennement toute la durée de expérimentation pendant 26 jours,

Le poids varie selon les trois (03) phases : Figure

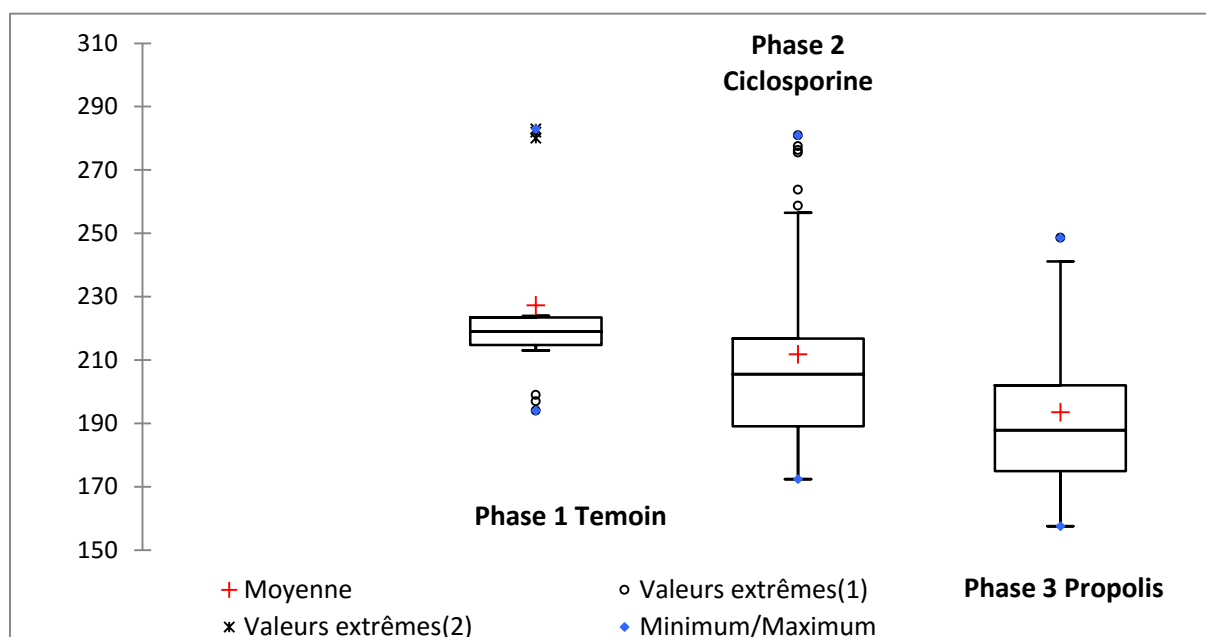
- Phase 1 : témoin (commence du 1<sup>er</sup> jour jusqu'à 3<sup>eme</sup> jour)
- Phase 2 : ciclosporine (commence du 3<sup>eme</sup> jour jusqu'à le 11<sup>eme</sup> jour)
- Phase 3 : Propolis (commence du 12<sup>eme</sup> jour jusqu'à 26<sup>eme</sup> jour)



**Figure 34:** l'ordre chronologique des différentes phases et leurs durée.



**Figure 34 :** graphique de distribution dupoids corporel des rats en gramme pendant les différentes phases. L'analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%



**Figure35** : un graphique des boîtes à moustaches représentent la distribution des valeurs de poids des rats avec leurs médianes, les intervalles interquartiles et les valeurs maximales et minimales de la distribution. L'analyse des différences entre les modalités avec un intervalle de confiance à 95%

On observe toutefois une variabilité heterogene des valeurs du poids des rats dans les différentes phases ainsi une distribution asymétrique de ces valeurs.

On note que la ciclosporine induit une diminution non significatif du poids ( $P > 0,060$ ) par rapport au poids témoin, par contre la propolis a entraîné une chute significative ( $P > 0,001$ ) du poids des rats par rapport le poids le la phase ciclosporine ainsi qu'une chute hautement significative ( $P < 0,0001$ ) du poids des rats de la phase témoin.

## **IV-2-Résultats 02**

### **IV-2-1 L'étude de l'activité anti inflammatoire in vivo :**

L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique par la méthode de l'induction de l'œdème de l'oreille par le xylène chez la souris est basée sur la comparaison de la moyenne de la différence de poids de l'oreille traitée et de l'oreille non traitée.

Les tableaux ci-dessous comprennent respectivement le poids de chaque souris, le poids de l'oreille traitée OT, le poids de l'oreille non traitée ONT ainsi que la différence de poids (OT-ONT).

Le poids moyen de l'œdème de l'oreille a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Le poids moyen de l'œdème} = \left[ \frac{\sum POT - PONT}{N} \right]$$

POT : poids de l'oreille traitée.

PONT : poids de l'oreille non traitée.

N : nombre de souris constituant un lot

**Tableau II:** lot numéro 01: Placebo.

<b>Poids des souris (g)</b>	<b>Poids de l'oreille gauche traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'oreille droite non traitée (mg)</b>	<b>poids de l'œdème (mg)</b>
<b>22.1g</b>	<b>4.2</b>	<b>3.7</b>	<b>0,5</b>
<b>20.2</b>	<b>3.2</b>	<b>4.6</b>	<b>0</b>
<b>22.1</b>	<b>7.1</b>	<b>4.2</b>	<b>2,9</b>
<b>20.6</b>	<b>6.9</b>	<b>4.4</b>	<b>2,5</b>
<b>21.2</b>	<b>5.1</b>	<b>4.3</b>	<b>0,8</b>
<b>21.3</b>	<b>3.8</b>	<b>4.2</b>	<b>0</b>
<b>18.7</b>	<b>4.6</b>	<b>4.4</b>	<b>0,2</b>
<b>21.9</b>	<b>5.8</b>	<b>4.8</b>	<b>1</b>
<b>19.3</b>	<b>5.9</b>	<b>4.6</b>	<b>1,3</b>
<b>20.4</b>	<b>5.9</b>	<b>4.3</b>	<b>1,6</b>
<b>Moyenne</b>	<b>/</b>	<b>/</b>	<b>1.08</b>

**Tableau III:** lot numéro 02: témoin négatif

<b>Poids de la souris (g)</b>	<b>Poids de l'oreille gauche traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'oreille droite non traitée (mg)</b>	<b>poids de l'œdème (mg)</b>
21.4	6.3	4	2.3
18.2	5.3	4	1.3
19.5	3.8	4.4	0
18.2	4.4	4	0.4
20.7	5	4.6	0.4
19.4	5.6	4	1.6
20.3	5.4	4.4	1
18.5	4.5	3.8	0.7
21	6.4	4.4	2
22.1	5.5	3.7	1.8
<b>Moyenne</b>	/	/	<b>1.15</b>

**Tableau IV:** lot numéro 03 : extrait hydro-alcoolique de la propolis.

<b>Poids de la souris (g)</b>	<b>Poids de l'oreille Gauche traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'oreille droite non traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'œdème (mg)</b>
20.5	3,8	4,2	0
18.6	3,6	3,5	0.1
21.3	3,8	4	0
21,4	2,8	3,2	0
18,9	3,8	2,6	1,2
22	3,4	3,6	0
21	3,7	3,8	0
18 ,1	4,6	5	0
20,2	4	3,6	0.4
18,6	4	3,5	0,5
<b>Moyenne</b>	/	/	<b>0.22</b>

**Tableau V : lot numéro 04 : témoin positif**

<b>Poids de la souris (g)</b>	<b>Poids de l'oreille gauche traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'oreille droite non traitée (mg)</b>	<b>Poids de l'œdème (mg)</b>
18.1	3.9	4.3	0
20.1	6.3	4.2	0.4
19.3	6.3	4.8	0.1
19.5	6.3	3.9	0.4
19.5	4.4	4.1	1.8
21.4	4	4.1	0.1
21.5	6.5	4.8	0.5
18.1	7.3	4.8	0.6
19.2	3.9	4.2	0.3
21.2	7	5.1	0.1
<b>Moyenne</b>	/	/	<b>0.43</b>

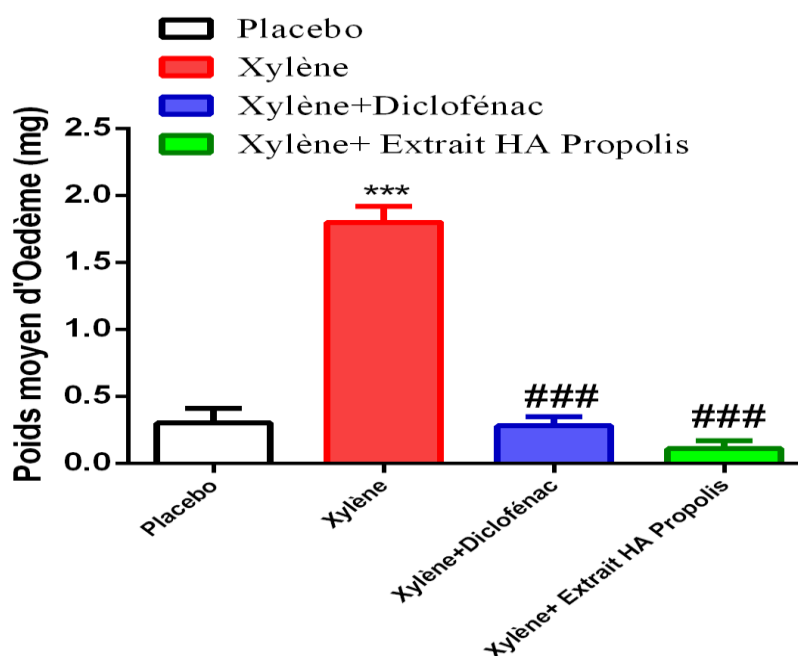
**Tableau VI : Tableau regroupant les PM ainsi que les pourcentages d'inhibition**

<b>Lot :</b>	<b>Poids de l'œdème</b>	<b>% de réduction de l'œdème</b>
<b>Lot01 : placebo</b>	<b>1,08</b>	<b>6,08%</b>
<b>Lot 02 : témoin neg</b>	<b>1,15</b>	<b>0%</b>
<b>Lot 03 : témoin pos</b>	<b>0,43</b>	<b>62,6%</b>
<b>Lot 04 : extrait hydro-alcoolique de la propolis</b>	<b>0,22</b>	<b>80,86%</b>

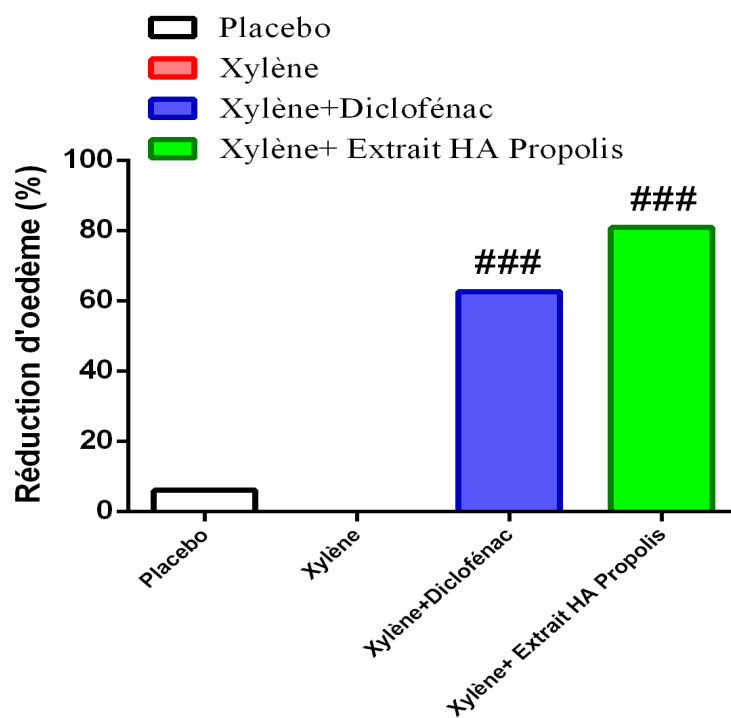
Chez le groupe de souris témoin positif traités par diclofenac à 1%, nous remarquons une diminution hautement significative de l'inflammation ( $P= 0.012$ ) comparé au groupe de souris témoin négatif. L'augmentation du poids de l'œdème quatre heures après l'induction de l'inflammation par le xylène est de 0.43 g (**Figure 37**) ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition de 61.26% (**Figure 38**).

Chez le groupe de souris Placebo traités par l'huile de tournesol, ne nous remarquons aucune diminution significative de l'inflammation ( $P= 0.431$ ) comparé au groupe de souris témoin négatif. L'augmentation du poids de l'œdème quatre heures après l'induction de l'inflammation par le xylène est de 1,08 g (**Figure 37**) ce qui correspond à un pourcentage d'inhibition de 6,08% seulement. (**Figure 38**)

Concernant le lot traités par 100µl/ml de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis algérienne a induit une diminution hautement significative de l'inflammation ( $P= 0.002$ ) par rapport au lot témoin négatif. Ce qui correspond à une augmentation du poids de l'œdème à seulement 0,22g (**Figure 37**) avec un pourcentage d'inhibition de 80,86% (**Figure 38**).



**Figure 37** : histogramme représentant le poids de l'œdème quatre heures après application du préventif - à savoir- l'extraits hydro-alcoolique et diclofenac 1% ainsi que le poids de l'œdème du témoin négatif.



**Figure 38** : histogramme représentant le pourcentage d'inhibition de l'œdème induit par le xylène. La comparaison est faite par rapport au diclofénac CLOGEL® gel 1% comme témoin positif et le témoin négatif.



## **III-2 Discussion**

### **III-2-1 Etude de l'effet de propolis sur la Formule de Numération Sanguin et le poids :**

#### **III-2-1-1 Evaluation de la formule numérique sanguine :**

##### **a- Induction de l'immunodéficience par la ciclosporine**

Nos résultats en faveur d'une lymphopénie, caractérisés par une diminution hautement significative des globules blancs ( $P=0.000006$ ) et surtout des lymphocytes ( $P=0.002$ ) chez tous les rats suite à l'administration orale de la ciclosporine à une dose de 50mg/kg/j durant 08 jours, sont similaires à ceux **Kawaiet al.(2005)** qui ont démontré que la CsA stimule le développement des Treg à de faibles doses (10 mg/kg/j), alors que leur développement est inhibé avec de fortes doses (50 mg/kg/j).

Par ailleurs, la CsA a un effet prouvé sur la production l'IL-2, avec un maximum d'inhibition pour de fortes concentrations de CsA. D'un autre côté, il a également été démontré que la différenciation des Treg faisait intervenir des mécanismes dépendants de l'IL-2 et de son interaction avec ses récepteurs (IL-2R $\alpha$  et IL-2R $\beta$ ). L'IL-2 et ses récepteurs jouent donc un rôle essentiel dans la biologie des Treg (**Philippe, 2016**).

La régression pondérale non significative ( $P=0.12$ ) (chute de poids) observée chez tous les rats traités par la ciclosporine peut être considérée comme un signe de toxicité de cette dernière. Cependant, la ciclosporine est connue par son effet immunosuppresseur qui affaiblit l'organisme en le rendant vulnérable aux affections les plus divers.

#### **III-2-2 Effets de la propolis**

Les rats traités par la propolis pendant 15jours juste après le traitement par la CSA ont montré une augmentation très significative ( $P=0.002$ ) des populations effondrées de globules blancs .Ceci est dû probablement à l'effet stimulateur de la propolis sur le système immunitaire. En effet une étude in vitro réalisée par **Orsolíćet Basićen 2003** a mis en évidence les effets immunomodulateurs de la propolis sur les macrophages tandis qu'elle augmente le rapport des lymphocytes TCD4+/CD8+ chez les souris. Une autres étude de **Tao, et ces collaborateurs 2014** a montré que la propolis pourrait induire des concentrations plus élevées de nombreux types de cellules immunitaire et diverses cytokines immunomodulatrices (l'interférent gamma INF- $\gamma$  ), d'interleukines-6 (IL6) et interleukines-1(IL-1 $\beta$ ) qui maintien l'homéostasie. La mort de toutes les rattes traitées par la ciclosporine mais ne recevant pas de

propolis évoque un état d'une lymphopénie létale la propolis a corrigé dans l'autre groupe de rat. Ce résultat est en faveur d'un éventuel effet correcteur par la propolis de la lymphopénie induite par la ciclosporine. Bien que l'état général des animaux traités par la propolis était des plus normaux, tout de même une chute de poids a été observée aux derniers jours du traitement, ceci peut être attribué à l'un des composants de la propolis à savoir le phényléthylique de l'acide caféique (CAPE) dont le mécanisme d'action, basé sur l'inhibition de la formation de cellules graisseuses à un stade précoce, a été démontré en 2014 par **Seungetal.** en travaillant sur des souris soumises à un régime de graisse.

#### **IV-3-1 L'étude de l'activité anti inflammatoire in vivo :**

##### **Discussion**

L'effet de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis sur l'inflammation aiguë a été évalué par le modèle de l'œdème de l'oreille induit par le xylène chez les souris. Le modèle de l'oreille induit par le xylène est un modèle expérimental reproductible, il présente une bonne valeur prédictive pour le criblage des agents anti-inflammatoires à usage topique (**Zhang Y et al. 2015**).

Les résultats de la présente étude démontrent que l'extrait hydro-alcoolique de la propolis doté d'une activité anti-inflammatoire remarquable, avec un pouvoir d'inhibition de l'inflammation supérieur au diclofénac à 1%, tandis que l'huile de tournesol n'a aucun d'effet. Plusieurs études menées sur le même extrait, notamment l'étude réalisée par **Parandin et Daroogari en 2019** confirme les résultats de la présente étude.

Au cours du suivi des différents lots utilisés dans cette expérience, et après l'injection du xylène au niveau de l'oreille gauche des souris, on a noté une augmentation du poids de l'oreille chez tous les lots. Cependant, cette augmentation du volume chez le groupe témoin (contrôle) a été plus importante que les groupes traités. Ce qui prouve bien que le xylène comme agent irritant a induit une accumulation de liquide conduisant à la formation d'un œdème qui est caractéristique de l'inflammation aiguë. Le traitement soit à base de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis ou par l'anti-inflammatoire déclofinac 1% a diminué cet œdème.

L'application topique de xylène induit une réaction inflammatoire aiguë caractérisée par une vasodilatation, infiltration des leucocytes polynucléaires dans les tissus et la formation de l'œdème et favorise également une augmentation de l'activité de la phospholipase A2 (PLA2). (**Dongmo et al., 2020**).

La PLA2 catalyse l'hydrolyse des phospholipides membranaires en acide arachidonique, ce dernier est impliqué dans la synthèse des prostaglandines et leucotriènes, ce qui constitue la première étape dans la réaction inflammatoire. Également, le mécanisme moléculaire et cellulaire par lequel le xylène induit l'inflammation met en jeu les neurones sensoriels sensibles à la capsaïcine qui suite à une stimulation, libèrent un nombre de médiateurs qui peuvent initier la réaction inflammatoire (**Rotelli et al., 2003**).

Ce phénomène est connu sous le nom de l'inflammation neurogénique. La substance P et le peptide lié au gène de la calcitonine sont les principaux initiateurs de l'inflammation neurogénique. Ils induisent une vasodilatation et une exsudation plasmatique en agissant sur les muscles lisses des vaisseaux sanguins et les cellules endothéliales (**Rotelli et al., 2003**), comme ils peuvent activer directement les mastocytes et les autres cellules immunitaires. Il est également admis que les neurones sensoriels contiennent des cyclo-oxygénase capables de synthétiser les prostaglandines pro-inflammatoires (**Karbab et al., 2020**).

Le diclofénac, anti-inflammatoire non stéroïdien, a été aussi testé dans l'étude et a démontré son potentiel anti-inflammatoire. Ce médicament possède des propriétés analgésique, antipyrétique et anti-inflammatoire. Cette dernière est liée à son inhibition de la synthèse de prostaglandines et de thromboxane, en inhibant l'action des deux isoformes de l'enzyme membranaire cyclo-oxygénase (COX-1 et COX-2), provoquant ainsi l'altération de la fonction des plaquettes, en inhibant leur agrégation (**Nugrahani et al., 2019**).

Nos résultats nous feraient penser que l'extrait hydro-alcoolique de la propolis a pu jouer un rôle crucial dans la baisse du poids de l'œdème, par l'élévation du pourcentage d'inhibition et l'atténuation des symptômes et signes inflammatoires et doté d'une activité anti-inflammatoire remarquable, avec un pouvoir d'inhibition de l'inflammation supérieur au diclofénac à 1%.

Plusieurs études menées sur le même extrait, notamment l'étude réalisée par **Parandin et Daroogari.S** en 2019 confirme les résultats de la présente étude.

Il a été largement démontré que les flavonoïdes empêchent la production de prostaglandines, d'acide arachidonique, d'histamine, etc., qui participent à l'inflammation et à la douleur. Les principaux constituants de la propolis, les flavonoïdes, ont généralement participé aux processus pharmacologiques de la propolis (**Parandin et Daroogari, 2019**).

L'activité anti-inflammatoire de l'extrait hydro-alcoolique de la propolis pourrait être attribuée aux composés phénoliques (polyphénols) ainsi qu'aux flavonoïdes présents en quantité remarquable. Plusieurs études ont été menées dans ce sens (**Parandin et Daroogari,**

2019) et (Dongmo, et *al.*, 2020) ont rapporté que l'ester éthylique d'acide arachique et Ester phényléthylique d'acide caféique possédant le plus fort effet inhibiteur sur l'activité des cyclo-oxygénases COX- 1 et COX-2, évalué par la production de prostaglandines pro-inflammatoires (Falcao et *al.*, 2013).

CONCLUSION  
ET  
PERSPECTIVES

Grace à sa richesse en flavonoïdes la propolis algérienne possède un pouvoir pharmacologique puissant, dont les indications thérapeutiques sont nombreuses. L'activité immunostimulante de la propolis algérienne ainsi de son activité anti-inflammatoire a été évaluée.

La connaissance des mécanismes d'action de la propolis sur le système immunitaire a été progressée ces dernières années. *In vitro* et *in vivo*. Les essais ont démontré que la propolis stimule le pouvoir de présentation des macrophages et augmentée leur activité microbicide, elle rehausse ainsi la coopération entre les lymphocytes et stimule la production d'anticorps. Cependant, les effets inhibiteurs de la propolis sur la lympho-prolifération est associés à sa propriété anti-inflammatoire qui lui permet de diminuée les taux des prostaglandines et les leucotrienes et augmente en parallèle les cytokines anti-inflammatoires.

Bien que les articles connexes fournissent de nouvelles informations postulées des hypothèses et des explications, les mécanismes d'action de la propolis ne sont pas complètement élucidés, et une enquête plus approfondie contribuera à une meilleure compréhension de ses effets sur le système immunitaire.

# REFERENCES

# BIBLIOGRAPHIQUES

**Abbas, AK. et Lichtman, AH. (2013).** Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Hong-Kong. Elsevier Masson. 283p.

**Abbas, AK. et Lichtman, AH. (2009).** Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. 3ed. Elsevier Masson ed. Issy-Les-Moulineaux. 300 p.

**Abul, K; Abbas, Lichtman ; Andrew, H. et Pillai. (2013).** Shiv. Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Édité par Nathalie Humblot.

**Abul, K ; Abbas ; Andrew, H. et Lichtman. (2009).** Les bases de l'immunologie fondamentale et clinique. Traduction de la 3e édition anglaise Pr Pierre L. Masson Hong - Kong. Elsevier Masson. 240 p

**Alan, C; Indu, B; Jaganath; Michael, N. et Clifford. (2009).** Dietary phenolics: chemistry. Bioavailability and effects on health, Nat. Prod. Rep, 26, 1001–1043.

**Alok, K-V. et Ram, P. (2010).** The biological potential of flavones. Natural Product Reports, 27, 1571–1593 -1571.

**Amresh G, Reddy GD, Rao Ch V, Singh PN (2007).** Evaluation of anti-inflammatory activity of Cissampelospareira root in rats. J Ethnopharmacol; 110(3):526–31

**Andresa, A.B ; Marcelo, A.D.S ; José, M.C. et Capcha, D.J. (2020).** Propolis and its potential against SARS-CoV-2 infection mechanisms and COVID-19 disease: Running title: Propolis against SARS-CoV-2 infection and COVID-19. Elsevier. [Vol 131, 110622.](#)

**Avci CB., Gündüz C., Baran Y., Sahin F., Yilmaz S., Dogan ZO., et al. (2011):** Caffeic acid phenethyl ester triggers apoptosis through induction of loss of mitochondrial membrane potential in CCRF-CEM cells. J. Cancer Res. Clin. Oncol; 137(1):41-47.

**Awika, J-M. et Rooney, L-W. (2004).** Sorghum photochemicals and their potential aspects on human health. J. Agric. Food. Chem, 52: 4388.



## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Bagby , GC.(2003).** Genetic basis of Fanconi anemia. *Curr Opin Hematol.* janv 2003;10(1):68-76.

**Bachelet, B. (2013).** «Thèse : Impact de la phytothérapie sur le système immunitaire [En ligne].» École nationale vétérinaire d'Alfort. 28 11 2013. Consulté le 02 24, 2015, sur <http://theses.vetalfort.fr/telecharger.php?id=1589>.

**Banskota AH., Nagaoka T., Sumioka LY. (2002):** Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *Journal Ethnopharmacologie*, 80: 67-73

**Bankova, V.(2005).** Recent Trends and Important Developments in Propolis Research. *Evidence Based Complementary and Alternative Medicine.* 2, 29–32.

**Bankova, V; DeCastro, SL. et Marcucci, MC. (2008).** Propolis: récent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3 – 15.

**Blanc, M. (2010).** Propriétés et usage médical des produits de la ruche. Thèse de doctorat, Médecine et de Pharmacie, université de limoges, 144.

**Bellebcire, Laila.( 2008).** Etude des composés phénoliques en tant que marqueurs de biodiversité chez les céréales. thème de magister, Biodiversité et production végétale, université mentouri de constantine, 119.

**Bergereau, Emilie. (2010).** «Thèse : Rôle des LT-CD8+ dans l'auto-immunité du SNC : influence des autre effecteurs de l'immunité adaptative.» Édité par L'Université Paul Sabatier – Toulouse III. 22septembre 2010. Consulté le 02 20, 2015, sur [http://thesesups.upstlse.fr/1108/1/Bergereau\\_Emilie.pdf](http://thesesups.upstlse.fr/1108/1/Bergereau_Emilie.pdf).

**Borrelli F., Maffia P., Pinto L., Lanaro A., Russo A., Capasso F., Et al. (2002):** Phytochemical compounds involved in the anti –inflammatory effect of propolis extract. *Fitoterapia*; 73(1):53-63.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Bonvehí J, Gut iérrez A. (2011):** Antioxydant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists Society*, 88, 1387–1395.

**Bourillon, A ; Carbanis, E ; Chapuis, Y ; Christoforov, B ; Friedman, R. et Gentilini, M. (2013).** Larousse médical. Paris. Larousse (ed) ; 1113p.

**Castaldo, S. et Capasso, F. (2002).** Propolis, an Old Remedy Used in Modern Medicine. *Fitoterapia*, 73, Supplement 1, S1–S6.

**Chapel, H ; Haeney, M ; Misbah, S. et Snowden, N. (2004).** *Immunologie clinique*. De Boeck, Bruxelles, 358 p.

**Chatenoud, L. et Bach, JF. (2012).** *Immunologie* 6<sup>ème</sup> édition. Paris. Lavoisier; 469p.

**Cottica, SM; Sawaya, AC; Eberlin, MN; Franco, SL; Zeoula, LM. et Visentainer, J. (2015).** Antioxidant activity and composition of propolis obtained by different methods of extraction. *Journal of Brazilian Chemical Society*, 22(5): 929–935.

**Debab, M ; Toumi-Benali, F. et Dif, MM. (2017).** Antioxidant activity of propolis of Oued Algerian, *Phytothérapie*, 15, 230-234.

**Donadieu, Y. (2008).** *la propolis*. Paris. Dangles (ed) ; 96p.

**Eng-Chong, T., et al (2012),** *Boesenbergia rotunda: From Ethnomedicine to Drug Discovery*. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine.

**Dongmo S, Talla E, Sakava P, Archange F, Henoumont C, Sophie L, Tanyi Mbafor J and Fohouo T (2020).** Anti-Inflammatory and Analgesic Effect of Arachic Acid Ethyl Ester Isolated from Propolis, *Biomed Res* 2020: 8797284.

**Falcao S I, Vale N, Cos P, Gomes P, Freire C, Maes L, Vilas Boas M. (2013):** In Vitro Evaluation of Portuguese Propolis and Floral Sources for Antiprotozoal, Antibacterial and Antifungal Activity. *Phytotherapy Research*, 28 (3), 437-443.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Ferhoum, Fatiha. (2010).** Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeille locales (*Apis mellificaintermissa* et *Apis mellificasahariensis*). Thèse de magister, Technologie Alimentaire, université d'Hamed bougaraBoumerdès, 174.

**Frédéric, Mazue. (2011).** Effets des polyphénols de vin rouge sur la prolifération cellulaire et sur le métabolisme du resvératrol. thèse de doctorat, Biochimie, Biologie Cellulaire et Moléculaire, université de Bourgogne, 191.

**Gardana, C. et Simonetti, P. (2011).** Evaluation of Allergens in Propolis by Ultra-Performance Liquid Chromatography tandem Mass Spectrometry. *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, 25, 1675–1682.

**Ghedira, K ; Goetz, P. et Le Jeune, R. (2013).** Propolis. *Phytothérapie* 7: 100-105..

**Gregoris, E., Stevanato, R (2010).** Correlation between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food and Chemical Toxicology* 48, 76-82.

**Guignard, J-L. (2000).** *Biochimie végétal*, 2ème édition, Dunod, 188.

**Hadj Salem, Jamila (2009).** Extraction, identification, caractérisation des activités biologiques de flavonoïdes de *Nitrariaretusa* et synthèse de dérivés acylés de ces molécules par voie enzymatique. Autre. Institut National Polytechnique de Lorraine.

**Hamasaka, T., et al (2004),** *Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Japan.* *Food Science and Technology Research*, 10(1): p. 86-92.

**Hausen, B M; Wollenweber, E; Senff, H. et Post, B. (2006).** Propolis allergy II. The sensitizing properties of 1, 1-dimethylallyl caffeic acid ester. *Contact Dermatitis*, 17, 171-177.

**Heard, Barbara. (2013).** the lymphatic system and lymphoid organs and tissues.

**Huleihel M., & Ishano V. (2004):** Effect of propolis extract on malignant cell transformation by moloney murine sarcoma virus. Arch. Virol; 146(8):1517-1526.

**Jasprica, I; Mornar, A; Debeljak, Ž; Smolčić- Bubalo, A; Medić-Šarić, M; Mayer, L; Romić, Ž; Bućan, K; Balog, T; Sobočanec, S. et Šverko.(2007).** In Vivo Study of Propolis Supplementation Effects on Antioxidative Status and Red Blood Cells. Journal of Ethnopharmacology , 110, 548–554.

**Kanoun, Khadidja. (2011).** Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L. universite Aboubekr Belkaid Tlemcen, 118.

**Karbab A, Mokhnache K, Ouhida S, Charef N, Djabi F, Arrar L, et al (2020).** Anti-inflammatory, analgesic activity, and toxicity of Pituranthos scoparius stem extract: An ethnopharmacological study in rat and mouse models. J Ethnopharmacol. 258:112936.

**Kasiotis, KM ; Anastasiadou, P ; Papadopoulos, A. et Machera, K. (2017).** Revisiting Greek Propolis : Chromatographic Analysis and Antioxidant Activity Study, Journal Plos One, 12(1):1-27

**Kebieche, Mohammed. (2009).** Activité biochimique des extraits flavonoïdiques de la plante ranunculus repens L : effet sur le diabète expérimental et l'hépatotoxicité induite par l'Epirubicine. thèse de doctorat, biochimie, université Mentouri de Constantine, 143.

**Khalil, M L. (2006).** Biological activity of bee propolis in health and disease. Asian Pacific Journal of Cancer Prevention, 7 (1), 22-31.

**Khayyal Mt., El-Ghazaly MA., El-Khatib AS., Hatem AM., de Vries PJ., el-Shafei S., El al. (2003):** A clinical pharmacological study of the potential beneficial effects of a propolis food product as an adjuvant in asthmatic patients. Fundam. Clin. Pharmacology ; 17(1):93-102.

**Kindt ,T J ; Glodby, R A. et Osborne, B A. (2007).** Immunologie. Le cours de Janis Kuby avec questions de révision. Paris. Dunod (ed); 684p.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Kurek-Gorecka, A; Rzepecka-Stojko, A; Gorecki, M; Stojko, J; Sosada, M. et Swierczek-Zieba, G. (2014).** Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules*, 19 (1), 78-101.

**Laurence, Guglielmi (2015).** «Les cytokines et leurs récepteurs.» Université de Montpellier 1. s.d. Consulté le 0321, 2015, sur [http://www.med.univmontp1.fr/enseignement/masters\\_LMD/M1/Immunopathologie/Cytokines.pdf](http://www.med.univmontp1.fr/enseignement/masters_LMD/M1/Immunopathologie/Cytokines.pdf).

**Lemos.L et al (2020).** Antiviral activity of red propolis in Herpeviruses that causes peribuccal and intraoral lesions. *Elsevier Vol 130, 3, P e259-e260*

**Loïc, Lenoir. (2011).** Effet protecteur des polyphénols de la verveine odorante dans un modèle d'inflammation colique chez le rat. thèse de doctorat, Nutrition, Université Blaise Pascal, 290.

**Lydyard, P ; Whelan, A. et Fanger, M. (2002).** L'essentiel en immunologie. Paris. Berti (ed); 384p.

**Macheix, J J; Fleuriet, A. et Jay-Allemand, C. (2005).** Les composés phénoliques des végétaux : Un exemple de métabolites secondaires d'importance économique. 1ere Edition, Presses Polytechniques et Universitaires Romandes, Lausanne. Bio ed. 54-65.

**Male, D ; Brostoff, J ; Roth, DB. et Roitt I. (2007).** Immunologie. 7e ed. Elsevier Masson ed., Issy-Les-Moulineaux, 603 p.

**Male, David. (2005).** Immunologie aide-mémoire. England. De boek.; 141p.

**Male, David. (2004).** Immunologie: Aide-mémoire illustré. 2004.

**Marcucci, M C. (2000).** Propolis: Chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83-99.

## **REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES**

**Marjolaine, Milette (2016).**Évaluation des propriétés antiprolifératives de la tectochrysin et de la pinocembrine par des mécanismes dépendants du récepteur aux hydrocarbures aromatiques (AhR) dans les cellules mammaires cancéreuses humaines, M.Sc.Université du Québec.

**Marion, Amigou. (2016).**Les résidus de médicaments vétérinaires et des pesticides dans les produits apicoles. (Miel, Pollen, Gelée Royale et Propolis),page :40.

**MASMOUDI, Hatem. (2015).**Cours d'Immunologie Fondamentale. 2015. Consulté le 03 08, 2015, sur <https://sites.google.com/site/drhatemasmoudi/home>.

**McCusker .et Warrington. (2011).** Primary Immunodeficiency, Allergy, Asthma & Clinical Immunology.:7(supp 1):S11

**Miroslav, Ferencik et al.(2004).**Dictionnaire d'immunologie. Édité par Gregg Colin. 2004. ISBN : 2-84299-495-7.

**Milane, Hadi. (2004).** La quercétine et ses dérivés: molécules à caractère pro-oxydant ou capteurs de radicaux libres; études et applications thérapeutiques. thèse de doctorat, Pharmacochimie, université Louis Pasteur Strasbourg I, 268.

**Min-Hsiung, P; Ching-Shu, L. et Chi-Tang, H. (2010).**Anti-inflammatory activity of natural dietary flavanoïdes, Food Funct, 1, 15–31 | 15.

**MiraziN, Hosseini A (2013).** Evaluation of antinociceptive activity of berberis vulgaris l. Fruit's hydroethanolic extract in male mice. Iran J PharmSci. ;9(14):15–22.

**Moudir, Naima. (2004).** les polyphenols de la propolis algérienne. Thèse de magister, Chimie Organique, Université Mohamed Boudiaf, 101.

**Nader El Housseini (2013).**Intérêts et applications cliniques de la propolis en médecine buccodentaire. Université de Mantes.2013.page :21.

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Nader, El Housseini. (2013):** interet et application cliniques de la propolis en médecine bucco-dentaire. Université de NANTES. Page : 21.

**Naili ,Warida. (2017).** Effet d'un complément alimentaire sur le système immunitaire. Mémoire de master, Sciences Biologiques, Université 8 Mai 1945 Guelma, 105.

**Nkhili, Ez-zohra. (2009).** Polyphénols de l'Alimentation : Extraction, Interactions avec les ions du Fer et du Cuivre, Oxydation et Pouvoir antioxydant. thèse de doctorat, Sciences des Aliments, université Cadi Ayyad Marrakech, 378.

**Notarangelo, LD ; Fischer, A ; Geha, RS, et al. (2010).** International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies. J Allergy Clin Immunol. 125 (3) :771773.

**Nugrahani I, Utami D ,Nugraha Y P, Uekusa H ,Hasianna R ,DarusmanA (2019)** .Cocrystal construction between the ethyl ester with parent drug of diclofenac: stability stability, and anti-inflammatory study.[heliyon.e02946](https://doi.org/10.21961/heliyon.e02946)

**Orsatti Cl., Missima F., Pagliarone Ac., Sforcin JM. (2010):** Th1/Th2 cytokines expression and production by propolis-treated mice. J. Ethnopharmacology; 129(3):314-318.

**Orsolić N, Basić I ( 2003).** Immunomodulation by water-soluble derivative of propolis: A factor of antitumor reactivity. J Ethnopharmacol.84:265–73.

**Orsi R.O., Soares A.M.V.C., Calvi S.A., Funari S.R.C., Oliveira S.L., Sforcin J.M., El al. (2000):** Immunomodulatory action of propolis on macrophage activation .Venom. Anim. Toxins; 6(2):205-219.

**Owen Judy, A ; Punt, Jenni. et Stranford, Sharon, A. (2014).** Immunologie : le cours de Janis Kuby : 7<sup>ème</sup> édition. Paris. DUNOD (ed) ; 800p.

**Parandin R, Daroogari S (2019).** anti-Inflammatory and Antinociceptive Activities of the Ethanolic Extract of Propolis in Male Mice and Rats .Zahedan Journal of Research in Medical Sciences. In Press. e84150.

**Parham, Peter. (2003)**, The immune system. Paris, Bruxelles. De Boeck (ed) ; 407p.

**Pierre, J-P ; Yeves, L-C. (2005)**. Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher. Edition lavoisier.

**Popolo A., Piccinelli Al., Morello S., Sorrentino R., Osmany CR., Et al. (2011)**: Cytotoxic activity of nemorosone in human MCF-7 breast cancer cells. Can. J. Physiol. Pharmacol; 89(1) :50-57.

**Rossi, A.; Ligresti, A.; Longo, R.; Russo, A.; Borrelli, F.; Sautebin, L (2002)**. The Inhibitory Effect of Propolis and Caffeic Acid Phenethyl Ester on Cyclooxygenase Activity in J774 Macrophages. Phytomedicine 9, 530–535.

**Rotelli E A, Guardia T, Juarez A O. (2003)**. Comparative study of flavonoids in experimental models of inflammation. Pharmacological Research 48 (6): 601–606.

**Sagols, Emmanuelle. et Priymenko, Nathalie. (2010)**. Le fonctionnement de coeur : intérêt des acides gras essentiels et des antioxydants chez les carnivores domestiques, revue de médecine vétérinaire, 161 (2): 90-96.

**Salatino, A; Teixeira E W; Negri, G. et Message, D. (2015)**. Origin and chemical variation of Brazilian propolis. Evidence- based Complement Altern Med.; 2(1):33–8.

**Sauvager F., Amoros M., Simoes C M., Girre L., Cormier M. (2014)**: Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. Journal of natural Products; 55 :1732–1740.

**Savka, M; Dailey, L; Popova, M; Mihaylova, R; Merritt, B; Masek, M; Le, P; Nor, S; Ahmad, M; Hudson, H. et Bankova, V. (2015)**. Chemical Composition and Disruption of Quorum Sensing Signaling in Geographically Diverse United States Propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Volume 2015, Article ID 472593, 10pages.



**Segueni, N. (2011).** Contribution à l'étude de la composition chimique et des Propriétés biologiques de la propolis. Thèse doctorale, Université Mentouri, Constantine.

**Séverine, Boisard.(2014).** Caractérisation chimique et valorisation biologique d'extraits de propolis. Sciences pharmaceutiques, Thèse de doctorat. Université d'Angers, p32.

**Seung H S., Sang G S., Soyun M., Hee Y., Eunjung L., Joe E S., *Et al.* (2014):** Caffeic Acid Phenethyl Ester, a Major Component of Propolis, Suppresses High Fat Diet-Induced Obesity through Inhibiting Adipogenesis at the Mitotic Clonal Expansion. Korea. J. Agric. Food Chem.; 62 (19):4306–4312.

**Shinmei Y., Yano H., Kagawa Y., Izawa K., Akagi M. Inoue T., *Et al.* (2009):** Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. Immunopharmacologyimmunotoxicology; 31(4):688-693.

**Sforcin JM. (2007):** Propolis and the immune system. Journal of ethno pharmacology, 113:1-14.

**Socié, G ; Ferry, C ; Robin, M.et Mary, J-Y.( 2005 ).**Aplasies médullaires acquises. EMC - Hématologie. 113-31.

**Spulber, R; Colta, T; Băbeanu; N. et Popa, O.(2017).** Chemical diversity of polyphenols from bee pollen and propolis, Agrolife scientific journal, 6, 2, 183-194.

**Tao Y, Wang D, Hu Y, Huang Y, Yu Y, Wang D, et al (2014).** The immunological enhancement activity of propolis flavonoids liposome in vitro and in vivo. EvidBasedComplement Alternat Med2014:483513.

VIDAL. «NEORAL 10 mg caps molle», 28 Août 2020 [En ligne] <https://www.vidal.fr/Medicament/neoral-11602-surdosage.htm> (consulté le 10 Septembre 2020)

## REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

**Weng Ms., Liao Ch., Chen Cn., Wu Cl., Lin Jk. (2007):** Propolin H from Taiwanese propolis induces G1 arrest in human lung carcinoma cells. *J. Agric. Food Chem*; 55 (13) : 5289-5298.

**Zhang Y, Shu Z, Yin L, Ma L, Wang X, Fu X.(2015).**Anti-inflammatory and antinociceptive activities of non-alkaloids fractions from *Aconitum flavum* *in vivo*. *Rev Bras Farmacogn.*;25(1):47–52.

**Zhang Y, Shu Z, Yin L, Ma L, Wang X, Fu X.(2015).**Anti-inflammatory and antinociceptive activities of non-alkaloids fractions from *Aconitum flavum* *in vivo*. *Rev Bras Farmacogn.*;25(1):47–52.

**Szliszka E., Zenon PC., Czuba, MD., Bodgan M., Grzegorz Z., Wojciech K. (2009):** Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells molecules; 14(2) :738-754.

**Zhang Y, Shu Z, Yin L, Ma L, Wang X, Fu X.(2015).**Anti-inflammatory and antinociceptive activities of non-alkaloids fractions from *Aconitum flavum* *in vivo*. *Rev Bras Farmacogn.*;25(1):47–52.