

REPUBLIQUE ALGERIENNE DEMOCRATIQUE ET POPULAIRE
MINISTERE DE L'ENSEIGNEMENT SUPERIEUR ET DE LA RECHERCHE
SCIENTIFIQUE

UNIVERSITE SAAD DAHLAB - BLIDA -1-



Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

Département : Science Alimentaire

Spécialité : Nutrition et Diététique Humaine

Mémoire de fin d'études

En vue de l'obtention du diplôme de Master 2

Thème

Caractérisation physico-chimique et biologique de la propolis
locale

Présenté par :

- **Belaid Amina**
- **Benarous Fatma**

Devant le jury :

Nom	Grade/ Lieu	Qualité
Mme BOULKOUR S .	MCA/USDB1	Présidente
Mme BENMANSOUR N .	MCA/USDB1	Examinatrice
Mme BOUDJEMA N .	MCA/USDB1	Promotrice

Année universitaire : 2021-2022

Remerciement

On tient avant tout à remercier le bon Dieu le tout puissant et miséricordieux qui nous a donné la force et la santé et la patience afin d'accomplir ce modeste travail.

Nous tenons à exprimer notre profond respect et nos remerciements les plus sincères à notre élégance promotrice Mme BOUDJEMA Nouara , pour avoir encadré et dirigé ce travail avec une grande rigueur scientifique. La qualité de ses conseils et la confiance qu'elle nous a accordé, nous ont permis de mener notre travail à bon port.

Nos vifs remerciements vont également aux membres de jury Mme BOULKOUR S. et Mme BENMANSOUR N. pour l'intérêt qu'elles ont porté à notre travail en acceptant de l'examiner et de l'enrichir par leurs propositions.

Un remerciement spécial Mme DAHMEN Hadjer .

Nos remerciements les plus sincères à tous nos enseignants du département de Science Alimentaire (SA) de l'université Saad Dahleb Blida pour leurs compétences et expertises.

Nous souhaitons adresser nos remerciements les plus sincères aux personnes qui nous ont apporté leur aide et qui ont contribué à l'élaboration de ce travail en particulier les ingénieurs des laboratoires de Groupe Saidal.

Dédicaces



*A l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail
que je dédie à mes plus chers êtres au monde*



*Tout d'abord et spécialement à ma très chère mère la lumière de
ma vie : **Safia** pour son chaleureux encouragement, sa tendresse,
sa douceur, sa disponibilité et ses sacrifices durant toute ma vie .*

*A mon cher père : **Mouloud** pour son soutien son
aide et sa compréhension .*

*A mon adorable petite sœur **Maissa** que j'adore*

*A mes chers petits frères **Amine** et **Nazim** ma fierté
dans cette vie .*

*A mes chers oncles et tantes surtout ma tante
Ghania et son mari **Kamel** pour leur
soutien et encouragement*

*A ma grand-mère **Tassadit** qui a toujours
souhaité que je réussisse dans mes études*

*A mes très chers cousins et cousines surtout ma
cousine **Fatiha***

*A mes amies que j'aime : **Chaima** , **Amira** , **Sabrina** ,
Roumaissa , **Youssra** , **Mounira** , **Wafa** et **Amel** En souvenir
des moments heureux passés ensemble, A mon soutien moral
et source de joie **Boumediene** pour l'aide et
l'encouragement.*

*A ma chère binôme **Fatma** et sa famille*

*A tous les membres de ma famille et toute personne qui porte le
nom*

BOUDA & BELAID

Amina



Dédicaces

*A l'aide de dieu j'ai pu réaliser ce modeste travail que je
dédie à mes plus chers êtres au monde ♥*

A Ma mère

A Mon père

*A mes frère **Ibrahim** et **Adam**.*

*Ma sœur **Romaissa** et son mari **Adel***

A toute ma famille et

*A mes amies **Maria** et **Melissa***

*A ma chère binôme **Amina** et sa famille*

Bien fiable témoignage d'affection

Fatma

Tables des matières

Résumé

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

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

Chapitre I: Synthèse des données bibliographiques

Généralités sur la propolis.....	3
Historique de la propolis	3
Définition et étymologie	3
Origine de la propolis.....	3
Récolte de la propolis	4
Par l'abeille	5
Condition de la récolte	5
Procédés de la récolte.....	5
Par l'apiculteur	6
Utilisation de la propolis	6
Utilisation par l'abeille.....	6
Utilisation par l'homme	7
Toxicité de la propolis.....	8
Conservation de la propolis.....	8
Caractère organoleptique et physico chimique de la propolis	8
Caractéristiques organoleptique	8
Caractéristique physiques	9
Composition chimique de la propolis brute	10
Composition chimique de la propolis purifiée	10
Composition de la propolis algérienne.....	11
Intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis	12
Propriétés anti-infectieuses	12
Activité antibactérienne	12
Activité antifongique.....	12
Activité antivirale.....	12
Activité antiparasitaire	12
Activité antioxydant	13
Activité anti-tumorale.....	13
Effets anti-inflammatoire.....	13
Effets hépatoprotecteur	13

Effets contre les affections bucco-dentaires.....	13
---	----

Chapitre II : Matériel et Méthodes

Objectif de l'étude	15
Choix de l'échantillon.....	15
Méthodes d'analyses physico-chimiques	16
III.3.1. Analyses physiques	17
II.3.1.1. Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale	17
Analyse chimique	18
Détermination du pH	18
Détermination de l'acidité titrable	19
Recherche des substances polyphénoliques.....	20
Dosage des sucres totaux	20
Dosage des flavonoïdes	21
Etude de l'activité antifongique et antibactérienne des EEP	21
Méthode de diffusion a partir d'un disque solide	22
Teste de sensibilité aux extraits bruts de la propolis.....	22
II.5.1.2 Teste de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme.....	23

Chapitre III : Résultats et Discussions

Evaluation de quelques caractéristiques physico-chimiques de la propolis	25
Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale	25
Détermination du pH.....	26
Détermination de l'acidité titrable.....	26
Résultat de Screening phytochimique	27
Résultat de la teneur en sucre totaux	30
Determination la teneur en flavonoïdes.....	30
Activités antibactérienne de la propolis	31
Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme).....	31
Sensibilisation des bactéries aux extraits secs de propolis... ..	32
Sensibilisation des champignons aux extraits secs de propolis... ..	33

Conclusion	35
-------------------------	-----------

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Cette présente étude porte sur la valorisation de la propolis locale algérienne et de lui attribuer une carte d'identité propre à elle. Une caractérisation physico-chimique et biologique de 4 échantillons de propolis récoltés par *Apis mellifica intermissa* dans différentes régions bioclimatiques du pays (Mitidja, Médéa et Cherrhell) a été effectuée.

L'étude expérimentale révèle une variation significative entre les échantillons analysés. Les caractéristiques biochimiques des échantillons de propolis étudiée ont montré un taux de 91% à 95.5% de matière sèche et un taux d'humidité qui varie entre 4.5% à 9%.

La propolis généralement est de nature acide, c'est le cas pour la propolis locale son pH varie de 4.73 à 4.94 et son acidité varie de 6.47 à 10.24.

L'étude de screening phytochimique s'effectue par la méthode colorimétrique a montré la présence de certains composants phénoliques tels que les flavonoïdes, les saponosides, les alcaloïdes et les sucres. Ce qui affirme que la propolis est riche en composés phénoliques.

Le dosage des flavonoïdes montre des valeurs plus importants pour l'échantillon de Médéa Octobre avec une dose de (42.97mg/100g) alors que le dosage des sucres reste moins important avec une dose de (2,218mg/g) de l'échantillon de Médéa O.

L'activité microbienne des extraits éthanoïques a fait enregistrer un pouvoir antimicrobien remarquable.

Escherichia coli est la souches qui na montre aucune sensibilité par ce teste .

Mots clés : Propolis, *Apis mellifica intermissa*, bioclimatiques, Polyphénols, pouvoir antimicrobien.

Abstract

This present study relates to the valorization of the local Algerian propolis and to attribute to it an identity card specific to it. A physico-chemical and biological characterization of 4 samples of propolis collected by *Apis mellifica intermissa* in different bioclimatic regions of the country (Mitidja, Médéa and Chercell) was carried out.

The experimental study reveals a significant variation between the analyzed samples. The biochemical characteristics of the propolis samples studied showed a rate of 91% to 95.5% of dry matter and a moisture content which varies between 4.5% to 9%.

Propolis is generally acidic in nature, this is the case for local propolis, its pH varies from 4.73 to 4.94 and its acidity varies from 6.47 to 10.24.

The phytochemical screening study carried out by the colorimetric method showed the presence of certain phenolic components such as flavonoids, saponosides, alkaloids and sugars. Which affirms that propolis is rich in phenolic compounds.

The dosage of flavonoids shows higher values for the sample of Médéa October with a dose of (42.97mg/100g) while the dosage of sugars remains lower with a dose of (2.218mg/g) of the sample of Medea O.

The microbial activity of ethanoic extracts has recorded a remarkable antimicrobial power.

Keywords

Propolis, *Apis mellifica intermissa*, bioclimatic, Polyphenols, antimicrobial power.

ملخص

يتميز العكبر (Propolis) بخصائصه العلاجية الفعالة و التي لها علاقة مباشرة مع مكوناته الكيميائية المتعددة من أجل الترويج لهذا المنتج ومنحه بطاقة الهوية الخاصة به ، أردنا تقديم مساهمتنا المتواضعة من خلال تحليل أربع عينات من البروبوليس التي تم جمعها في مناطق مناخية بيولوجية مختلفة من البلاد (الجبل والسهل والسهوب) وعرق يشكل التوصيف الفيزيائي والكيميائي والبيولوجي للعينات المختلفة من العكبر. (Apis mellifica intermissa) النحل نقطة انطلاق لهذا الإجراء.

كشفت الدراسة التجريبية عن تباين كبير بين العينات التي تم تحليلها: الرطوبة والمادة الجافة ، وتؤكد قيمة الحموضة أن البروبوليس حمضي بطبيعته ، كما أن تحقيق الفحص الكيميائي النباتي يظهر وجود بعض مكونات بوليفينوليك مثل التانينات ، الفلافونويد والسابونوزيدات والقلويات والسكريات وبالتالي فإن العكبر غني بالمركبات الفينولية ، فيما يتعلق بالنشاط الميكروبي للمستخلصات الإيثانولية يظهر قوة ملحوظة في مضادات الميكروبات

الكلمات الدالة

العكبر ، Apis mellifica intermissa ، محلي ، فلافونويد ، قوة مضادات الميكروبات

Liste des abréviations

P1 :	propolis de Médéa Octobre
P2 :	propolis de Cherchell
P3 :	propolis de Médéa novembre
P4 :	propolis de Mitidja
EEP :	Extrait éthanolique de propolis
MS :	Matière sèche
FeCl₃ :	Le trichlorure de fer
HCL :	L'acide chlorhydrique
AlCl₃ :	Le trichlorure d'aluminium
R² :	Coefficient de détermination.
UV :	Rayonnement ultraviolet

Liste des figures

Figure 1 : Récolte de la propolis par l'homme (grattage des cadres et moulées).....	06
Figure 2 : : Quatre échantillons de propolis récoltés de différente région	16
Figure 3 : organigramme représentant le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de propolis.	21
Figure 4 : corrélation entre le pH et l'acidité titrable.....	27
Figure 5 : Principe de réaction entre les flavonoïdes et $AlCl_3$	31

Liste des tableaux

Tableau I : Composition chimique de propolis brute	10
Tableau II : Pourcentage des composés de la propolis Algérienne	11
Tableau III : Présentations des échantillons de la propolis de l'année 2020-2021... ..	15
Tableau IV : Souches bactériennes et les souches fongique testées dans la présente étude. ..	22
Tableau V : les Antibiotiques testés vis-à-vis extrait brut de propolis	23
Tableau VI : Taux d'humidité et de matière sèche des différentes propolis étudiées	25
Tableau VII : Valeurs du pH et de la température des quatre échantillons de propolis récoltés dans les différentes régions	26
Tableau VIII : les résultats de l'acidité titrable... ..	26
Tableau IX : Les résultats de screening phytochimique	28
Tableau X : teneurs en sucres totaux des échantillons de la propolis locale.....	30
Tableau XI : teneur en flavonoïdes des différents échantillons de propolis.....	31
Tableau XII : Antibiogramme des germes étudiés en présence des différents antibiotiques (diamètres de la zone d'inhibition en mm)	32
Tableau XIII : Diamètre des zones d'inhibition en mm de la croissance bactérienne par les différents extraits étudiés	32
Tableau XIV : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de propolis sur <i>Candida albicans</i> et <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	34

Introduction

Introduction

L'apithérapie est l'une des méthodes de soin naturelle. Elle est basée sur les produits de la ruche tel que : le miel, la gelée royale et la propolis.

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 (**Kasiotis *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%) et également en Russie (18%) (**Séverine, 2014**).

En Algérie, selon l'origine on peut déduire que notre propolis est d'origine soit du pin (*pinus sp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays. (**Moudir, 2004**).

En effet, la propolis d'abeille constitue de véritable usine chimique dont il faut tirer le maximum de profit pour le bien être de population. Très complexe, la propolis est constituée de plus de 300 constituants, dont certains encore inconnus. Cette composition varie en fonction de son origine, de l'espèce d'abeille et du temps de la récolte. Ces dernières années de nombreux travaux se sont intéressés à la composition chimique et aux effets biologiques de cette substance. Ces travaux ont montré que cette substance est très précieuse en raison de ses propriétés antioxydantes antibactériennes, antivirales, anti-inflammatoire et thérapeutiques liées à sa composition en polyphénols et flavonoïdes.

Cette étude est réalisée afin de pouvoir identifier les activités physico-chimiques et biologique d'extrait éthanoïque de la propolis locale et d'exploiter ses vertus, elle a été motivée par :

- La volonté de valoriser un sous-produit de la ruche.
- Avoir une connaissance des éléments chimiques présents dans la propolis Algérienne, afin d'améliorer son utilisation.
- La mise à la disposition des populations d'un produit naturel, présentant une activité biologique et thérapeutique inestimable.
- Déterminer l'influence de la région pédoclimatique, ainsi que les conditions de récolte sur la composition de la propolis.

Notre document sera donc initié par une recherche bibliographique qui est divisée en deux parties la première sur les généralités concernant la propolis et son origine. Ainsi que la

Introduction

composition complexe de la propolis. Et la deuxième sur intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis et ses différentes activités.

La partie pratique présente les méthodes et les techniques utilisées pour la réalisation de ce travail à savoir :

- Les analyses physico-chimiques des différents échantillons de propolis.
- Quantifications de quelques familles de ses principaux composés tels que les flavonoïdes et les sucres.
- la réalisation de screening phytochimique
- Evaluations de son activité antimicrobienne par l'antibiogramme et par des extraits éthanoïque de propolis pour savoir la résistance et la croissance de différentes souches microbienne.

Chapitre I

Synthèse des

données

bibliographiques

Généralités sur la propolis**Historique de la propolis**

La propolis est anciennement beaucoup moins connue que le miel, ses propriétés médicinales étaient déjà mises à profit vraisemblablement plusieurs millénaires avant notre ère. Plus tard, les perses, les Grecs, les Romains et même les Incas l'ont utilisée (**Donadieu, 1981; Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1993**).

En Europe, on trouve quelques traces de son usage, dans le traitement des plaies aux 18 et 19^{ème} siècles, mais c'est surtout à l'occasion de la guerre des Boers en Afrique du Sud, qu'elle connaît son apogée d'utilisation, dans le cadre de ses propriétés désinfectantes et cicatrisantes. (**Salah, 2003**)

Depuis le début de 19^{ème} siècle, les apiculteurs ont utilisé la *Propolis* comme un médicament pour les animaux. A la fin de 21^{ème} siècle, un important marché de la propolis existe en Russie et en Allemagne, c'était un remède populaire qui prétendait soigner tous les maux. Son utilisation, qui n'est pas permanente, s'est maintenue pendant des siècles et a récemment été redécouverte par de nombreux chercheurs qui ont progressivement prêté attention et travaillé dur pour mener des expérimentations scientifiques sur toutes les données empiriques de ce produit.

Définition et étymologie

La propolis, qu'on appelle aussi la colle d'abeille (**Eric, 1984**) est une substance visqueuse et fortement adhésive qui couvre les bourgeons et la résine des conifères récoltés par l'abeille et amalgamée peut être à une sécrétion salivaire de ces dernières (**Pierre, 1984**). Les abeilles l'utilisent à l'entrée de leurs ruches pour en protéger l'accès, c'est ce qui indique son étymologie Grecque « Pro » signifiant devant ou défense, et « Polis » ce qui signifie substance de défense de la ruche (**Anjum et al., 2018**)

Les abeilles se servent aussi de cette substance pour momifier les petits rongeurs morts à l'intérieur de la ruche donc son utilisation par les abeilles comme un moyen de défense contre les micro-organismes pathogènes, et pour embaumer les intrus qui peuvent entrer dans la ruche en empêchant leur décompositions (**Marcucci, 1995 ; Bankova et al., 2000**). Elle est donc responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche.

Origine de la propolis

Les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient des bourgeons de divers arbres, la

propolis peut avoir double origine :

- **Une origine interne** : d'après des chercheurs allemands, la propolis serait un résineux provenant de la première phase de la digestion du pollen dans un petit organe situé entre le jabot et l'intestin moyen dit le gésier à pollen, régurgité et craché par l'abeille qui l'utilise dans la ruche comme ciment, vernis. Toutes les cellules de la ruche, et notamment celles qui sont nouvellement construites, sont en quelque sorte imprégnée avec cette propolis interne avant que la reine y pond. La plus grande quantité de propolis produite par les abeilles aurait cette origine, elle est assez facile à reconnaître au microscope grâce à des polis et des grains de pollen qu'elle contient (**Benkova, 2005**) .
- **Une origine externe** : collectée par les abeilles de différentes plantes. Est utilisée à des fins moins importantes telles que l'embaumement de prédateurs.

Les chercheurs pensent actuellement que la propolis trouvée dans la ruche est en grande partie, constituée par les résines recueillies sur les bourgeons de certains arbres, il s'agit de Peuplier surtout, les Bouleaux, les Aulnes, les Marronniers d'Inde, les Casuarina, etc (**Kumazawa, 2008**). Il est vrai qu'elle peut avoir la première origine mais il est bien connu de tous les praticiens que les ruches situées dans les bois ou les forêts proposent beaucoup plus que celles situées en plaine (**Caillas, 1974**).

- **En Algérie**

Selon la flore botanique disponible en Algérie, on peut déduire que notre propolis est d'origine soit du pin (*Pinus sp*) qui occupe les zones semi arides, le chêne (chêne liège et chêne zeen) qu'on trouve au nord-est du pays, chataignier, cyprès (*Cupressus sp*), casuarina, et le peuplier (*Populus sp*) (**Moudir, 2004**).

Récolte de la propolis

La Propolis est devenue un produit à part entière dans la production d'une exploitation apicole. Considérée longtemps comme un déchet de la ruche, elle a ces dernières années acquis une réelle notoriété compte tenu de son influence favorable sur la santé humaine et de son impact sur le revenu de l'entreprise apicole.

Récolte par l'abeille

La récolte de la propolis est faite par un nombre restreint d'abeilles ouvrières butineuses très spécialisées dans cette activité, puisqu'elles ne semblent pratiquement effectuer aucun autre travail au sein de colonie, si ce n'est un travail en relation directe avec cette récolte, à savoir le colmatage à l'intérieur de la ruche (**Debuyser, 1984**).

Condition de récolte par l'abeille

- **L'Age de l'abeille** : il semble que ce soient les abeilles les plus âgées donc les plus expérimentées qui récoltent la propolis, l'étude histologique montre que leurs glandes cirières sont totalement atrophiées ; l'âge minimal est donc dix-huit jours. (**Debuyser, 1984**).
- **La race** : selon **Chauvin (1968)**, la tendance à propoliser est : l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (*Apis mellifica caucasia*) est connue pour son étonnante aptitude à propoliser ; l'abeille punique et tellienne (Algérienne) (*Apis mellifica intermissa*). Certaines races utilisent peu de propolis, c'est le cas de l'abeille (*Apis mellifica lamarcki*), elle n'emploie pas de propolis.
- **La saison et climat** : la propolis est principalement récoltée à la fin de la miellée c'est-à-dire à la fin de l'été et l'approche de l'automne, les abeilles entreprennent alors de colmater la ruche avec cette résine en vue de l'hivernage (**Meyer, 1956 ; Debuyser, 1984 ; Donadieu, 1992**).
- **Facteur géographique** : c'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées, propolisent davantage que les ruches de plaine (**Debuyser, 1984**).

Procédés de récolte

Selon **Debuyser (1984)**, la récolte de la propolis par les abeilles s'effectue suivant quatre étapes :

- A l'aide de ses antennes, l'abeille repère un morceau de propolis, puis avec ses mandibules elle en détache un fragment en s'aidant parfois de pattes antérieures.
- Le morceau de propolis modelé par les mandibules est pris avec les pattes antérieures.
- Celui-ci est alors transféré aux pattes du milieu.
- Par un mouvement rapide la propolis est finalement déposée dans la corbeille des pattes postérieures, ou elle est transportée jusqu'à la ruche.

Récolte de la propolis par l'apiculteur

La propolis est également récoltée par l'homme selon deux techniques diverses, la première technique consiste à racler et gratter les cadres ou les parois de la ruche (Figure.1), de préférence à une température assez basse, la propolis dure et friable se détache alors mieux (Bufalo, 2007)



Figure.1. Récolte de la propolis par l'homme (grattage des cadres et moulées).

La deuxième technique se base sur l'utilisation de différents dispositifs comme les grilles moulées en matière plastique ou en métal, les grilles sont posées au-dessus des ruches comme couvercles, les abeilles s'empressent d'obturer ces trous de propolis (Amigou, 2016).

Utilisation de la propolis

Utilisation par l'abeille

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert à plusieurs effets :

- ✓ Elle sert de mastic de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour assurer une meilleure isolation thermique.
- ✓ construire éventuellement de véritables barrières de défense (Elini *et al.*, 2007)
- ✓ vernisser l'ensemble des surfaces intérieures, afin d'en supprimer les aspérités (Tosi *et al.*, 2007). Et recouvrir d'une fine pellicule les nouveaux rayons, ainsi que l'intérieur de la totalité des cellules avant que la reine ne vienne y pondre. Et pour consolider les cadres et stériliser les alvéoles avant la ponte.
- ✓ enduire, combinée avec de la cire, les petits animaux ou insectes, qui ne peuvent être évacués, sorte d'embaumement s'opposant ainsi à toute décomposition putride (Pagliarone *et al.*, 2009).

Utilisation de la propolis par l'homme

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

- **Cosmétique**

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique (**Lavie, 1975**). Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications (**Krell, 1996**).

- **Médecine**

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- les problèmes cardio-vasculaires
- soins dentaires (**Choudhari et al., 2012**
Ishida et al., 2011)
- ulcère d'estomac (**Bankova, 2005**).
- les infections des muqueuses et les lésions
- le cancer (**Kouidhi et al., 2010**).
- Appareil respiratoire (divers infection) (**Nolkemper et al., 2010**)
- Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire (**Krell, 1996**) La propolis peut aider les personnes qui ont subi des brûlures traumatiques à guérir plus rapidement en accélérant la croissance de nouvelles cellules saines.

- **Technologie alimentaire**

Les activités anti-oxydantes, antifongiques et antibactériennes de la propolis lui offre une place de choix dans ce domaine. Les résidus des propolis semblent avoir un effet généralement bénéfique sur la santé humaine. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis. (**Krell, 1996**).

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture (**Mizuno et al., 1987**) Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons (**Donadieu, 1981**).

- **Pharmacie**

D'un point de vue pharmacologique, les résines (polymères naturels) représentent peu d'intérêt, contrairement aux éléments solubles (**Bruneau, 2009**). La propolis est utilisée sous plusieurs formes pharmaceutiques à savoir : les teintures officinales, les extraits et sous forme lyophilisée.

Toxicité

L'utilisation très répandue de la propolis dans la pathologie humaine et vétérinaire démontre d'une manière générale sa parfaite innocuité pour l'organisme humain ou animal dans les doses raisonnables. Des expériences au long terme ont été effectuées en Roumanie et en ex. Yougoslavie afin d'étudier la toxicité de la propolis sur l'organisme animal, ont montré que la propolis n'est nullement toxique (**Castaldo *et al.*, 2002 ; Jasprica *et al.*, 2007**).

Les allergènes sont il est clairement indiqué qu'ils proviennent de l'acide caféique. Cependant, la présence de flavonoïdes empêche la libération d'histamine, responsable des réactions allergiques, en bloquant le canal Calcium des mastocytes. (**Mizuno *et al.*, 1987**). Cela signifie que la personne doit éviter la consommation de la propolis, risque de développer de l'asthme en cas d'inhalation ou de dermatite application topique.

Conservation de la propolis

La propolis devra être conservée à l'abri de la lumière de l'humidité et de la chaleur afin qu'elle conserve toutes ses propriétés le plus longtemps possible. Donc dans des flacons opaques, températures ambiantes et à l'abri de l'air (**Kerll, 1986**). Le stockage de la propolis à longue durée ne stimule pas la diminution de sa teneur en composant chimique, mais il faut bien l'utiliser à l'état frais (**Donadieu, 1986 ; Li-Chang *et al.*, 2005**).

Caractères organoleptiques et physico chimiques de la propolis**I.1,8.1. Caractéristiques organoleptique**

La propolis est une substance résineuse, d'aspect hétérogène qui présente les caractères suivants :

- **Couleur**

Elle varie selon sa provenance, allant de jaune clair au brun très foncé, presque noire en passant par toute une gamme de brun extrêmement riche et étendue (rougeâtre, verdâtre, etc.) (**Lavie, 1975 ; Rell, 1996 ; Evangelist-Rodrigues *et al.*, 2001**).

- **Odeur**

D'odeur variable selon son origine, en général arôme agréable et douceâtre, mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.) (**Evangelist-Rodrigues et al., 2001 ; Metzner et al., 1997**). Si elle est brûlée, elle dégage une odeur d'encens très délicate et très recherchée en rapport avec les résines aromatiques (**Nikolaev, 1978**).

- **Saveur**

De saveur souvent âcre et parfois amère (**Makashvili, 1978 ; Metzner et al., 1997 ; Nikolaev, 1978**).

Caractéristiques physiques

- **Consistance**

La propolis est une substance de consistance variable suivant la température (**Lavie, 1975 ; Krell, 1996**):

- 15 °C, elle est dure et friable.
- Entre 25 °C à 45 °C elle est molle et malléable.
- Entre 60 °C et 70 °C elle est coulante et gluante.

Mais le point de fusion peut aller jusqu'à 100°C et au-delà.

- **Solubilité**

La propolis est peu ou pas soluble dans l'eau. Selon (**Bankova, et al., 1998**) quelques composants de la propolis sont solubles dans l'eau bouillante. Elle est soluble partiellement dans l'alcool (éthanol, méthanol) (**Lavie, 1975 ; Justin, 1996**), l'acétone, l'ammoniaque, le benzène, le chloroforme, l'éther, le trichloréthylène, le glycol, etc. Seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants (**Lavie, 1975**).

- Le pourcentage d'impureté est de 18 à 34 % (**Makashvili, 1978**).
- Le pourcentage d'humidité est de 5,07 % (**Evandro et al., 2001**).

- **Densité**

Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne (**Tosi et al., 2006**)

- **Point de fusion**

Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties : Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient et une partie liquide appelée cire de propolis qui reste en surface et qui trouve de nombreux usages dans le domaine apicole. (**Krell, 1996**)

Composition chimique de la propolis brute

La composition chimique de la propolis est variable selon l'origine géographique et l'écologie de l'abeille, ainsi que des arbres se trouvant dans son écosystème (**Marcucci 1995**). Les analyse de la composition chimique de la propolis ont identifié au moins 300 composants (**Mani et al., 2006**). Parmi les différents types de ses substances trouvées sont des cires, résines et baumes, huiles essentielles et aromatique, pollen et d'autres matières organique (Tableau 1) (**Krell, 1996 ; Bankova et al., 2000 ; Tosi et al., 2006 ; Barbarié et al., 2011**).

Elle est riche d'un grand nombre de substances minérales, et d'oligo-éléments, parmi lesquels nous trouvons en particulier : Al, Cr, Cu, Fe, Zn, Si, Ni, Pb, Mn et Co. (**Donadieux, 1981**)

Tableau I : Composition chimique de propolis brute (**Barbaric et al., 2011**)

Composition en ordre	Composition par groupes	Quantité
Résines	Flavonoïdes, acides phénoliques+esters	45-55%
Cire et acides gras	La cire d'abeilles et des plantes	25-35%
Huiles essentielles	Volatiles	10%
Pollen	Protéines (6 acides aminées libres>1%) arginine et proline jusqu'à 46% du total	5%
Autres composés et les minéraux	14 traces de minéraux, silice et zinc sont les plus communes cétones, lactones, quinones, stéroïdes, acides benzoïque, vitamines, sucres	5%

La propolis est composée de 45 à 55% de résine contenant principalement des flavonoïdes et des acides phénoliques ainsi que leurs esters (**Bankova et al., 1992**). Un taux de 25 à 35% de cire, 5% de pollen (**Metzner et al., 1997**) et 5% d'autres composés organiques avec comme minéraux: calcium, magnésium, fer, zinc, silice, potassium, phosphore, manganèse, cobalt (**Metzner et al., 1997**) et vitamines: A, B1, B2, B3, C, E, H et la vitamine P (**Ghisalberti, 1979 ; Ivanov, 1980**).

Composition chimique de la propolis purifiée

Selon la littérature, les chercheurs ont pu identifier jusqu'à 150 constituants différents qui font de la propolis une véritable usine de produits chimiques (**Marcucci, 1995**)

L'inventaire complet de ses substances serait fastidieux. Citons toutefois, plus de quarante **flavonoïdes** (flavones, flavones et flavanones), des acides aromatiques, des esters aromatiques, terpénoïdes, acides aliphatiques, autres matières organiques et minérales et nombreuses vitamines (dont la vitamine A et la vitamine du groupe B) (**Tosi *et al.*, 2006**).

Les composés phénoliques (**polyphénols**) semblent les plus dominants dans la composition de la propolis, en plus ce sont les principaux composés responsables des activités biologiques de la propolis tel que l'activité antimicrobienne (**Scazzocchio *et al.*, 2006**), antivirale (**Genya *et al.*, 2005**) et anti oxydante (**Shiva *et al.*, 2006**).

Les polyphénols naturels sont des métabolites secondaires, ce qui signifie qu'ils n'exercent pas de fonction directe au niveau des activités fondamentales de l'organisme végétal, comme la croissance ou la reproduction. Ce sont des composés organiques possédant un ou plusieurs noyaux aromatiques, auxquels sont directement liés un ou plusieurs groupements hydroxyles libres ou engagés dans une fonction ester, éther ou hétéroside (**Katz, 1980**).

Composition de la propolis algérienne

D'après une étude réalisée dans quatre régions différentes du pays (Tlemcen, Guelma, M'sila 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 II).

Tableau II. Pourcentage des composés de la propolis Algérienne (**Moudir, 2006**)

Famille	Tlemcen	Guelma	M'sila	Tizi-Ouzou
Acide aliphatiques	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

Intérêts biologiques et thérapeutiques de la propolis

L'ensemble des recherches effectuées à ce jour permet de montrer plusieurs propriétés biologiques et thérapeutiques de ce produit. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique.

Propriétés anti-infectieuses

La propolis présente des propriétés antimicrobiennes (antibactériennes, antifongiques, antiparasitaires, et antivirales) et immunostimulantes : elle active les fibrocytes et inhibe l'histamino-sécrétion des mastocytes (**Gherdira et al., 2009**).

I.2.1.1. Activité antibactérienne

La propolis a un effet significatif contre les bactéries telles que *Escherichia coli* et *Staphylococcus aureus*. Plusieurs études ont montré que les extraits éthanoïques de propolis étaient plus efficaces contre les bactéries à Gram positif que les bactéries à Gram négatif. Le mode d'action de la propolis est dû à l'interaction des composés phénoliques avec d'autres composés tels que la pinocembrine, la galangine et la pinobanksine. La propolis agit en tant qu'agent bactéricide par blocage de la division cellulaire, désorganisation du cytoplasme ou par une inhibition de la synthèse protéique (**Anjum et al., 2018**)

I.2.1.2 Activité antifongique

La propolis a montré une activité contre différents champignons. Il a été étudié que la propolis inhibe les champignons aflatoxigéniques et diminue également la croissance des conidies chez *Aspergillus flavus*. La propolis montre une activité contre *Candida guilliermondi*, *Candida krusei* et *Candida albicans*. Dans une autre étude, une propolis française a été utilisée efficacement contre les pathogènes fongiques humains *Candida albicans*, *Candida glabrata* et *Aspergillus fumigatus* (**Ajum et al., 2018**)

Activité antivirale

La propolis a montré une activité antivirale en inhibant l'entrée du virus dans les cellules, ce qui perturbe la réplication virale et entraîne la destruction d'acide nucléique avant ou après sa libération dans les cellules (**Anjum et al., 2018**).

Activité antiparasitaire

Quelques études ont montré que la propolis était efficace contre les trichomonas (**Xu,**

2006), les trypanosoma (responsable de la maladie du sommeil) (Decastro, 2006), la leishmania (Machado, 2007) ou *Giardia lamblia* (parasitose intestinale) qui sont pour la plupart des parasites très répandus dans les pays tropicaux et subtropicaux.

Activité antioxydante

La propolis est une substance constituée de nombreux composés antioxydants : vitamines E et C et des poly phénols (Ahn *et al.*, 2004 ; Gomez *et al.*, 2007). Les études ont montré que l'activité anti oxydante de la propolis était positivement corrélée avec son contenu en polyphénols (Greogris, 2010). De ce fait, la propolis de peupliers plus riche en poly phénols possède un potentiel antioxydant supérieur à celui de la propolis verte du Brésil par exemple (Kamazama, 2004).

Activité anti tumorale

De très nombreuses études in vitro et in vivo ont été entre- prises sur l'activité anti tumorale de la propolis ou de ses principaux constituants (Najafi *et al.*, 2007 ; Orsolio, 2010). Les résultats montrent un effet antiprolifératif vis-à-vis d'un très grand nombre de lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, prostate, poumon, foie, cerveau, rein) (Velikova *et al.*, 2000 ; Park *et al.*, 2004 ; Chen, 2007; Eom *et al.*, 2010).

Activité anti-inflammatoire

Sur des modèles in vivo d'arthrite, d'œdème de la patte ou d'inflammation chronique et aiguë, la propolis exerce un effet anti-inflammatoire significatif (Rossi *et al.*, 2002). Plusieurs cas d'allergies de contact (dermatose, eczéma) avec un allergène bien identifié : le 3,3-dimethylallyl caffeate (Gardana, 2011).

Effet hépatoprotecteur

La propolis agit comme un agent hépatoprotecteur. Elle augmente le taux de glutathion tout en arrêtant la peroxydation lipidique et le taux de glutathion oxydé. Des études ont également montré que les extraits de propolis possèdent un rôle protecteur contre le stress oxydatif hépatorénal et les lésions qui en résultent (Anjum *et al.*, 2018).

Effets contre les affections bucco-dentaires

La propolis est reconnue par ses vertus désinfectantes et cicatrisantes qu'on peut exploiter dans le traitement des aphtes, elle permet aussi d'assainir la cavité buccale. Elle a

un effet préventif sur les germes responsables des caries dentaires et permet de calmer l'inflammation de la gencive (**Eon, 2011**). La combinaison d'extrait éthanolique de propolis avec un rince-bouche et des dentifrices améliorerait la prévention de l'infection microbienne ainsi que le traitement de l'inflammation des gencives (**Anjum *et al.*, 2018**).

Chapitre II

Matériel et

Méthodes

Objectif du travail

Ce travail a pour objectif d'évaluer les caractères physico-chimiques et l'activité biologique d'extraits éthanoïque de propolis selon des régions pédoclimatique. Nous avons réalisé un stage d'une durée 3 mois (de mars jusqu'a juin) au niveau de laboratoire de groupe SAIDAL (Dar El Beida) wilaya d'Alger, dont nous avons effectué les analyses physico-chimiques, activité antibactérienne et antifongique de la propolis locale récoltée.

Choix de l'échantillon

Les échantillons ont été choisis selon des régions pédoclimatiques et leur disponibilité. Le choix des échantillons se justifie par la différence de la flore botanique entre les régions bioclimatiques (Tableau III). Les échantillons de propolis récoltés par la race d'abeilles (*Apis mellifica intermissa*), entre 2020 et 2021 nous ont été fournis par des apiculteurs de différentes régions d'Algérie.

Tableau III : Présentations des échantillons de la propolis de l'année 2020-2021

Régions	Races d'abeilles	Année de récolte	Nombre	Climat
Mitidja	<i>Apis mellifica intermissa</i>	2021	1	Semi-aride
Médéa	<i>Apis mellifica intermissa</i>	(octobre, novembre) 2021	2	Semi-aride
Cherchell	<i>Apis mellifica intermissa</i>	2021	1	littorale

La récolte a été effectuée par le raclage des cadres (cette méthode permet d'obtenir une propolis de mauvaise qualité trop d'impuretés contrairement à la récolte en utilisant des grilles de propolis). Le poids de la propolis varie entre 50 et 100 g, la conservation des échantillons a été faite à froid pour certains et à l'air libre pour d'autres. Après l'élimination des grosses impuretés, les propolis ont été découpées en petits morceaux, congelées pendant 18 h et broyées grossièrement et récupérées dans des boîtes en verre propres.

Les échantillons analysés sont présentés dans la figure ci-dessous :



Figure 02 : Quatre échantillons de propolis récoltés de différente région (**P1**: Médéa récolté mois d'octobre ,
P2:Cherchell , **P3**: Médéa récolté mois de novembre) **P4**: Mitidja)

Méthodes d'analyses physico-chimiques

✓ Extraction

L'extraction n'est qu'une étape de transformation de la matière première (dans notre cas c'est la propolis) en un extrait. Toutes les étapes qui précèdent ou suivent l'extraction doivent être maîtrisées avec précision pour un produit final de qualité optimale. Dans cette optique, le découpage de la propolis a été réalisé par une râpe de cuisine afin de pouvoir récupérer des morceaux très fins dans le but d'optimiser l'extraction

✓ Macération

C'est une opération qui consiste à laisser la poudre (la propolis) en contact prolongé avec un solvant pour en extraire les principes actifs. C'est une extraction qui se fait à une température ambiante. La poudre de la propolis a été macérée à température ambiante dans l'éthanol 75% pendant 24h.

✓ Filtration

Le macérât est filtré avec du papier filtre dans des fioles et conservé au frais, dans des flacons sombre bien fermé, pour effectuer ultérieurement les tests chimiques.

Analyse physique**Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale****✓ Principe**

On procède à une dessiccation de l'échantillon à analyser dans une étuve à la température de (100 à 105°C) jusqu'à l'obtention d'une masse pratiquement constante. Pour éviter toute reprise d'humidité, il convient d'opérer dans des capsules, placées dans un dessiccateur.

✓ Mode opératoire

Sécher à l'étuve, les capsules pendant 15min, ensuite refroidies dans un dessiccateur durant 10min. Une quantité de 2 g d'échantillon de propolis est placée à l'étuve réglée à 103°C pendant 3h, ensuite les capsules sont retirées de l'étuve et placées dans le dessiccateur. Effectuer une pesée des capsules après refroidissement. La différence entre deux pesées doit être inférieure à 2mg, sinon l'opération est renouvelée jusqu'à l'obtention d'un poids constant.

✓ Expression des résultats

La teneur en eau (%) est donnée par la formule suivante :

$$H(\%) = \frac{M1-M2}{P \times 100}$$

M1 : Représente la masse en grammes de la prise d'essai avant séchage.

M2 : Représente la masse en grammes de la prise d'essai après séchage.

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

A partir de la teneur en eau on peut déterminer le taux de matière sèche (MS) qui est donné par la formule suivante :

$$MS \% = 100 - H\%$$

Analyses chimique**Détermination du pH (NF V 05-108, 1970)**✓ **Principe**

Détermination en unité de pH de la différence de potentiel existant entre deux électrodes en verre plongées dans une solution aqueuse de la propolis découpée en petits morceaux.

✓ **Mode opératoire**

- Couper en petits morceaux une partie de l'échantillon de la propolis ;
- Placer le produit dans un bécher et y ajouter trois fois son volume d'eau distillée ;
- Chauffer au bain-marie pendant 30 mn en remuant de temps en temps avec une baguette de verre ;

Filtrer ensuite le mélange obtenu et procéder à la détermination du pH en prenant soins que l'électrode soit complètement immergée dans la solution

Détermination de l'acidité titrable (NF V 05-101, 1974)✓ **Principe**

Titration de l'acidité d'une solution aqueuse de la propolis avec une solution d'hydroxyde de sodium.

✓ **Mode opératoire**

- On pèse à 0,01g près au moins 25 g de propolis coupée en petits morceaux.
- On place l'échantillon dans une fiole conique avec 50 ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu' à l'obtention d'un liquide homogène.
- On adapte un réfrigérant à reflux à la fiole conique puis, on chauffe le contenu au bain-marie pendant 30 mn.
- Refroidir, transvaser quantitativement le contenu de la fiole conique dans une fiole jaugée de 250 ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer.
- On prélève à la pipette 25, 50 ou 100 ml de l'échantillon pour essai selon l'acidité présumée, et on les verse dans un bécher sous agitation.
- On titre avec une solution d'hydroxyde de sodium.
- On opère rapidement jusqu'à un pH de 7, puis lentement jusqu'à un pH de $8 \pm 0,2$.

✓ Expression des résultats

L'acidité titrable est exprimée selon la formule suivante :

Soit :
$$A\% = \frac{250 \times V1 \times 100}{V0 \times M \times 10}$$

M : Masse, en grammes de produit prélevé.

$V0$: Volume en millilitres de la prise d'essai.

$V1$: Volume en millilitres de la solution d'hydroxyde de sodium à 0.1 N utilisé

✓ Préparation de l'infuser

Nous avons introduit 5g de la poudre de la propolis dans un ErlenMeyer de 250 ml contenant 100ml d'éthanol (75%). après infusion pendant 24h, nous avons filtré et on a obtenu un volume finale de 100ml de filtrat conserve au réfrigérateur a 4c° .

Recherche des substances phénoliques (le screening phytochimique)

- **Les Anthocyanes : (selon la méthode interne validée par le laboratoire du SAIDAL)**

Nous avons pris 5ml d'infusé auquel on a ajouté 5ml d'acide sulfurique puis 5ml d'ammoniaque. Si la coloration s'accroît par acidification puis vert au bleu violacé enmilieu basique, on peut confirmer la présence d'anthocyanes .

- **Les Tanins**

Nous avons introduit 5ml d'infusé dans un tube à essai, en ajoutant 1ml d'une solution aqueuse diluée de FeCl₃ (9%). En présence des tanins, il se développe une coloration bleu noirâtre (Diallo, 2005).

- **Les Flavonoïdes**

Selon la méthode de Diallo (2005), nous avons ajouté 5ml de l'infusé dans un tube, en ajoutant quelque gouttes d'HCL et 2ml de l'ammoniaque, l'apparition d'une phase superficielle jaune lors du versement de l'ammoniaque indique la présence des flavonoïdes.

- **Les Alcaloïdes**

Un volume de 5ml de l'infusé est ajouté dans un tube contenant 2ml de l'HCl et quelques gouttes de Reactif de Dragendorff, la formation d'un précipité rouge indique la présence des Alcaloïdes (**Dohou et al., 1969**). .

- **Les Saponisides**

Nous avons ajouté 5ml de l'infusé dans un tube, en lui ajoute quelques mg de plombe, la formation d'un précipité blanc indique la présence des saponisides (**Dohou et al., 2003**).

- **Les sucres**

Nous avons suivi la méthode interne du Laboratoire du Département des analyses physicochimiques du SAIDAL. Un volume de 2 ml de l'infusé a été additionné 1ml de la liqueur de Fehling A et 1 ml de la liqueur de Fehling B. L'obtention d'un précipité rouge brique indique la présence de sucres réducteurs

Dosage des sucres totaux

Les sucres totaux sont déterminés par le test au Phénol, selon la méthode de **Dubois (1956)**

✓ **Principe**

En présence de l'acide sulfurique concentré, les oses sont déshydratés en composés de la famille des dérivés sulfuriques. Ces produits se condensent avec le Phénol pour donner des complexes jaune-orangé. La teneur en sucres totaux est déterminée par spectrophotométrie à une longueur d'onde de 490 nm (**Goodon, 1997**).

✓ **Mode opératoire**

Dans un tube en pyrex déposer avec précaution 1 ml de la solution à doser, 1ml de la solution phénol (50g/l) et 5ml d'acide sulfurique. Après homogénéisation douce de mélange réactionnel et refroidissement, la densité optique est mesurée à 490 nm.

II.4..5. Dosage des flavonoïdes

✓ **Principe**

La teneur en flavonoïdes des différents extraits de propolis est déterminée selon la méthode décrite par **Woisky et Salatino (1998)** qui utilise le trichlorure d'aluminium ($AlCl_3$) comme réactif. La présence d'une case libre dans l' $AlCl_3$ forme une liaison avec les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes, en produisant un complexe de couleur jaune, dont le maximum d'absorption se situe à 430 nm.

✓ Mode opératoire

Mettre 1ml d'extrait éthanolique de la propolis dans un tube à essai, Ajouter 1ml de solution de chlorure d'aluminium à 2%, Après 10minutes, l'absorbance est lue à 430 nm (figure 3).

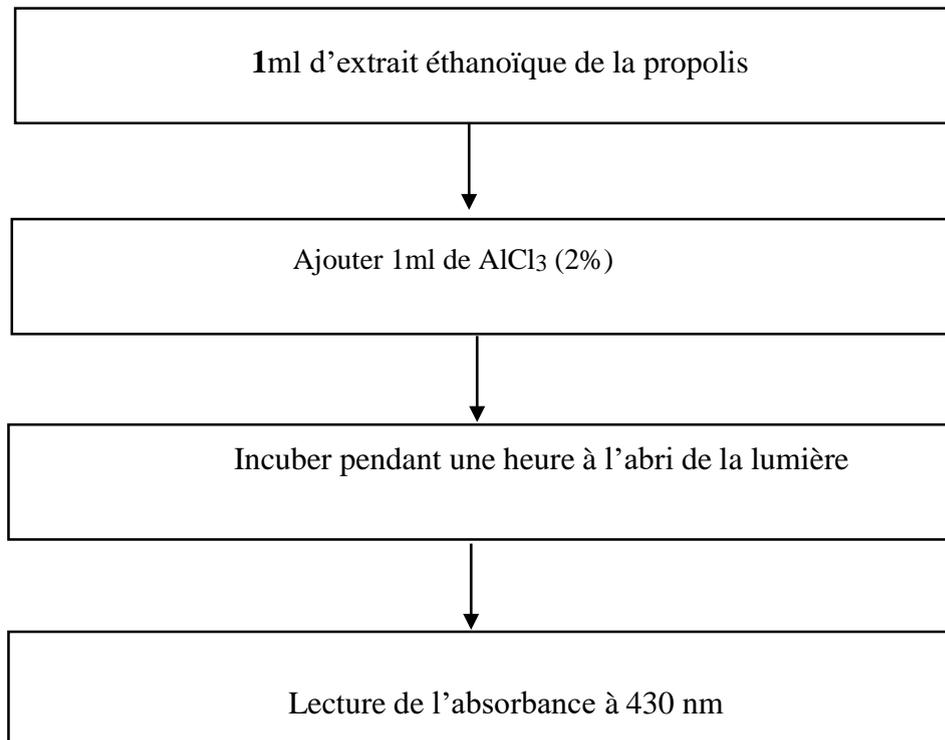


Figure 3 : organigramme représentant le dosage des flavonoïdes dans l'extrait de propolis

Etude de l'activité antifongique et antibactérienne des EEP**• Souches bactériennes et les souches fongiques testées**

L'activité antibactérienne des EEP a été évaluée sur 3 souches bactériennes et deux souches fongiques (Tableau IV)

Méthode de diffusion à partir d'un disque solide**✓ Principe**

La méthode de diffusion à partir d'un disque solide a été utilisée pour mettre en évidence l'activité antimicrobienne des antibiotiques et des extraits vis-à-vis des germes pathogènes.

Tableau IV : Souches bactériennes et les souches fongique testées dans la présente étude (origine institue pasteur)

	Souches	Origine	Caractéristique
Gram(-)	<i>Escherichia coli</i> ATCC8739	Groupe Saidal d'Alger	Souche de référence
Gram (+)	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC2785	Groupe Saidal d'Alger	Souche de référence
Gram (+)	<i>Staphylococcus aureus</i> ATCC6538	Groupe Saidal d'Alger	Souche de référence
Champignons	<i>saccharomyces cerevisiae</i> ATCC9763	Groupe Saidal d'Alger	Souche de référence
	<i>Candida albicans</i> ATCC1252	Pilab laboratoire d'analyse de la qualité Blida	Souche de référence

Teste de sensibilité aux extraits bruts de la propolis

✓ Préparation de l'extrait éthnologique de la propolis (EEP)

Deux gramme de propolis broyée finement sont mélangées avec 10 ml d'éthanol de 96 %, conserver à l'abri de la lumière pendants sept jours sous agitation à la température ambiante. La solution obtenue est centrifugée à 3500 tours/min pendant quinze minutes, le surnageant obtenu est considéré comme l'extrait éthanologique de propolis (EEP). (Srdjan *et al.*, 2003)

La gélose appropriée (Muller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons) est coulée dans des boites de pétrie 90 mm de diamètre est inoculée avec une suspension microbienne pur fraîchement préparée.

Un disque de papier Whatman stérile de 6mm de diamètre est imbibé de 30µl d'extrait, puis déposé à la surface de la géloseensemencée, l'ensemble est incubé pendant 24h à 37°C pour les bactéries et 48h à 25°C pour la levure. Dès l'application des disques imprégnés l'extrait diffuse de manière uniforme. Après la durée d'incubation, plus la zone d'inhibition est grande plus le germe est sensible.

Teste de sensibilité aux antibiotiques : antibiogramme (Wilkinson, 2006)

Ce teste a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisé et le comparer avec l'effet de nos extraits.

Les disques d'antibiotique sont déposés à la surface d'un milieu gélosé (au maximum 6 antibiotiques par boîte), préalablement ensemencé avec une culture pure de la souche à étudier. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques est appréciée selon le même protocole qu'avec les disques de papier imprégnés d'extraits.

- Les disques qui contiennent l'éthanol à 96 % utilisée comme témoin -
- Les disques d'antibiotiques utilisés comme témoin +.

Pour les trois souches bactériennes mentionnées au-dessus on a utilisée des antibiotiques de disque préparé .

✓ Lecture des résultats

La lecture s'effectue après l'incubation par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition (le diamètre du disque inclus) se fait après 24 heures pour les bactéries, et 48 heures d'incubation pour les levures.

- L'absence de la croissance bactérienne se traduit par un halo translucide autour du disque dont le diamètre est mesuré et exprimé en millimètre. L'échelle d'estimation de sensibilité est donnée par (**Mutai et al., 2009**). Ils ont classé les diamètres des zones d'inhibition de la croissance microbienne en 5 classes :

- Très fortement inhibitrice : $D \geq 30$ mm
- Fortement inhibitrice : $21\text{mm} \leq D \leq 29$ mm
- Modérément inhibitrice : $16\text{ mm} \leq D \leq 20$ mm
- Légèrement inhibitrice : $11\text{ mm} \leq D \leq 16$ mm
- Non inhibitrice : $D < 10$ mm

Chapitre III

Résultats et

Discussions

Caractéristiques physico-chimiques de la propolis

Détermination de la teneur en eau et de la matière sèche totale

Les teneurs en matières sèches et en eau sont répertoriés dans (le tableau VI).

Tableau VI : Taux d'humidité et de matière sèche des différentes propolis étudiées.

Echantillon N	Humidité (H%)	Matière sèche (MS%)
Baba Ali (Mitidja)	6,5 ± 0,007	93,5%
Beni Slimane (Médéa récolté le mois de novembre)	4,82 ± 0,35	95,18%
Beni Slimane (Médéa récolté le mois d'octobre)	4,5 ± 0,21	95,5%
Cherchell (Montagne)	9,1 ± 0,14	90,9%

- A partir du tableau VI il est constaté que les échantillons de propolis sont pauvres en eau et en matières volatiles, ce qui procure à celle-ci sa structure solide.
- Les résultats obtenus ont révélé un taux d'humidité compris entre 4,5% à 9,1 %. Cela signifie que le poids de la propolis est constitué par la matière sèche (90,9 % à 95,5 %). Comparativement aux propolis de Tizi Ouzou étudié par **Fouchal et al., (2019)** qui ont trouvé des valeurs de teneur en eau allant de 3,38% à 8,83%, les valeurs obtenues dans la présente étude sont en concordance avec celles-ci.
- Contrairement aux résultats trouvés par **Ferhoum (2010)**, qui a trouvé des taux d'humidité compris entre 1,26% à 3,89% nos résultats sont supérieurs, et cela peut s'expliquer par les conditions de stockage ainsi que les conditions climatiques qui peuvent influencer cette proportion.

Résultats de pH

Les résultats de pH des quatre échantillons de propolis sont illustres dans le tableau suivant :

Tableau VII : Valeurs du pH et de la température des quatre échantillons de propolis récoltés dans les différentes régions

Echantillon	Valeur de pH	Température C°
Baba Ali (Mitidja)	4,94 ± 0,81	23.6
Beni Slimane (Médéa) N	4,69 ± 0,17	23.8
Beni Slimane (Médéa) O	4,68 ± 0,07	23.9
Cherchell (Montagne)	4,73 ± 0,03	24

Les résultats du pH obtenus ont montré que le pH le plus élevé est enregistré dans la région de Baba Ali avec une valeur de 4,94, suivi par la région de Cherchell avec un pH de 4,73 et les deux régions de Médéa.

La température enregistrée des quatre échantillons de propolis est de 24 C°.

D'après ces résultats, la présente propolis est de nature acide. Cette dernière est due à sa composition en acide aromatique (dérives de l'acide benzoïque, de l'acide benzaldéhyde et de l'acide aliphatique).

Résultat de l'acidité titrable

L'acidité titrable nous renseigne sur la quantité en acides organique présentent dans l'échantillon de propolis.

Les résultats du dosage de l'acidité titrable des échantillons de propolis sont présentes dans le tableau suivant :

Tableau VIII : les résultats de l'acidité titrable

Echantillon	Acidité %
Mitidja	10,24 ± 0,89
Beni Slimane Médéa N	7,84 ± 1,69
Beni Slimane Médéa O	8,2 ± 0,25
Cherchell	6,47 ± 0,64

Les résultats obtenus ont mis en évidence le degré de l'acidité titrable de la propolis étudiée qui varie entre 6,47 et 10,24 .

L'échantillon de Cherchell présent a montré la valeur la plus faible de 6,47 par contre l'échantillon de Mitidja est d'une degré d'acidité titrable plus élevée (10,24). Ceci peut être expliqué par la dégradation de l'échantillon ou bien la différence de la flore botanique entre ces régions.

- **Corrélation entre le pH et le pourcentage de l'acidité**

Une étude de corrélation a été faite entre le pH et le degré d'acidité par le calcul du coefficient de corrélation (R) qui est compris entre **-1** et **1**. Dans la présente étude le R est de $0,779 < 1$ (figure 4). Ce qui signifie la présence d'une corrélation positive entre les deux facteurs (pH et degré d'acidité).

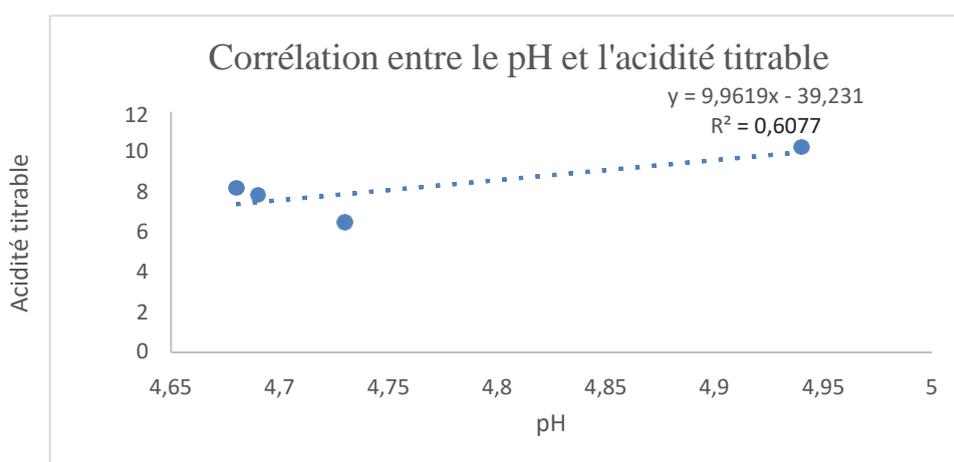


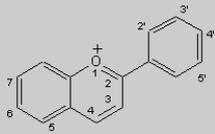
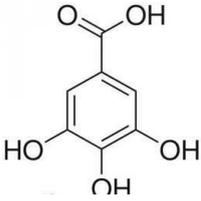
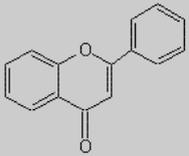
Figure 4 : Corrélation entre le pH et l'acidité titrable

Résultat de Screening phytochimique

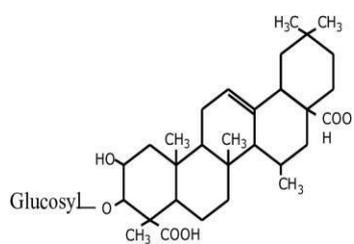
Ces tests ont été effectués pour mettre en évidence la présence de certains groupements chimiques qui peuvent être responsables des activités biologiques étudiées.

Les résultats des réactions caractéristiques des tanins, flavonoïdes, saponosides, sucres, alcaloïdes et anthocyanes sont réunis dans (le tableau IX).

Tableau IX : Les résultats de screening phytochimique de propolis de Médéa récolté en mois d'octobre

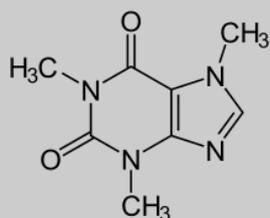
Les groupes chimiques	L'image	La réaction
<p>Les Antocyanes</p> 		<p>Absence -</p>
<p>Les Tanins</p> 		<p>++</p>
<p>Les Flavonoïdes</p> 		<p>Présence +</p>

Les Saponosides



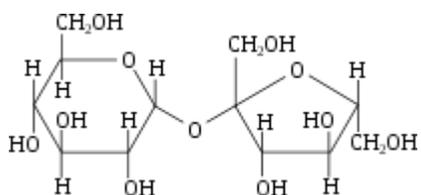
Présence
+

Les Alcaloïdes



Présence
+

Les Sucres



Présence
+

- ✓ Les sucres et les saponosides semblent avoir une présence importante dans notre échantillon.
- ✓ La mise en évidence des flavonoïdes et les alcaloïdes a été aussi positive
- ✓ La recherche des Tanins a montré leur présence moins importante
- ✓ Les anthocyanes a été absents dans notre extrait.

Résultat de la teneur en sucre totaux

Les teneurs en sucres totaux dans les extraits de propolis sont exprimées en g équivalent de glucose par 100g de propolis brute qui sont présentées dans (le tableau X) .

Tableau X : Teneurs en sucres totaux des échantillons de la propolis locale

Echantillons	Mitidja	Médéa N	Médéa O	Cherchell
Teneurs en sucres totaux(g)	1,823 ± 0,05	2,195 ± 0	2,218 ± 0,28	1,632 ± 0,008

La quantité la plus élevée en sucres totaux est donnée par l'échantillon de Médéa O (2,417g) devant (1,626 g) observée avec l'échantillon de la région de Cherchell.

La teneur en flavonoïdes

Les flavonoïdes sont une classe de composé ubiquitaires dans des plantes (ce qui prouve que la propolis est beaucoup plus d'origine végétale) et représentent un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques (**Waridel, 2003**)

Après l'ajout de la solution de chlorure d'aluminium ($AlCl_3$), une couleur jaunâtre se forme, cette coloration est due à la formation du complexe entre le chlorure d'aluminium et les flavonoïdes (figures 5). Ceci se traduit par le fait que le métal (A) a perdu deux électrons pour s'unir à deux oxygènes de la molécule phénolique agissant comme donneurs d'électron (**Rébirau, 1968**). La formule du complexe entre le chlorure d'Al et un composé phénolique O-hydroxycarbonylé est présentée comme suit :

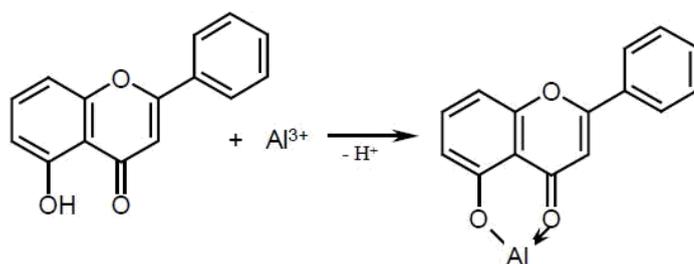


Figure 5 : Principe de réaction entre les flavonoïdes et $AlCl_3$ (Lagnika, 2005)

Tableau XI : Teneur en flavonoïdes des différents échantillons de propolis

échantillon	Teneur en flavonoïdes en mg/g
Mitidja	$15,48 \pm 0,01$
Médéa N	$10,39 \pm 0,42$
Médéa O	$42,97 \pm 0,21$
Cherchell	$30,23 \pm 0,23$

D'après le tableau de la teneur en flavonoïdes, la quantité la plus élevée est notée chez les échantillons de Beni slimene (Médéa O) ($42,97\text{mg/g}$) suivi de celle de Cherchell ($30,23\text{mg/g}$). Alors que les teneurs les plus faibles sont enregistrées au niveau de la propolis récoltée à Beni slimene (Médéa N) avec une teneur de ($10,39\text{mg/g}$) et à Mitidja avec une valeur de ($15,48\text{ mg/g}$).

Activités antibactérienne de la propolis

Sensibilité aux antibiotiques (antibiogramme)

L'antibiogramme consiste à chercher la sensibilité des souches vis-à-vis des antibiotiques. Nous avons testé l'activité antibactérienne par la méthode standard des disques, les mesures des zones d'inhibition figurants dans le tableau suivant :

Sensibilisation des bactéries aux extraits secs de propolis

Les résultats du test de sensibilité bactérienne aux extraits de propolis sont regroupés dans le tableau suivant.

L'action bactériostatique se traduit par l'apparition d'une zone d'inhibition autour du disque de papier imprégné d'extrait étudié.

Le diamètre de la zone d'inhibition diffère d'une bactérie à une autre et d'un extrait à un autre.

Tableau XIII : Diamètre des zones d'inhibition en mm de la croissance bactérienne par les différents extraits étudiés

Bactéries	Mitidja	Médéa (récolte mois de novembre)	Médéa (récolte mois d'octobre)	Cherchell	Témoin éthanol
<i>Staphylococcus aureus</i>	10,86 ±0,11	10,48 ±0,36	17,60 ±0,43	7,68 ±0,57	00 mm
<i>Escherichia coli</i>	0	0	0	0	00 mm
<i>Bacillus subtilis</i>	12,96 ±0,59	13,70 ±0,35	15,05± 0,28	11,95± 0,49	00 mm

D'après les résultats, tous les extraits ont réagi positivement sur toutes les souches bactériennes testées sauf pour *E. coli*. Les extraits de propolis sont doués des propriétés antibactériennes très appréciées, ce qui justifie son utilisation comme un remède antibactérien.

L'extraits de Médéa O ont montré une activité inhibitrice plus élève que l'échantillon de Médéa N et Mitidja qui présentent une activité moyenne, alors que l'échantillon de Cherchell a montré une certaine activité inhibitrice moins intéressante (tableau XIII).

Nous avons constaté que l'effet inhibiteur de l'extrait de propolis récoltée de Mitidja est meilleur de celui d'origine de Cherchell malgré sa faible concentration en flavonoïdes, et ceux vis-à-vis l'espèce pathogène *Staphylococcus aureus*. Ceci est probablement due à d'autres composants qui participent au effet bactérien.

La présente étude a montré que les extraits de propolis ont donné un effet antibactérien meilleur par rapport aux antibiotiques étudiés vis à vis *Bacillus subtilis*.

L'activité antibactérienne des extraits de propolis est due aux différents agents chimiques présents dans ces extraits, y compris les flavonoïdes : pinocembrine et galangine ainsi que les molécules aromatique et phénolique (acide cinnamique, acide caféique, acide ferulique). Ainsi que d'autres et d'autres composée de nature phénolique ou groupes hydroxyle libres qui sont classifiés comme composés antibiotiques très actifs (**Marjorie, 1999**)

La variation de la composition chimique des extraits de propolis explique donc les variations observées dans l'activité antibactérienne. Les extraits secs de la propolis locale étudiés contenaient tous une quantité de flavonoïdes plus au moins importantes, ce qui peut traduire que l'activité antibactérienne de ces extraits est due partiellement à la présence de ce type de composé chimique actifs dans leur composition.

Sensibilisation des champignons aux extraits secs de propolis

Pour démontrer l'activité antifongique des extraits de propolis vis-à-vis les champignons, nous avons choisi deux souches fongiques *Candida albicans* et une levure *Saccharomyces cerevisiae* (tableau XIV)

Tableau XIV : Diamètres des zones d'inhibition des différents extraits de propolis sur *Candida albicans* et *Saccharomyces cerevisiae*

Champignons	Mitidja	Médéa N	Médéa O	Cherchell	Témoin éthanol
<i>Candidas albicans</i>	8,51±0,7	20,2 ± 0,28	22,5 ± 1,82	28,41 ± 0,6	00 mm
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	10,8± 0,56	17,2 ± 0,28	17,59 ± 0,63	15,41 ± 1,24	00 mm

Les résultats des diamètres des zones d'inhibitions des extraits de propolis ont montré un meilleur effet antifongique de l'extrait de propolis de forêt de Cherchell (28,41mm± 0,6) vis-à-vis *Candida albicans*, suivi par celui de Médéa (20,2mm ± 0,28) et en dernier celui de Mitidja (8,51mm ±0,7).

Par rapport au *Saccharomyces cerevisiae* l'extrait de propolis de Médéa N et Médéa O ont enregistré les meilleurs effets inhibiteurs avec un diamètre de (17,2mm et 17,59 mm), ainsi que un effet remarquable avec l'extrait de Cherchell,

Nous avons constaté que le meilleur effet antimicrobien est enregistré avec l'extrait de propolis récoltée dans la forêt de Cherchell par rapport à d'autres extraits issus d'autres régions. Le site géographique a un impact considérable sur la qualité de la propolis et son effet inhibiteur vis-à-vis les bactéries et les champignons.

Conclusion

Conclusion

Notre travail qui est une contribution à l'étude de propriété physicochimique est biologique de la propolis locale selon trois régions, nous permis de comprendre que le domaine des produits de la ruche demeure encore un terrain valable de recherches scientifiques.

Les caractéristiques physicochimiques des échantillons de propolis étudiés sont variables d'un échantillon à l'autre. Un taux de matière sèche aussi importante a été enregistré de 91% à 95.5% et un taux d'humidité varie de 4.5% à 9%. Le pH de la propolis locale est de nature acide, il varie entre 4.73 et 4.94 et son degré d'acidité est de 6.47 à 10.24. Le dosage du sucre a montré la présence du sucre sous forme de traces.

Le screening phyto-chimique a mis en évidence la présence de composée phénolique à savoir : les flavonoïdes, les saponosides, les alcaloïdes.

Le dosage des flavonoïdes montre des valeurs plus importante pour l'échantillon de Médéa Octobre avec une dose de (42.97mg/100g) alors que le dosage des sucres reste moins important avec une dose de (2,218mg/g) de l'échantillon de Médéa O.

Les extraits bruts de la propolis ont été testés in vitro, par la méthode de diffusion à partir d'un disque solide. Les extraits ont révèlent des activités antimicrobiennes variables contre les différents souches microbiennes. La levure *Saccharomyces cerevisiae* et le champignon *Candida albicans*.

Escherichia coli est la souche qui n'a démontré aucune sensibilité par ce teste.

Au vu des résultats obtenus et tenant compte de la problématique du sujet, il nous semble judicieux d'approfondir le présent travail par :

- Elargissement du nombre des échantillons pour toucher toutes les wilayas du pays
- Isolement et caractérisation des composés actifs dans les différents extraits par des méthodes plus spécifiques
- Evaluation d'autres effets biologiques in vitro comme in vivo des extraits bruts et de leurs composés actifs en utilisant différentes techniques.

Références
bibliographiques

Références bibliographiques

A

Abd-El-Rhman, (1984). A, M, M. Antagonism of *Aeromonas hydrophila* by propolis and its effect on the performance of Nile tilapia, *Oreochromis niloticus*. *Fish & Shellfish Immunology*. 2009.27:454-459.

Ahn MR, Kumazawa S, Hamasaka T, (2004) Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of Korea. *Agric Food Chem* 52: 7286–92

Alexandare F, (1984). *Apiculture Aujourd'hui*, Eds. Rustica, Paris

Alyane M, Kebsa LB, Boussenane HN, (2008). Cardioprotective effects and mechanism of action of polyphenols extracted from propolis against doxorubicin toxicity. *Pak J Pharm Sci* 21: 201–9

Amigou M. (2016). Les résidus de médicaments vétérinaires et de pesticides dans les produits apicoles alimentaires (miel, pollen, gelée royale et propolis). Thèse de Doctorat Vétérinaire, Faculté de médecine de Créteil, Ecole nationale vétérinaire d'Alfort, pp. 139, 27-41.

Anjum S. I., Amjad U., Khalid A.K., Mohammad A., Hikmatullah K., Hussain A., Muhammad A.B., Muhammad T., Mohammad J. A., Hamed A G., Nuru A. et Chandra K. D, (2018). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

Anjum S. I., Amjad U., Khalid A.K., Mohammad A., Hikmatullah K., Hussain A., Muhammad A.B., Muhammad T., Mohammad J. A., Hamed A G., Nuru A. et Chandra B. Goodon, (1997). Guide pratique d'analyse dans les industries des céréales. *Tec. et Doc. P* 346, 347-353,354.

B

Bankova, V, (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM*. 2: 29-32

Banskota AH, Tezuka Y, Adnyana IK, et al. (2001) Hepatoprotective and anti-*Helicobacter pylori* activities of constituents from Brazilian propolis. *Phytomedicine* 8: 16–23

Barbaric M.,Katarina M.,Mirza B.,Baus M.,Asja S., Zeljko D., Marica M. (2011). Bacteriostatic activity of propolis polyphenols and flavonoids upon *Escherichia coli*.

Benguedouar L, Boussenane HN, Wided K, (2008). Efficiency of propolis extract against mitochondrial stress induced by antineoplastic agents (doxorubicin and vinblastin) in rats. *Indian J Exp Biol* 46: 112–9

Benkovic V, Knezevic AH, Dikic D, (2009). Radioprotective effects of quercetin and

Références bibliographiques

- ethanolic extract of propolis in gamma- irradiated mice. *Arh Hig Rada Toksikol* 60: 129–38
- Bhadoria M, Nirala SK, Shukla S, (2008).** Multiple treatment of propolis extract ameliorates carbon tetrachloride induced liver injury in rats. *Food Chem Toxicol* 46: 2703–12
- Boyanova L, Gergova G, Nikolov R, (2005).** Activity of Bulgarian propolis against 94 *Helicobacter pylori* strains in vitro by agar-well diffusion, agar dilution and disc diffusion methods. *J Med Microbiol* 54: 481–3
- Bufalo C.,Joao M.,Cadeias M.G.,Sforcin J.M, (2007).** In vitro cytotoxic effect of Brazilian green

C

- Caillas A.,(1974)** .Le rucher de rapport (les produits de la ruche), édition syndicat national d'apiculture, 5rue de Copenhague 75008 paris, 534p.
- Cardinault N., Cayeux M.O. EtPercie Du Sert P. (2012).** La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*.10 : 298-304
- Chauvin R, (1968).** pollen cest moi ,revue d'apiculture française n 416 p 20 .
- Chen CN, Wu CL, Lin JK, (2007).** Apoptosis of human melanoma cells induced by the novel compounds propolin A and propolin B from Taiwanese propolis. *Cancer Lett* 245: 218–31
- Chopra S, Pillai KK, Husain SZ, (1995).** Propolis protects against doxorubicin-induced myocardial pathology in rats. *Exp Mol Pathol* 62: 190–8
- Choudhari, M, K; Punekar, S, A; Ranade, R, V et Paknikar K, M, (2012).** Antimicrobial activity of stingless bee (*Trigona* sp.) propolis used in the folk medicine of Western Maharashtra, India. *Journal of Ethnopharmacology*.
- Coelho LG, Bastos EM, Resende CC, (2007).** Brazilian green propolis on *Helicobacter pylori* infection. a pilot clinical study. *Helicobacter* 12: 572–4
- composition chimique des extraits éthanolique de propolis et son effet sur les cellules Hela concentration , extracts and intake period on seric biochemical variables.

D

- Dalben-Dota KF, Faria MG, Bruschi ML, (2010).** Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from vaginal exudates. *J Altern Complement Med* 16: 285–90
- De Castro SL, Higashi KO, (1995).** Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosoma cruzi*. *J Ethnopharmacol* 46: 55–8
- Debuyser E, (1984).** La propolis, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, édition DIMATEL, 34p.

Références bibliographiques

Dobrowolski JW, Vohora SB, Sharma K, (1991). Antibacterial, antifungal, antiamoebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J Ethnopharmacol* 35: 77–82

Docteur Yves Donadieu, (1981). les produit de la ruche.

Dolci P, Ozino OI , (2003). Study of the in vitro sensitivity to honey bee propolis of *Staphylococcus aureus* strains characterized by different sensitivity to antibiotics. *Ann Microbiol* 53: 233–43

Donadieu Y, (1993). *La propolis thérapeutique naturelle*, 4^e Edition, Paris, Maloine

Donadieu Y, (2008) . *La Propolis* Editions Dangles, Paris, 90p.

Donadieux Y, (1981). *Les thérapeutiques naturelles : la propolis*, Eds. Technique et documentation Lavoisier, Paris

E

Eleni, M; Stratis, E et Chinou, I,(2007). Volatile constituents of propolis from various regions of Greece ,Antimicrobial activity. *Journal of Food Chemistry.* 103: 375-380.

Eon HS, Lee EJ, Yoon BS, (2010). Propolis inhibits the proliferation of human leukaemia HL-60 cells by inducing apoptosis through the mitochondrial pathway. *Nat Prod Res* 24: 375–86

Eric c, (1984). La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. *Université De Nante, Faculté de pharmacie.*
ethnopharmacology .Volum 105 , pages 95-98.

F

Farooqui T, Farooqui A ,(2010). Molecular mechanism underlying the therapeutic activities of propolis: a critical review. *Curr Nutr Food Sci* 6: 186–99

Ferhoum F, (2010).Analyses physicochimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeilles locales (*Apis mellifica intermissa* et *apis mellifica sahariensis*), Mémoire de Magister, université M'hamed Bougara Boumerdes.

Fernandes Junior A, Balestrin EC, Betoni JE, (2005). Propolis: anti-*Staphylococcus aureus* activity and synergism with antimicrobial drugs. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 100:563–6

G

Gardana C, Simonetti P ,(2011). Evaluation of allergens in propolis by ultra-performance liquid chromatography/tandem mass spectrometry. *Rapid Commun Mass Spectrom* 25:

Références bibliographiques

1675–82

Ghedira K., Goetz P. et Le Jeune R. (2009). Propolis. *Phytothérapie*. 7:100-105.

Ghisalberti E. L.(1997). Propolis: a review. *Bee World* 60: 59 – 84.

Gomez-Romero M, Arraez-Roman D, Moreno-Torres R, (2007). Antioxidant compounds of propolis determined by capillary electrophoresis-mass spectrometry. *J Sep Sci* 30: 595–603

Gonzalez RR, Rodriguez D, Gonzalez S, (1994). Hepatoprotective effects of propolis extract on paracetamol-induced liver damage in mice. *Phytother Res* 8: 229–32

Gregoris E, Stevanato R (2010). Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food Chem Toxicol* 48: 76–82

I

Ishida, V, F, C; Negri, G; Salatino, A et Bandeira, M, F, C, L, (2011). A new type of Brazilian propolis: Prenylated benzophenones in propolis from Amazon and effects against cariogenic bacteria. *Journal of Food Chemistry*. 125: 966-972.

K

K. D. (2018). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*.

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

Koo H, Rosalen PL, Cury JA, (2002). Effects of compounds found in propolis on *Streptococcus mutans* growth and on glucosyltransferase activity. *Antimicrob Agents Chemother* 46: 1302–9

Krell R. (1996). Value added product from beekeeping . food and agriculture organisation of

Kumazawa SH, Nakayama T ,(2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chem* 84: 329–39

L

Lagnika L, (2005). Etude phytochimique et activité biologique de substances naturelles isolées de plantes béninoises, Thèse de doctorat, Université Louis Pasteur, sciences pharmaceutiques, 268p

Références bibliographiques

Lahouel MFJ, (2004). Role of flavonoids in the prevention of haema- totoxicity due to chemotherapeutic agents. *Haema* 7: 313–20

Lebeda Nis, (1976). Essais de toxicité chronique de la propolis sur les rats blancs

Lejeune. B. ; Pourrat, A. et Dehmouche. H,(1988). Propolis utilisation en dérmocosmétique. *Parfums, Cosmétiques, Aromes*: 73-77.

Li – Chang Lu.; Yue-Wen Chen. ; Cheng-Chun Chou, (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *International Journal of Food Microbiology* 102:213-220.

Liu AL, Wang HD, Lee SM, (2008). Structure-activity relationship of flavonoids as influenza virus neuraminidase inhibitors and their in vitro anti-viral activities. *Bioorg Med Chem* 16: 7141–7

Lu LC, Chen YW, Chou CC, (2005). Antibacterial activity of propolis against *Staphylococcus aureus*. *Int J Food Microbiol* 102: 213–20

M

Mani F., Damasceno H ., Novelli E., martins E. ,sforcin M, (2006) . propolis effet sur different

Marcucci M.C, (1995).Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*.26 (2), 83–99

Marjorie M.C, (1999). Plant products as antimicrobial agents’ clinical microbiology revies.564- 582

Meyer.W (1956). Propolis bees and their activities, edition Bee world, 36p

Mizuno. M.; linuma. M.; et Kato. H, (1987). Useful ingredients and biological activity

Moudir Naima, (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne. . Thèse de magister en chimie. Université Mohamed Boudiaf,M’sila.

Murad JM, Calvi SA, Soares AM, (2002). Effects of propolis from Brazil and Bulgaria on fungicidal activity of macrophages against *Paracoccidioides brasiliensis*. *J Ethnopharmacol* 79: 331–4

Najafi MF, Vahedy F, Seyyedini M, (2007). Effect of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnology* 54: 49–56

N

Neumann. D.; Gotze G.; et Binus. W,(1986). Clinical study of the testing of the inhibition of

Références bibliographiques

plaque and gingivitis by propolis. Stomatologie der DDR: 677-681

Nolkemper S; Reichling J; Sensch K, H; Schnitzler P, (2010). Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts. Phytomedicine. 17: 132-138.

Q

Onlen Y, Tamer C, Oksuz H, (2007) Comparative trial of different anti-bacterial combinations with propolis and ciprofloxacin on *Pseudomonas keratitis* in rabbits. Microbiol Res 162: 62–8

organization of the United Nations Rone.

Orsolich N (2010). A review of propolis antitumour action in vivo and in vitro. JAAS 2: 1–20

Ozcan M (2004). Inhibition of *Aspergillus parasiticus* NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. J Med Food 7: 114–6

P

Pagliaron, A, C; Orsatti, C, L; Búfalo, M, C; Missima, F; Júnior, J, P, A et Sforcin, J, M. Park JH, Lee JK, Kim HS, (2004). Immunomodulatory effect of caffeic acid phenethyl ester in Balb/c mice. Int Immunopharmacol 4: 429–36

Pavilonis A, Baranauskas A, Puidokaite L, (2008). Anti- microbial activity of soft and purified propolis extracts. Medicina (Kaunas) 44: 977–83

Pierre jean prost ; pierre medori raul (1984).apiculture .Ed.B.

Pratsinis H; Kletsas D; Melliou E et Chinou I (2009). Antiproliferative activity of Greek propolis. Propolis effects on pro-inflammatory cytokine production and Toll-like receptor 2 and 4 expression in stressed mice. Journal of International Immunopharmacology. 9: 1352-1356.

R

R. KRELL., (1996). Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5.

Raghukumar R, Vali L, Watson D, (2010). Antimethicillin- resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) activity of ‘pacific propolis’ and isolated prenylflavanones. Phytother Res 24: 1181–7

Ratajczak I, Waskiewicz A, Wozniak M, Mrowczynska L, Rogozinski M. (2019) .The role of seasonality on the chemical composition, antioxydant activity and cytotoxicity of polish propolis in human erythrocytes .Revista Brasileira de Farmacognosia

Ribéreau-Gayon, (1968). Les composés phénolique des végétaux. Ed Dunod

Références bibliographiques

Rossi A, Ligresti A, Longo R, (2002). The inhibitory effect of propolis and caffeic acid phenethyl ester on cyclooxygenase activity in J774 macrophages. *Phytomedicine* 9: 530–5

S

Salah Abd alah ; les produit d'abeille, valeur nutritionnelle et thérapeutique. Adan 2003.

Scazzocchio F, D'Auria FD, Alessandrini D, (2006). Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiol Res* 161: 327–33

Serdjan stepanovic, Natasa Antic, Ivana Dakic, Milena Savabic-valhovic (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs, *Journals Microbial Reasearche* 158, 353-357

Severine (2014) . Systems Biology Of The Secondary Metabolism in Filamentous Fungi, Thèse de doctorat, universite of Biology and Biological Engineering Chalmers University of Technology Göteborg, Sweden

Sforcin JM, Bankova V (2011). Propolis: is there a potential for the development of new drugs? *J Ethnopharmacol* 133: 253–60

Shigenori Kumazawa.; Jun Nakamura.; Masayo Murase.; Mariko Miyagawa.; Mok-Ryeon Ahn et Shuichi Fukumoto.(2008). Plant origin of Okinawa propolis: honeybee behaviour observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften* 95:781–786.

Shimizu T, Hino A, Tsutsumi A, (2008). Anti-influenza virus activity of propolis in vitro and its efficacy against influenza infection in mice. *Antivir Chem Chemother* 19: 7–13

Shinmei Y, Yano H, Kagawa Y, (2009). Effect of Brazilian propolis on sneezing and nasal rubbing in experimental allergic rhinitis of mice. *Immunopharmacol , Immunotoxicol* 31: 688–93

Speciale A, Costanzo R, Puglisi S, (2006). Antibacterial activity of propolis and its active principles alone and in combination with macrolides, beta-lactams and fluoroquinolones against microorganisms responsible for respiratory infections. *J Chemother* 18: 164–71

Stepanovic S, Antic N, Dakic I, (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiol Res* 158: 353–7

Szliszka E, Czuba ZP, Domino M, (2009). Ethanolic extract of propolis (EEP) enhances the apoptosis-inducing potential of TRAIL in cancer cells. *Molecules* 14: 738–54

T

Tétart, (2001). L'abeille et l'apiculture. Domestication d'un animal cultivé. *Techniques et Culture*, 37, 173-196.

the united nations Rone . chapitre 5

Références bibliographiques

Tosi, E, A; Ré, E; Ortega, M, E et Cazzoli, A, F, (2006). Food preservative based on propolis.

U

Uzel A, Sorkun K, Oncag O, (2005). Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiol Res* 160: 189–95

V

Velikova M, Bankova V, Sorkun K, (2000). Propolis from the Mediterranean region: chemical composition and antimicrobial activity. *Z Naturforsch C* 55: 790–3

W

Waridel p, (2003). Investigation phytochimique des plantes aquatique potangeton pectinatus (potamogetonaceae). Thèse doctorat university de lausanne.

Wilkinson J.M, (2006). Methods for testing the antimicrobial activity of extracts. *Modern Phytomedicine*.157-165.

X

Xu BH, Shi MZ, (2006). An in vitro test of propolis against *Tricho-monas vaginalis*. *Zhongguo Ji Sheng Chong Xue Yu Ji Sheng Chong Bing Za Zhi* 24: 477–8

Y

Yang HY, Chang CM, Chen YW, (2006) . Inhibitory effect of propolis extract on the growth of *Listeria monocytogenes* and the mutagenicity of 4-nitroquinoline-N-oxide. *J Sci Food Agric* 86: 937– 43

Z

ZHIRI A. et BAUDOUX D. Huiles essentielles chémotypées et leurs synergies

Annexe

Annexe

a- Appareillage :

- Etuve de stérilisation à 50°C, 37°C, 25°C
- Balance
- Autoclave
- Bain-marie
- Agitateur vortex
- Réfrigérateur à 37°C
- Bec Benzène
- Spectrophotomètre UV
- pH mètre

b- Verrerie et accessoires:

- Fioles
- Tubes à essais stériles
- Becher
- Pince
- Boîtes de pétrir ondes 90mm
- ErlenMeyer
- Les pipettes graduées
- Les pipettes pasteurs
- Micropipettes
- Antonoires
- Les écouvillons
- Papier filters
- Les disques 9m

Annexe

c- Réactifs:

- Eau physiologique
- Alcool éthylique à 75% , 96%
- Méthanol
- Eau distillée stérile
- Chlorure de fer III FeCl_3 (5%)
- Chlorure d'aluminium AlCl_3
- Acide sulfurique(95%)
- FeCl_3 (9%)

- Dragendorff

- Fehling A et B

- Plomb

- Fehlink
- Carbonate de sodium(20%)
- Hydroxyde de sodium
- Milieu de culture
 - Gélose Sabouraud
 - Gélose Mueller Hinton