

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Blida-1-
Faculté Des Science De La Nature Et De La Vie
Département de Biotechnologie



Mémoire en vue de l'obtention du Master en Biotechnologie

Option : Biotechnologie des plantes Aromatiques et Médicinales et Des Produits Naturels

Thème :

Caractérisation physico-chimique de la propolis issue du Nord Algérien et évaluation de quelques activités biologique et formulation cosmétique

Soutenu : 19/09/2017

Présenté par :

Assen Meriem

Ouadfeul Sabrina

Devant le jury :

Mme Mefti. H	MAA	UBD1	Présidente
Mme Moumene. S	MAA	UBD1	Examinatrice
Mme Belguendouz. R	MCA/BPO	UBD1	Promotrice
Mr Bouchareb Ab.M	MC/H.F	UBD1	Co-promoteur

PROMOTION : 2016-2017

Résumé

La propolis est une substance résineuse collectée par les abeilles à partir de différentes plantes. Ce produit a été longtemps utilisé comme remède naturel. De nombreux travaux ont mis en évidence plusieurs activités biologiques de cette substance. Notre étude s'intéresse à la caractérisation physico-chimique et l'étude des activités biologiques de la propolis du nord Algérien issue de deux régions différentes (Sidi Moussa et Ouled Yaich). Les résultats montrent que les deux échantillons de propolis sont de nature acide avec un pH variant entre 4.14 et 4.73 et une acidité entre 5,24 et 6,13. L'étude des effets antimicrobienne montre que l'échantillon de Sidi Moussa possède un énorme pouvoir antimicrobien par rapport à l'échantillon d'Ouled Yaich. Aucune activité inhibitrice d'extrait éthanolique n'a été trouvée contre la bactérie *Escherichia coli*, une meilleure activité antibactérienne contre *Morganella* et une grande sensibilité de *Saccharomyces cerevisiae* à la propolis. L'évaluation de l'activité anti-inflammatoire *in vivo* avec trois dilutions 3%, 5% et 10% par gavage des souris a provoqué une réduction significative de l'inflammation induite par la carraghénine. La réduction de l'œdème était aussi importante que celle du Diclofénac pour l'extrait éthanolique de la propolis d'Ouled Yaich et de Sidi Moussa. L'activité anti-oxydante a révélé un meilleur pouvoir antioxydant pour l'extrait éthanolique de Sidi Moussa avec une IC₅₀ de l'ordre 0.199 mg/ml par rapport à l'extrait éthanolique d'Ouled Yaich qui a montré une IC₅₀ de l'ordre de 0.63mg/ml. Nous concluons que la propolis de Sidi moussa possède une meilleur activité anti-inflammatoire, antimicrobien et anti-oxydante par rapport à la propolis d'Ouled Yaich qui est due probablement aux couvert végétal de la région.

Mots clés : Propolis, région, activité biologiques, caractéristiques physico-chimiques.

Abstract

Propolis is a resinous substance collected by bees from different plants. This product has long been used as a natural remedy. Many studies have revealed several biological activities of this substance. Our study is concerned with the physicochemical characterization and the study of the biological activities of the propolis of the Algerian north from two different regions (Sidi Moussa and Ouled Yaich) . The results show that the two samples of propolis are of acid nature with a pH varying between 4.14 and 4.73 and an acidity between 5.24 and 6.13. The study of the antimicrobial effects shows that the Sidi Moussa sample has an enormous antimicrobial power compared to the Ouled Yaich sample. No inhibitory activity of ethanol extract was found against the *Escherichia coli* bacterium, better antibacterial activity against *Morganella* and a high sensitivity of *Saccharomyces cerevisiae* to propolis. Evaluation of the anti-inflammatory activity in vivo with three 3%, 5% and 10% dilutions by gavage of the mice resulted in a significant reduction in carrageenan-induced inflammation. The reduction of edema was as important as that of Diclofenac for the ethanolic extract of the propolis of Ouled Yaich and Sidi Moussa. The antioxidant activity revealed a better antioxidant capacity for the ethanolic extract of Sidi Moussa with an IC₅₀ of the order of 0.199 mg / ml relative to the ethanolic extract of Ouled Yaich which showed an IC₅₀ of the anti- order of 0.63mg / ml. We conclude that Sidi moussa propolis has better anti-inflammatory, antimicrobial and antioxidant activity than Ouled Yaich's propolis, which is probably due to the vegetation cover of the region.

Keywords

Propolis (Sidi Moussa, Ouled Yaich), anti-oxidant, anti-inflammatory, antimicrobial. Biological activities. Physico-chemical characteristics.

ملخص

الدنج هو مادة راتنجية جمعها النحل من النباتات المختلفة. وقد استخدم هذا المنتج منذ فترة طويلة كعلاج طبيعي. وقد كشفت دراسات عديدة عن العديد من الأنشطة البيولوجية لهذه المادة. وتهتم دراستنا بالتوصيف الفيزيائي والكيميائي ودراسة الأنشطة البيولوجية لعكبر الشمال الجزائري من منطقتين مختلفتين (سيدي موسى وأولاد يعيش). أظهرت النتائج ان عيارتي البروبوليس هما من الطبيعة الحمضية مع درجة حموضة تتراوح بين 4.14 و 4.7 وحموضة بين 5.24 و 6.13. وتبين دراسة الآثار المضادة للميكروبات أن عينة سيدي موسى لديها قدرة هائلة مضادات الميكروبات مقارنة بعينة أولاد يعيش. لم يتم العثور على نشاط مثبت لاستخلاص الإيثانول ضد البكتيريا *Echerichia coli*، أفضل نشاط مضاد للجراثيم ضد *Morganella* وحساسية عالية من *Saccharomyces cerevisiae* إلى دنج. تقييم النشاط المضاد للالتهابات في الجسم الحي مع ثلاثة تركيزات 3%، 5% و 10% من قبل غافاج من الفئران أدى إلى انخفاض كبير في التهاب الناجم عن Carraghénine. وكان الحد من وذمة أهمية كما ديكلوفيناك لاستخراج الإيثانوليك من دنج أولاد يعيش وسيدي موسى. كشف النشاط المضاد للأكسدة عن قدرة أفضل للأكسدة لمستخلص الإيثانول في سيدي موسى مع IC50 لترتيب 0.199 ملغم / مل بالنسبة للمستخلص الإيثانولي من أولاد يعيش الذي أظهر IC50 من المضادة للالتهابات، من أجل 0.63 mg / مل. نستنتج أن عكبر سيدي موسى لديه نشاط مضاد للالتهابات ومضادات الميكروبات ومضادات الأكسدة أفضل من دنج أولاد يعيش، والذي ربما يرجع إلى الغطاء النباتي للمنطقة.

الكلمات الدالة

دنج (سيدي موسى، أولاد يعيش)، المضادة للأكسدة، المضادة للالتهابات، مضادات الميكروبات. الأنشطة البيولوجية. الخصائص الفيزيائية والكيميائية

Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier Dieu, notre créateur pour nous avoir donné la force pour accomplir ce travail.

*Nous adressons tout d'abord nos remerciements les plus sincères, au **Mme Belguendouz R**, notre promotrice pour son grand soutien et ses conseils considérables, et nous remercions notre Co-promoteur **Dr Bouchareb Ab.M**.*

Nous voudrions également remercier les membres du jury pour avoir accepté d'évaluer ce travail et pour toutes leurs remarques et critiques.

Mes remerciements s'adressent également au Directeur du Complexe Antibiotical de Médéa et directeur de laboratoire d'hygiène de Blida, conseils dans les différentes étapes du projet, a contribué grandement à l'élaboration de ce travail.

*Nous associons volontiers, **Dr LATRECH Hamidou** directeur de la société miel des nomades et président de l'ANCEF (association nationale pour la culture éducation et la formation) Nous vous remercions pour l'intérêt que vous avez porté à ce travail et pour vos précieux conseils et remarques et nous remercions **Mr Youssef** responsable des ruches au niveau de l'université.*

Il est également très agréable de remercier tous les membres de notre laboratoires de recherche Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales.

Finalement, nous tenons à exprimer notre profonde gratitude à nos familles qui nous ont toujours soutenues et à tout ce qui participe de réaliser ce mémoire. Ainsi que l'ensemble des enseignants et tous ceux qui nous ont aidé et ont contribué à notre formation.

Sabrina et Meriem

Dédicace :

Je dédie ce travail à tous ceux que j'aime :

A Ma mère et Mon père

A mon frère Hichem.

A mon mari

A mes belles sœurs

A toute ma famille et

A tous mes amis

... bien fiable témoignage d'affection

Dédicace

C'est avec une profonde gratitude et sincères mots, que je dédie ce modeste travail à mes chers parents ; qui ont sacrifié leur vie pour ma réussite ils m'ont éclairé le chemin par leurs conseils judicieux.

J'espère qu'un jour, je pourrai leur rendre un peu de ce qu'ils ont fait pour moi, que Dieux leur prête bonheur et longue vie.

*Je dédie aussi ce travail à mes sœurs : **Moufida** et son **mari**, **Amira** et **Dallel**.*

*A mes frères : **Mohamed**, **Nassim**, **Sid-ali** et sa femme **Sabrina**.*

*A mes neveux : **Meriem**, **Abd-salam**, et **Anaïs**.*

*A ma belle-famille et mon fiancé **Mohamed lamine**.*

*A mon binôme **Meriem** pour tout ce qu'elle a fait pour la réussite de ce mémoire.*

*A mes grands-parents **Salah** et **Zohra** et toute la famille **Djellat** et **Ouadfeul***

*A tous mes amis et toute personne qui m'a aidé à franchir un horizon dans ma vie (**Hadia**, **Zahra**, **Soumia**) et tous mes camarades en BPAM.*

Liste des abréviations :

1. AlCl₃ : Chlorure d'aluminium
2. FeCl₃ : Chlorure de fer
3. DO : la densité optique
4. EEP : extrait ethanologique de la propolis
5. ZI : zone d'inhibition
6. MH : Mueller Hinton
7. D : diamètre de zone d'inhibition
8. IC₅₀ : concentration inhibitrice de 50 %
9. SM : Sidi Moussa
10. OY : Ouled Yaich
11. Qté : quantité
12. AG : acide gallique
13. Ech : échantillon
14. PPD : patte postérieure droite
15. PPG : patte postérieure gauche
16. P : Propolis
17. ATCC : American Type Culture Collection
18. BPAM : Biotechnologie des Plantes Aromatiques et Médicinales.
19. HPLC : la chromatographie en phase liquide à haute performance (high pressure liquid chromatography).

Glossaire

Antagonisé : un antagoniste est une molécule interagissant avec un récepteur membranaire ou récepteur nucléaire et bloquant ou diminuant l'effet physiologique d'une autre molécule. **(Wikipédia)**.

ATCC : l'Américain Type Culture Collection est de loin le plus grand producteur de ces cultures. Les Difco Laboratoires et les BBL Microbiologiste Système sont surtout des distributeurs qui s'approvisionnent essentiellement auprès d'ATCC. Les cultures sont en général lyophilisées et chaque souche de culture ATCC a son propre numéro codé d'identification ou de référence, elles sont fournies en ampoules de verre et conservées sous réfrigération (4-8 °) avant emploi. **(FAO, 1992)**.

Carraghénine : provoque une réaction inflammatoire, c'est une gélatine végétale extraite de la plante *Chondrus crispus* (Algue rouge comestible-légume)**(Colot, 1972)**.

Halo translucide : Lumière transparent diffuse de forme circulaire autour d'une zone lumineuse **(L'internaute)**.

HPLC : La chromatographie en phase liquide à haute performance est une technique de séparation analytique et/ou préparatrice de molécules présentes dans un mélange. **(Wikipédia)**.

Pharmacotoxicologie : est une discipline scientifique du vivant, subdivision de la biologie, qui étudie les mécanismes d'interaction entre une substance active et l'organisme, comme l'élaboration d'un médicament ou son amélioration. **(Wikipédia)**.

Le Tween 80 (polysorbate 80) est un tensioactif non ionique et un émulsifiant souvent utilisée comme complément dans divers milieux de culture dans un réglage du laboratoire et dans les aliments et les cosmétiques. Ce composé synthétique est un liquide jaune soluble dans l'eau visqueux. **(Acumedia, 2017)**.

Liste des tableaux

Tableau 1 : Composition chimique de propolis purifiée.....	10
Tableau 2 : Souches bactériennes et fongiques utilisées dans la réalisation de l'activité antimicrobienne.....	19
Tableau 3 : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.....	25
Tableau 4 : La différente concentration et les témoins de gavage des souris au temps T0....	30
Tableau 5 : Rendement des polyphénols totaux des deux échantillons.....	35
Tableau 6 : résultat du pH des deux échantillons de propolis.....	35
Tableau 7 : Résultats du dosage de l'acidité titrable des deux échantillons.....	36
Tableau 8 : Résultats de présence ou absence des compositions chimiques.....	36
Tableau 9 : teneur de polyphénols dans la matière brute de la propolis	37
Tableau 10 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 5%.....	38
Tableau 11 : Résultat des zones d'inhibition des témoins positives (antibiotiques et antifongiques).....	39
Tableau 12 : Résultat des zones d'inhibition des témoins négatives (Tween 80).....	39
Tableau 13 : Résultats obtenus des IC ₅₀ des deux extraits éthanoliques.....	46
Tableau 14 : les résultats d'évaluation du poids des pattes postérieures des souris....	Annexe 1
Tableau 15 : pourcentage d'œdème et réduction d'œdème des quatre lots	Annexe 1
Tableau 16 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%.....	Annexe 4
Tableau 17 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 20%	Annexe 4

Liste des figures

Figure 1 : Reine, Ouvrières, Faux bourdons, les abeilles, et l'anatomie d'une ouvrières.....	3
Figure 2 : pin (<i>pinus sp</i>)	4
Figure 3 : résine sécrété par le bourgeon de peuplier	5
Figure 4 : récolte de propolis par grattage des cadres de la ruche.....	7
Figure 5 : récolte par grilles	7
Figure 6 : composition chimique de la propolis (Barbarié et <i>al.</i> , 2011).....	10
Figure 7 : Propolis brute.....	20
Figure 8 : Macération de propolis dans l'éthanol sous agitation.....	21
Figure 9 : Filtration des deux échantillons.....	21
Figure 10 : Evaporation des deux échantillons par un Rota vapeur, et l'extrait obtenu après l'évaporation.....	22
Figure 11 : détermination du pH par spectrophotomètre.....	23
Figure 12 : dosage de l'acidité titrable.....	23
Figure 13 : Extrait éthanolique (l'infusé).....	24
Figure 14 : Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux.....	26
Figure 15 : gavage réalisé à l'aide d'une sonde gastrique.....	31
Figure 16 : Principale étapes de l'activité antioxydant.....	33
Figure 17 : le mélange de savon sur le bain mari	34
Figure 18 : le mélange de savon dans le moule.....	34
Figure 19 : Démoulage et découpe de savon.....	34
Figure 20 : présence des sucres.....	37
Figure 21 : présence des tanins	37
Figure 22 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%..	38

Figure 23 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 20%..	38
Figure 24 : les différentes ZI de croissance pour certaines souches en réaction avec la propolis, après 24 heures d'incubation.....	40
Figure 25 : variation des pourcentages d'œdème des pattes gauches et des droites des souris traités	43
Figure 26 : Variation de pourcentage de réduction d'œdème des six lots traité.....	44
Figure 27 : Pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon d'Ouled Yaiche.....	45
Figure 28 : Pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon de Sidi Moussa.....	46
Figure 29 : Changement de couleur de DPPH de violet vers le jaune	Annexe 3
Figure 30 : Résultats de la ZI dans <i>Aspergillus niger</i> (a gauche l'échantillon d'Ouled Yaich et a droite l'échantillon de Sidi Moussa) a concentration 20%.....	Annexe 3
Figure 31 : Résultat des zones d'inhibition des témoins positives (antibiotiques et antifongiques).....	Annexe 3
Figure 32 :resultats de temoin positif dans <i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Annexe 4
Figure 33 : resultats de temoin positif dans <i>Aspergillus niger</i>	Annexe 4
Figure 34 :resultats de temoin positif dans <i>Candida albicans</i>	Annexe 4
Figure 35 : résultats des ZI des deux échantillons de propolis à concentration 20% .	Annexe 4
Figure 36 : emplacement des ruches dans la region d'Ouled yaich	Annexe 4
Figure 37 : emplacement des ruches dans la region de Sidi moussa.....	Annexe 4
Figure 38 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	Annexe 4
Figure 39 : variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration des antioxydants de référence.....	Annexe 4

Sommaire

Introduction.....	1
<i>Chapitre I : partie bibliographique</i>	
I-1-Historique.....	2
I-2-Définition et étymologie.....	3
I-3-Origine de la propolis.....	4
I-4-Description organoleptique et physicochimique de la propolis.....	5
I-5-Récolte de la propolis.....	5
I-5-1-Récolte par l'abeille	5
I-5-1-1-Condition de récolte par l'abeille	6
I-5-1-2-Procédés de récolte	6
I-5-2- Récolte par l'homme	7
I-6-Conservation de propolis	7
I-7-Extraction	7
I-8-Utilisation de propolis	7
I-8-1- Utilisation de la propolis par l'abeille	8
I-8-2- Utilisation la propolis par l'homme.....	8
I-8-2-1- Le Cosmétique	8
I-8-2-2-Médecine.....	9
I-8-2-3-Technologie alimentaire	9
I-9-Composition chimique de la propolis brute	9
I-10-Composition chimique de la propolis purifiée selon l'activité pharmacologique	11
I-10-1 Flavonoïdes	11
I-10-2 Les phénols	12
I-11- La différence thérapeutique selon l'emplacement géographique	12
I-12-Propriétés antimicrobiennes de la propolis.....	13

I-12-1- Activité antibactérienne	13
I-12-1-1-Mode d'action	15
I-12-1-2- Synergie	15
I-12-2- Activité antifongique	16
I-12-2-1-Synergie	16
I-12-3-activité antivirale	17
I-12-3-1- Mode d'action	17
I-12-4- Activité antiparasitaire	17
I-12-5- Activité anti-inflammatoire	18
I-12-6-Propriétés anti-oxydantes	18

Chapitre II : Matériels et méthodes

II-I-Matériels	19
II-I-1- Matériel biologique	19
II-I-1-1-Propolis	19
II-I-1-2-Souches microbienne	19
II-I-1-3-Matériel animale	20
II-I-2-Matériels non biologique	20
II-2-Méthodes	20
II-2-1- Traitement de l'échantillon	20
II-2-1-1-Traitement préliminaire de la propolis	20
II-2-1-2-Traitement technologique de la propolis	21
II-2-2-Méthodes d'analyses physico-chimiques	22
II-2-2-1-Détermination du pH	22
II-2-2-2- Détermination de l'acidité titrable	23
II-2-2-3-Screening chimique	24
II-2-2-3-1- préparation de l'infusé	24
II-2-2-3-2- Détermination de la teneur en polyphénols totaux	24
II-2-2-3-3-Détermination de la présence de flavonoïdes	26

II-2-2-3-4- Détermination de présence tanins	26
II-2-2-3-5-Détermination des sucres	26
II-2-2-3-6-Déterminaton des alcaloïdes	27
II-2-3- Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de l'extrait de propolis.....	27
II-2-3-1- Détermination des diamètres des zones d'inhibition.....	27
II-2-3-2-Lecture des résultats	29
II-2-4-Etude de l'activité anti inflammatoire	29
II-2-4-1-Mode opératoire.....	29
II-2-4-2-Expression des résultats.....	31
II-2-5-Méthodes de l'activité anti-oxydante	32
II-2-5-1-Mode opératoire.....	32
II-2-5-2-Expression des résultats.....	32
II-2-6-Fabrication de savon à base de propolis.....	33
II-2-6-1-Protocole expérimentale	33

Chapitre III : Résultats et discussion

III-1-Résultats	35
III-1-1-Rendement en polyphénols.....	35
III-1-2-Résultats des analyses chimiques	35
III-1-2-1-Résultats du pH	35
III-1-2-2-Résultats de l'acidité titrable	36
III-1-2-3--Screening chimiques	36
III-1-2-3-1-Teneur en polyphénols.....	37
III-1-3- Résultats de l'activité antimicrobienne	37
III-1-4- Résultats de l'activité anti-inflammatoire	43

III-1-4-1- Variation de poids des pattes postérieures gauches et droites des souris	43
III-1-4-2- Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites	43
III-1-4-3- Variation de pourcentage de réduction d'œdème des huit lots	44
III-1-5- Résultats de l'activité anti-oxydante.....	45
Conclusion	47
Référence bibliographique	
Annexe	

Chapitre I : partie bibliographique

Chapitre II : matériels

Et méthodes

Chapitre III :

Résultats et discussion

Conclusion

Introduction

Depuis la nuit des temps, l'Homme a recherché dans la nature un remède à ses blessures et ses maladies, il put grâce à ses expériences et son intelligence d'accumuler un savoir important et diversifié sur les vertus médicinales des ressources naturelles telles que les principes actifs issus des produits de la ruche et des végétaux.

A l'époque d'Aristote, la propolis était appelée les larmes des arbres (**DEBUYSER, 1984**). En effet, c'est une substance naturelle résineuse collectée par les abeilles soit sur les bourgeons d'arbre tels que le peuplier, le chêne, l'aulne, etc., soit sur des conifères, amalgamée à une sécrétion salivaire des abeilles (**Tosi et al., 2006, Marcoucci, 1995, Suraj et al., 2007, Mohsen Najafi et al., 2007**). Elle a une odeur balsamique et une couleur variable selon les origines végétales, elle varie du jaune clair au brun très foncé presque noir (**Tosi et al., 2006**).

Après exploration de cette substance naturelle, ses origines et la façon ou la manière de son utilisation. Nous poserons la question pouvons-nous remplacer les médicaments par la propolis. Généralement, cette substance est constituée de 40 à 50 % de résine de cire (mélange de cire verte d'origine végétale et de cire d'abeille), 5 à 10% d'huiles essentielles, 5% de pollen et 5% de matière divers (organique et minérale) (**Eric, 1984, Tosi et al., 2006, Krell, 1996, Bankova et al., 2000, Dobrowolski et al., 1991, Liqin Jiang et al., 2008**). Le fractionnement de la propolis pour l'identification de ses composés est très difficile.

Dans ce contexte, nous avons opté pour l'étude de l'activité de la propolis algérienne issue de deux régions différentes afin d'évaluer l'impact des conditions biotiques (couvert végétal) et abiotique (climat) sur la composition chimique de la propolis et sur sa activité biologique.

Ce travail est scindé en deux parties, une partie bibliographique rassemblant les informations sur la propolis, l'abeille et les travaux réalisés sur l'activité biologique de l'extrait éthanolique de la propolis et, une partie sur la méthodologie adoptée et les résultats obtenus et en fin nous terminons par une conclusion.

I-1-Historique :

Le mot propolis est d'origine grecque, il signifie « pro » : devant, et « polis » : cité, en se référant aux observations des apiculteurs qui voyaient cette résine à l'entrée de la ruche « devant cité ». Cette résine nommée propolis est utilisée depuis les temps le plus reculés grâce à ses propriétés antibactériennes, immunostimulantes et cicatrisantes (**Nowotnick, 1997**), dans la médecine traditionnelle populaire dans de nombreuses régions du monde (**Sforcin et al., 2000, Nolkemper et al., 2009**).

En raison des résines végétales qu'elle renferme, elle est considérée depuis longtemps dans l'herboristerie traditionnelle comme un remède utile pour combattre les infections de toutes sortes, tant par voie interne que par voie externe. (**Pierre Le François et Françoise Ruby, 2010**).

Elle est, anciennement, beaucoup moins connue que le miel, mais 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 (**Donadiou, 1992**).

Les textes hébreux la nommaient « tzori » et ses propriétés thérapeutiques sont décrites dans l'Ancien Testament, les plaquettes du Moyen Âge Européen décrivent les préparations médicales à base de propolis pour le traitement des maladies de la bouche et des respirations (**Krell, 1996, Bogdanov et al., 2006**).

À Rome, au cours du 1^{er} siècle avant J.C la propolis a été très recherchée sur la voie sacrée ou elle se vendait plus cher que le miel. Chaque légionnaire romain en possédait, une petite quantité sur lui au moment des campagnes militaires (**Marchenay, 1977**).

Puis au 2^{ème} siècle, c'est au tour du médecin Galien d'en faire mention dans ses traités. Au XI^e siècle, le philosophe et médecin Iranien *Abu Ali Iben Sina* connu sous le nom d'Avicenne, note à son propos « la propolis a la qualité de faire éliminer les pointes de flèches et les épines, nettoie facilement et amollit fortement » (**Debuyser, 1984**).

En France, ce n'est qu'au début du 18^{ème} siècle que le terme de propolis apparaît dans les écrits d'Amboise (**chirurgien d'Henri II, de François 1^{er} de Charles IX ainsi que d'Henri III**). À la fin du 19^{ème} siècle la propolis connut un regain de popularité lorsque les médecins de l'armée anglaise l'employèrent pour désinfecter les blessures et faciliter leur cicatrisation durant la guerre des Boers en Afrique du Sud. (**Debuyser, 1984, Donadiou, 1992, Pierre Le François et Françoise Ruby, 2010**). À la fin du 21^{ème} siècle, un important marché de propolis existe en Russie et en Allemagne, c'était un remède populaire qui prétendait soigner tous les maux. On l'employait surtout en usage externe comme anti-infectieux, cicatrisant, adoucissant

et anti-inflammatoire sous forme d'onguent d'emplâtre, de lotion et de fumigation (**Debuyser, 1984**).

Lors de la dernière guerre mondiale, la propolis a été expérimentée dans des cliniques soviétiques, son application est très intéressante dans la médecine vétérinaire empirique pour le traitement des hémorragies et des plaies de toute nature (**Caillas, 1974**).

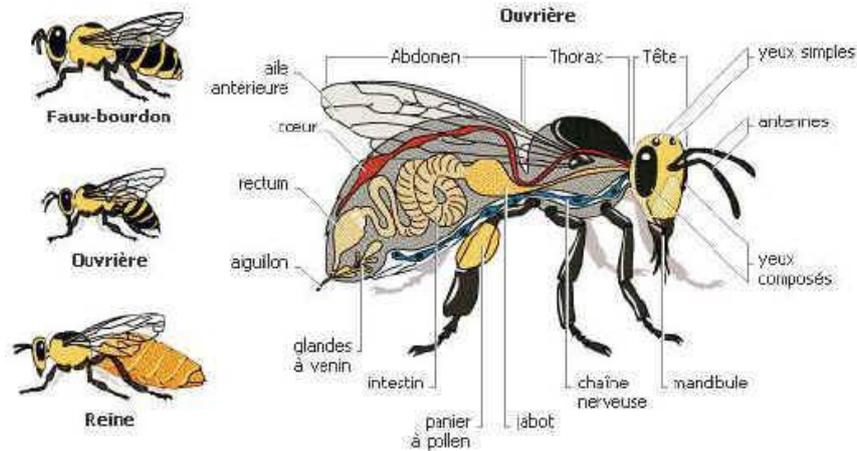


Figure 1 : Reine, Ouvrières, Faux bourdons, les abeilles, et l'anatomie d'une ouvrières.

(fr.pinterest.com)

I-2-Définition et étymologie :

La propolis, qu'on appelle aussi la colle d'abeille, est le nom générique d'une substance naturelle, résineuse, fortement adhésive, collectés par les abeilles *Apis mellifera L*, à partir de bourgeons et feuilles d'arbres et des plantes variées telles que les peupliers, bouleaux, saules, conifères, etc. (**Bankova et al., 2000, Fenge et al., 2008, Nolkemper et al., 2009**), mélangé avec du pollen ainsi que des enzymes sécrétées par les abeilles (**Marcucci 1995, Pellati et al., 2011**). Ces derniers l'utilisent dans la ruche comme une barrière protectrice contre leurs ennemis (**Kumazawa et al., 2003**). Les abeilles l'utilisent à l'entrée de leur ruche pour en protéger l'accès, c'est ce qui indique son étymologie « Pro » signifiant devant ou défense, et « Polis » signifiant la cité (**Ghisalberti E.,1997**). Une autre étymologie Latine a également été avancée venant de l'adverbe « Pro » qui veut dire dans le but et le verbe « Polis » qui signifie enduire (**Shigenori et al., 2008**).

I-3-Origine de la propolis :

Les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient des bourgeons de divers arbres et en particulier.

La propolis a une 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.
- **Une origine externe** : collectée par les abeilles de différentes plantes. Est utilisée à des fins moins importantes telles que l'embaumement de prédateurs.

On pense 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 (**Shigenori 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**).



Figure 2 : pin (*pinus sp*) (*decisionatelier*)



Figure 3 : résine sécrété par le bourgeon de peuplier (*repertoirequebecnature*)

I-4-Description organoleptique et physicochimique de la propolis :

- **Couleur** : Elle varie selon l'âge et l'origine botanique et géographique, du brun vert au brun jaune, brun rouge à rouge foncé (**Bogdanov et al., 2006, Bufalo et al., 2007**).
- **Odeur** : Elle possède une odeur variable suivant son origine, en général arôme agréable douceâtre, mélangé à celui de miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille, etc.) (**Tosi et al., 2006**).
- **Saveur** : sa saveur est souvent acide, parfois elle peut être amère (**Popova et al., 2010**).
- **Consistance** : de façon caractéristique, elle est une substance lipophile, dure et fragile à froid, mais douce, souple, et très collante à chaude, d'où le nom de beeglu. (**Bogdanov et al., 2006, Bufalo et al., 2007**).

Son point de fusion est variable, il se situe vers 60°C à 70°C en moyenne mais peut atteindre 100°C et plus (**Debuyser 1983, Krell 1996**).

- **Solubilité** : La dissolution totale de ces constituants se fait par un mélange approprié de solvants, les plus utilisés sont : l'éther, l'éthanol, l'acétone et benzène, elle est insoluble dans l'eau (**Marcucci 1995**).
- **Densité** : Elle est de l'ordre de 1.2 en moyenne. (**Tosi et al., 2006**)

I-5-Récolte de la propolis :

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par l'abeille puis par l'homme (**Donadieu, 1992**).

I-5-1-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 la 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**).

I-5-1-1-Condition de récolte par l'abeille :

Cette récolte, qui ne répond pas à des règles bien définies et constantes, dépend des nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus notables. (**Debuyser, 1984, Donadieu, 1992**).

➤ **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.

➤ **La race :** selon Chauvin 1968, la tendance à propoliser est : l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasiennne (*Apis mellifica caucasia*) est connue pour son étonnante aptitude à propoliser ; l'abeille punique et tellienne (Algérienne) (*Apis mellifica intermissa*) propolis également beaucoup.

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**).

I-5-1-2-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.

I-5-2-Récolte par l'homme :

La propolis peut être récoltée selon des techniques diverses :

- Par raclage et grattage des cadres ou des parois de la ruche, de préférence par température assez basse, car la propolis est alors dure et friable, se détachant mieux de son support.
- Par l'utilisation de différents dispositifs (grille moulée en matière plastique souple ou en acier inoxydable), qui est posé sur les rayons de la ruche et dont les abeilles s'empressent d'obturer les orifices avec la propolis. La quantité récoltée par l'abeille est très variable en fonction des abeilles et de l'environnement ; elle se situe généralement entre 100 et 300 gramme par an et par ruche (**Caillas 1974, Debuyser, 1983**).



Figure 4 : Récolte de propolis (*originale 2017*) **figure 5 :** récolte par grilles (*originale 2017*)

Par grattage des cadres de la ruche

I-6-Conservation de propolis :

Il faut conserver la propolis dans des bonnes conditions :

- 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-Y.1986**).

I-7-Extraction :

✓ L'extraction par l'alcool à chaud :

La propolis concassée et enveloppée dans un linge et mise à bouillir pendant 1 heure dans un ballon sarmenté d'un réfrigérant ; l'extrait est ensuite filtré, évaporé au bain-marie, et repris par l'eau chaude (**Chauvin, 1968**).

✓ L'extraction par l'eau chaude :

Se pratique exactement de la même façon, on traite généralement 50g de résine/1L de l'eau. Cependant, dans la majorité des essais, les extraits alcooliques se sont montrés légèrement plus actifs que les extraits aqueux (**Chauvin, 1968**).

I-8-Utilisation de propolis :

I-8-1-Utilisation de la propolis par l'abeille :

Tous les apiculteurs connaissent la propolis, avec une production peut importante par ruche. Ce qui constitue d'ailleurs un inconvénient, car avec cette substance, les abeilles collent

La propolis est utilisée par les abeilles comme :

- ✓ Un scellant pour réparer et entretenir les rayons de leurs ruches. **(Gunduz et al., 2005).**
- ✓ Un produit d'étanchéité et d'agent de stérilisation dans les nids d'abeilles. **(Garoui et al., 2011).** Grâce à ses propriétés antibiotiques elle intervient dans l'asepsie partielle dans les alvéoles. **(Caillas, 1974).**
- ✓ Elle sert également à boucher les trous permettant ainsi une meilleure isolation thermique **(Kalogeropoulos et al., 2009, Barbarié et al., 2011).**
- ✓ Lisser les parois internes de la barrière de la ruche. **(Kalogeropoulos et al., 2009. Barbarié et al., 2011).**
- ✓ Protéger l'entrée contre les intrus donc elle sert à édifier une véritable muraille à l'entrée de la cité d'abeilles comme son étymologie nous le rappelle. **(Kalogeropoulos et al., 2009, Barbarié et al., 2011).**
- ✓ Comme protection contre les petits rongeurs et empêche la décomposition des créatures qui ont été tués par les abeilles, après une invasion de la ruche. **(Kalogeropoulos et al., 2009).**
- ✓ La propolis sert aussi à tapisser d'une fine pellicule à l'intérieur des cellules à couvain avant que la reine ne vienne y pondre. **(Caillas, 1974).**
- ✓ Renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire qu'elles sécrètent. **(Caillas, 1974).**

Mise à part l'usage purement mécanique de la propolis en tant que colle ou ciment, son utilisation peut avoir une base chimique qui limite l'apparition des infections. **(Caillas, 1974).**

I-8-2-Utilisation la propolis par l'homme :

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

I-8-2-1-Le Cosmétique :

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique **(Lejeune et al., 1988).** Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus cutanés ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides et anti-inflammatoires, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications **(krell, 1996).**

- Contre les impuretés : points noirs, boutons et pustules.
- Contre l'acné.
- Contre les inflammations provoquées par les micro-organismes.
- Contre les mycoses.

Toutes ces maladies sont désormais combattues par une gamme de plus en plus importantes des produits à base de la propolis sous forme : Dentifrices, crèmes, savants, masques, bains dermatologiques. (Zeitoun, 2009).

I-8-2-2-Médecine :

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- _ Les problèmes cardio-vasculaires.
- _ Appareil respiratoire (pour diverses infections).
- _ Soins dentaires.
- _ Les ulcères.
- _ Les infections des muqueuses et les lésions.
- _ Le cancer.

Elle est utilisée aussi dans le soutien et l'amélioration du système immunitaire (krell, 1996, Neumann et al., 1986).

I-8-2-3-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'étude ont faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis.

D'après la littérature, certains composants identifiés dans les propolis peuvent être très préjudiciables à la santé humaine (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).

I-9-Composition chimique de la propolis brute :

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 (Figure 1, Tableau I) (KRELL 1996, Bankova et al., 2000, Tosi et al., 2006, Barbarié et al., 2011). La

proportion de ces types de substances varie et dépend de l’endroit et le moment de la collecte (Freitas *et al.*, 2007, Nolkemper *et al.*, 2009, Kalogeropoulos *et al.*, 2009, Popova *et al.*, 2010) et la race d’abeille, d’après les résultat qui ont été trouvés par une analyse chromatographique associée à une stréptométrie de masse (CG/MS). (Sibeli, 2005).

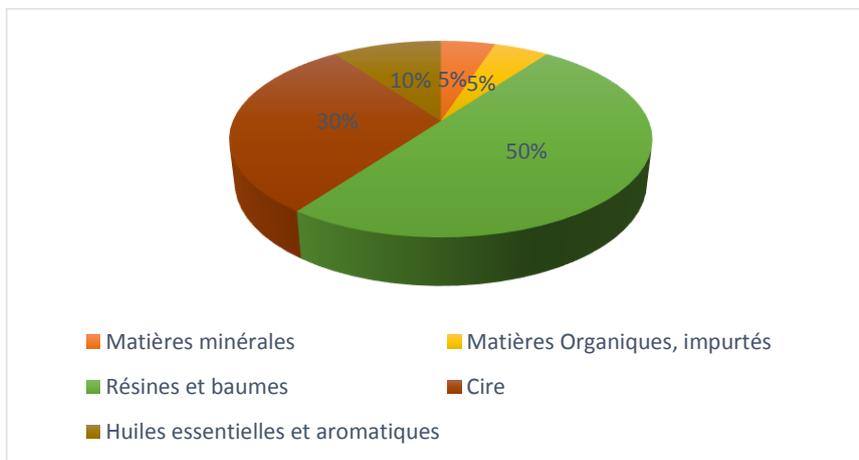


Figure 6 : composition chimique de la propolis (Barbarié *et al.*, 2011)

Tableau 1 : Composition chimique de propolis purifiée

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 aminés 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%

I-10-Composition chimique de la propolis purifiée selon l'activité pharmacologique :

La propolis contient habituellement une variété de composés chimique. L'inventaire complet de ses substances serait fastidieux. Citons toutefois, les poly phénols (flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters), les terpènes, des stéroïdes et des acides aminés (**Tosi et al., 2006**). Leur abondance est influencée par les facteurs géographiques, ainsi que par la saison de collecte. (**Kalogeropoulos et al., 2009**).

Les différents profils thérapeutiques de la propolis sont associés à la présence des types de composés spécifiques, tels que les polyphénols et les isoflavonoïdes (**Gunduz et al., 2005, Mani et al., 2006, Freitas et al., 2006, Kalogeropoulos et al., 2009, Castro et al., 2009, Popova et al., 2010**).

I-10-1-Flavonoïdes :

Les flavonoïdes sont des métabolites secondaires synthétisés par les plantes comme une réponse au stress environnemental et les infections microbiennes (**Kalogeropoulos et al., 2009**). La propolis Comporte pas mal de substances comme la Galangine, Kaempferine, Quercétine, Pinocembrine, La Chrysin, l'Acacétine, Papavérine ... etc. (**Marcucci, 1995, Stefan, 1998, Pellati et al., 2011, Kalogeropoulos et al., 2009**).

Les Galangines, Pinocembrine et Pinostrobin ont été reconnue comme les plus efficaces agents des flavonoïdes contre les bactéries (**Cushine et al., 2007, Yang et al., 2011**).

Tandis que la cytotoxicité a été évaluée pour la chrysin, le kaempférol, acacétin, galangine et la quercétine (**Nolkemper et al., 2009**) et l'activité antifongique pour pinobanksine, pinocembrine, chrysin et galangine (**Yang et al., 2011**).

En 2001 Chirumbolo a marqué que la Chrysin et le kaempférol ont été identifiés comme les principaux composants antiallergiques dans EEP.

Les flavonoïdes ont été signalés qu'ils présentent un large éventail d'activités biologiques, y compris antibactériennes, anti-inflammatoires, antiallergiques, vasodilatatrices et antivirales contre la grippe, les atteintes de la sphère ORL, herpès simplex, adénovirus, coronavirus et rotavirus (**Domerego, 2003, Kalogeropoulos et al., 2009**). En outre, les flavonoïdes inhibent la peroxydation lipidique dans la membrane cellulaire (**Mani et al., 2006**). L'agrégation plaquettaire, la perméabilité capillaire et la fragilité, et l'activité des systèmes enzymatiques dont la cyclo-oxygénase et la lipoxygénase. Sans oublier les effets cardioprotecteurs qui ont également été signalés pour les flavonoïdes par **Mani et al., (2006)**.

D'autre part, **Kedzia et al., (1990)** a signalé que le mécanisme de l'activité antimicrobienne est compliqué et pourrait être attribuée à une synergie entre les flavonoïdes, les hydroxyacides et les terpènes. (**Scheller et al., 1977 et Krol et al., 1993**) ont également observé cet effet (**Murcucci, 1995**).

I-10-2-Les phénols :

Autre métabolites secondaires des végétaux présents dans la propolis. Ce sont les phénols ; Ils sont considérés comme des substances phytochimiques et confèrent à la propolis les propriétés antiseptiques et antimicrobiennes et aromatiques (**Postova et al., 2003, Scazzochioun et al., 2006**).

On trouve dans la propolis de l'Acide Cinnamique, l'alcool Cinnamique, Vanilline, Acide et alcool Benzoïque, Acide Caféique ainsi que l'Acide Férulique et l'Acide Salicylique (**Vanhaelen et vanhaelen-Fastre, 1979, Hale, 2003**).

La Férulique et l'acide caféique ont contribué également à l'action bactéricide de la propolis (**Marcucci, 1995**). Tandis que l'activité antivirale a été étudiée in vitro sur les esters substitués acides cinnamique, une d'entre eux, férulate isopentyle qui a significativement inhibé l'activité infectieuse du virus de la grippe A. (**Nolkemper et al., 2009**).

D'autre part il a été montré que l'acide caféique ester phénéthyle (CAPE) qui est l'un des composants de la propolis a des propriétés anti-tumorale et des propriétés antioxydants ainsi que l'acide cinnamique. (**Gunduz et al., 2005, Buffalo et al., 2007**).

I-11-La différence thérapeutique selon l'emplacement géographique :

La composition chimique de la propolis est qualitativement et quantitativement variable, en fonction de l'écologie des plantes régionales et géographique (**Barbarie et al., 2011**).

En raison de cette dernière (**Marcucci, 1995**) a démontré que les échantillons de propolis d'Europe, d'Amérique du Sud et d'Asie, ont des compositions chimiques différentes (**Kumazawa et al., 2003**), ce qui a été contredit par **Freitas et al., en 2006**, qui ont signalé que de différentes espèces de peuplier sont les principales sources de la propolis dans la zone tempérée, y compris en Europe, en Asie et en Amérique du Nord et les échantillons provenant de ces régions sont caractérisée par leurs composition chimique similaire.

Selon **kumazawa et al. (2003)** la propolis de l'Europe et de Chine contient de nombreux types de flavonoïdes et des acides phénolique, En revanche, les principales composantes de la propolis d'origine brésilienne sont terpénoïdes.

En raison de ces différences dans leurs compositions chimiques, les activités biologiques de la propolis de différentes régions sont également différentes. La propolis brésilienne et la propolis chinoise diffèrent dans leur capacité à inhiber la hyaluronidase et de la libération d'histamine à partir de cellules de rat mâle péritonéale tandis que la propolis allemande possédait une forte activité antimicrobienne contre *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*, et la propolis autrichienne a montré une activité élevée contre *Candida albicans*.

Banskota et al., en 2000 ont rapporté que les extraits méthanoliques à partir de la propolis, des Pays-Bas et de Chine possédait la plus forte cytotoxicité envers les cellules du colon murin carcinome, tandis que l'activité dans les extraits au méthanol de la propolis en provenance du Brésil varié avec l'échantillon. (**Kumazawa et al.**, 2003).

Par la suite **Kalogeropoulos et al.**, (2009) ont montré que l'extrait éthanolique de propolis grec et chypriote sont avérés être très riche en composé bioactifs, possédant des activités antioxydants, antibactériennes et antifongiques. Leur composition a présenté des différences par rapport à la propolis de type européen et des similitudes avec la propolis de l'Est de la Méditerranée. Malgré les différences dans la composition chimique de la propolis de différents emplacements géographiques, les extraits éthanoliques de propolis étudiés possèdent les mêmes activités antibactériennes et antifongiques : Elles ont inhibé les agents pathogènes à Gram positif et les champignons, mais n'ont pas affecté plusieurs bactéries lactiques, l'inhibition a dans tous les cas un spectre plus large.

I-12-Propriétés antimicrobiennes de la propolis :

I-12-1- Activité antibactérienne :

Selon **Chauvin (1968)**, White (1906) était la première personne qui fait l'inventaire de la flore bactérienne de la ruche, mais il est assez étonnant qu'il n'a pas étudié la propolis. C'est jusqu'au 1948 que Kilvalkina a mis en évidence ces propriétés bactéricides et trouve des résultats positifs sur *Bacillus subtilis*, *Bacillus alvei*, *Bacillus propigiosus* et une grande sensibilité des Staphylocoques blancs et dorés et des bacilles pyocyanique. Au contraire il n'obtient pas d'action sur toute une série de *Salmonella*, une série d'*Escherichia* et trois *Proteus*. Par la suite Feuereisl et Kraus 1958 ont montré l'activité de divers extraits de cette substance sur plusieurs souches de bacilles de tuberculose, et ont trouvé que la propolis contient un antibiotique vis-à-vis *Mycobacterium tuberculosis*.

Sur la base de ces résultats, l'activité *in vitro* de la propolis, contre plusieurs souches bactériennes a été rapporté par plusieurs auteurs, qui ont observé une action marquée de la

propolis contre les bactéries Gram-positives, et une activité limitée contre les bactéries à Gram-négatives (Sforcin et al., Kalogeropoulos et al., 2009). Où la croissance des bactéries à Gram-positives est inhibée à des concentrations faible de propolis (0.4%), alors que les bactéries à Gram-négatives ont été moins sensible et elle ne sont inhibée que dans des concentrations beaucoup plus élevées (Sforcin et al., Kalogeropoulos et al., 2009).

En 2006, Scazzocchiou et ses collègues ont évalué l'action de l'extrait d'éthanol de propolis (EEP) sur certaines facteurs de virulences comme la coagulas et la lipase chez les *Staphylococcus sp.* et les résultats ont indiqué que l'EEP avait une importante activité antimicrobienne envers toutes les souches cliniques testées. En outre, ils ont trouvé que la coagulas a été complètement supprimée et la lipase a été fortement réduite.

Nick Kalogeropoulos en 2009 a examiné la sensibilité de dix-huit souches bactériennes, à la fois pathogènes et non pathogènes. De ce nombre dix souches ont présenté une sensibilité pour tous les EEP testés : *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Lactobacillus fermentum*, *Lactobacillus helveticus*, *Lactobacillus bulgaricus* et *Lactobacillus casei*. Contrairement à *Lactobacillus delbrueckii subsp. Delbrueckii* et *Lactobacillus plantarum* qui n'ont présenté aucune inhibition. Et pour les six souches de bactéries lactiques l'inhibition a été plutôt occasionnelle. Cette observation suggère que les faibles concentrations des extraits de propolis pourraient être éventuellement utilisées dans les produits fermentés, visant à inhiber sélectivement la croissance des bactéries pathogènes permettant la survie des souches levain lactique.

Pour finir, à l'heure actuelle ou la lutte contre les maladies nosocomiales est devenue une priorité nationale, rappelons que l'extrait alcoolique de propolis (ou la crème) est un puissant désinfectant pour l'hygiène des mains et des muqueuses, qui exerce les même effets que les produits chimiques usuels sur *Staphylococcus Aureus*, *Proteus mirabilis* ou *Escherichia coli*, sans leurs redoutables effets secondaires et sans provoquer le moindre phénomène de résistance (Domerego 2003). Ce qui a été signalé aussi par Dumont en 2011 qui a trouvé que la propolis est aussi performante que les principaux antibiotiques (*pénicilline*, *streptomycine*, *terramycine*, *chloramphénicol*, etc...). Elle agit indifféremment sur chacun des germes suivants : *Staphylococcus Aureus*, *Staphylococcus albus*, *Streptococcus faecalis*, *Streptococcus haemolyticus*, *Salmonella typhi*, *Saccharomyces cereus*, *Bacterium coli*, *Bacillus stubtilis*, *Candida albicans*, *Proteus vulgaris*. Elle ne provoque aucun trouble, en s'éliminant sans perturber les reins, le foie ou la flore intestinale. (Cushnie et al., 2007).

I-12-1-1-Mode d'action :

Comme les variations de la susceptibilité à la propolis de plusieurs micro-organismes ont été signalées, mais pas leurs mécanismes d'action, des études supplémentaires ont été nécessaires pour expliquer, si la structure cellulaire et la perméabilité à tels composés, ou même des cibles précises des systèmes enzymatiques de la cellule sont impliqués dans l'activité de la sensibilité de la sensibilité microbienne. (Sforcin *et al.*, 2000)

Selon Domerego 2003, des chercheuses japonaises ont montré que la propolis inhibe la croissance microbienne en empêchant la division cellulaire et en provoquant la destruction de la cellule et de la paroi microbienne.

Cushnie *et al.*, 2007 dans leur étude sur l'agrégation de *Staphylococcus aureus* après le traitement avec le flavonol galangine antibactérien ont signalé que le mécanisme d'action de cette activité n'est pas claire, mais des données sont disponibles pour indiquer que l'inhibition des enzymes topoisomérases et la perturbation de la membrane cytoplasmique sont les deux possibilités.

L'inhibition de l'enzyme topoisomérase : où qu'ils représentent la division des cellules qui n'ont pas pu être séparées. Ikigai *et al.*, 1993 postule que les catéchines antibactériennes causent la fusion membranaire, et que cela conduit à une fuite de matières intra-membranaires. Il se peut que Galangine exerce son effet antibactérien de la même manière. (Cushnie *et al.*, 2007).

Sinon, la perturbation de la membrane cytoplasmique, si la Galangine pénètre, elle expose les régions hydrophobes présentes dans la bicouche de phospholipides des membranes bactériennes. (Cushnie *et al.*, 2007).

I-12-1-2-Synergie :

Selon Alessandrini *et al.*, (2006), l'ajout de l'extrait d'éthanol de la propolis aux médicaments antibactériens tels que la gentamycine, la streptomycine, ceftriaxone, l'érythromycine, vancomycine, chloramphénicol et l'ampicilline, augmente considérablement l'effet de ces antibiotiques. Ainsi que la présence de la propolis empêche ou réduit toute accumulation progressive dans la tolérance de staphylocoque aux antibiotiques.

Des travaux antérieurs effectués par Bankova *et al.*, (2011) ont démontré que la propolis exerce des effets synergiques avec les antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne et le ribosome, mais il ne semble pas interagir avec les antibiotiques agissant sur l'ADN ou l'acide folique.

I-12-2-Activité antifongique :

Le pollen, la gelée royale et le miel ne possèdent pas de substance antifongique. Néanmoins, le miel en rayons ne fermente pas grâce à sa forte concentration en sucre. Seule la propolis a une activité antifongique importante, c'est ce qui permet aux cadavres présents dans la ruche dont les abeilles ne peuvent se débarrasser de ne pas moisir (**Debuyser 1984**).

Sur la base de cette observation, beaucoup de travaux ultérieurs ont été effectués dans le but de mettre en évidence cette activité.

Lisa et al., (1989) ont constaté que l'extrait d'éthanol de propolis (EEP) a inhibé beaucoup de *Candida* et de *dermatophytes*, ce qui a été confirmé par la suite par **Fernandes Junior et al., (1994)** qui ont observé la sensibilité d'aussi bien de *Candida albicans*, que *C. parapsilosis*, *C. tropicalis* et *C. guilliermondii* au EEP. (**Kumazawa et al., 2003**).

D'autre part **Lori (1990)** a observé in vitro que les concentrations de la propolis de 5 à 10% empêchent la croissance de *Trichophyton verrucosum*. Egalement, **Freitas et al., (2007)** ont étudié in vitro l'évaluation de l'activité antifongique de l'EEP sur *Cryptococcus neoformans*, qui est l'agent causal de la cryptococcose, et selon leurs résultats, les souches standards ont montré une sensibilité à l'EEP dans presque toutes les concentrations évaluées. Et vu le développement de la résistance de nombreuses souches après le traitement antifongique des thérapies alternatives par la propolis peuvent être effectuées.

Selon des recherches plus récentes, **Yang et al., (2011)** ont signalé que la propolis possède un large spectre d'activité antimicrobienne contre des espèces bactériennes, de levures et de plusieurs espèces de champignons y compris les champignons phytopathogènes tels que *Botrytis*, *Aspergillus*, *Alternaria Nees*, et une forte activité antifongique contre *Penicillium italicum*.

I-12-2-1-Synergie :

Selon Marcucci **1995** la propolis possède une activité antifongique importante contre *Trichophyton* et *Mycrosporium* en présence de propylène glycol, qui interagit en synergie à une concentration de 5% et en combinaison de certains médicaments antimycosiques avec la propolis (10%) et augmente leur l'activité sur les levures et *Candida albicans*.

I-12-3-Activité antivirale :

Il existe peu de données à partir d'études d'effet antiviral de la propolis. Dans les études virologiques effectués avec des extraits de propolis obtenus à partir de divers solvants, certains extraits affectent la reproduction des virus grippaux A et B (**Nolkemper et al., 2009**), virus de la vaccine, le virus de la maladie de Newcastle, et le virus de la grippe aviaire (**Domerego 2003**).

Selon **Marcicci 1995, Amoros et al., 1992** ont étudié l'effet in vitro de la propolis sur plusieurs virus à ADN et à ARN, y compris l'herpès Simplex de type 1, herpes simplex de type 2, un mutant résistant à l'acyclovir, l'adénovirus de type 2, virus de la stomatite vésiculeuse et le poliovirus de type 2. En plus de son effet sur la multiplication du virus, la propolis a été trouvée à exercer une action virucide sur le virus de l'herpès simplex enveloppés (HSV) et le virus de la stomatite vésiculeuse (VSV). Ses résultats ont été confirmés par (**Huleihel et Isanu 2002, Schnitzler et al., 2009 et Domerego 2003**), qui a signalé aussi que la propolis est également d'un grand secours contre les virus de l'hépatite B et le zona ainsi de le VIH (**Ito et al., 2001**).

Les recherches les plus récentes sont celles de **Nolkemper et al., (2009)** ou l'effet de la propolis exercé sur l'Herpès Simplex a été bien expliqué.

En outre des avantages thérapeutiques ont été rapportés pour les extraits de la propolis contre les infections des voies respiratoires chez les enfants (**Cohen et al., 2004**).

I-12-3-1-Mode d'action :

Selon **Fearnley 2001**, les virus sont contenus dans une enveloppe protéique qui les protège, lorsque le virus pénètre dans un organisme cette enveloppe s'ouvre en libérant le matériel viral. Grâce à l'action des flavonoïdes contenus dans la propolis qui sont l'acide caféique, lutseoline et la queratine, l'enzyme responsable de la décapsulation du virus est inhibée, le contenu génétique du virus n'est pas libéré dans l'organisme, ce qui l'empêche d'être infectieux et de prolifères.

I-12-4-Activité antiparasitaire :

Selon **Freitas et ses collègues (2006)**, l'activité anti-giardial de la propolis est relativement peu connue et les données dans la littérature sont rares. En outre, certaines études cliniques et expérimentales antérieures ont mis en évidence les propriétés antiparasitaires des extraits de

propolis et ont montré leurs activités *in vitro* contre *Trypanosoma cruzi*, et leurs efficacité dans la coccidiose et la trichomonase.

Leur travail a été effectué dans le but d'évaluer les effets *in vitro* d'un extrait éthanolique de la propolis sur la croissance et l'adhérence des trophozoites de *G. duodenalis*. Et ont constaté que la propolis inhibe la croissance des trophozoites de plus de 60%, comme elle inhibe l'adhésion du parasite, elle favorise le détachement des trophozoites, et provoque des modifications de l'aspect en forme de poire de la cellule et la réduction de la fréquence de battement flagellaire.

I-12-5-Activité anti-inflammatoire :

Un grand nombre de personnes souffrant de maladies anti-inflammatoires allergiques comme l'asthme, dermatite atopique, et la sinusite. C'est pourquoi la découverte de médicaments pour le traitement de ces maladies est un sujet important dans la santé humaine.

La Chryisine est un flavonoïde naturel contenu dans la propolis, elle inhibe immédiatement l'hypersensibilité et la libération d'histamine, comme elle joue un rôle dans la diminution de l'expression des gènes de cytokines pro-inflammatoires.

Ces résultats indiquent que la chryisine a des effets anti-allergiques et inflammatoires et elle serait un traitement utile de réactions allergiques. (**Soyoung et al.,2011, Chirumbolo 2011**).

I-12-6-Propriétés anti-oxydantes :

Cette propriété antioxydant des flavonoïdes est due à leur composition chimique. Ces composés ont la propriété de piéger les radicaux libre responsable de la détérioration des lipides membranaires. Cette activité anti radicalaires est mise en évidence vis-à-vis du radical DPPH. C'est la fraction la plus concentré en flavonoïdes qui réduit le mieux les radicaux libres en protégeant les lipides et autres substances comme la vitamine C. C'est pour cette raison qu'on recommande la prise de la propolis au même temps que l'acide ascorbique (**Buratti et al., 2007**). De plus, elle permet aussi une régénération des tissus en cas de brûlure et un ralentissement du vieillissement des cellules (**Veloza et al., 2006**).

Objectif du travail

Le présent travail a pour objectif d'évaluer la variation des caractères physico chimique et l'activité biologique d'extraits éthanolique de propolis selon l'origine géographique et, la réalisation d'une formulation cosmétique.

II-I-Matériels

II-1-1-Matériel biologique

II-I-1-1-Propolis

Les échantillons de propolis sont issus de deux régions différentes :

- la première région est SIDI MOUSSA wilaya d'ALGER caractérisé par un climat semi-aride à hiver tempéré. En été, les pluies sont moins importantes qu'elles ne le sont en hiver. La température moyenne annuelle est de 17,9 °C .Chaque année, les précipitations sont en moyenne de 645 mm,

- la deuxième région est l'université de Blida 1 OULED YAICH wilaya de BLIDA, situé à 260 m d'altitude, avec un climat chaud et tempéré. La température moyenne annuelle est de 18 °C. Chaque année, les précipitations sont en moyenne de 791mm.

L'analyse physicochimique des deux échantillons est réalisée au niveau de laboratoire de chimie au département de biotechnologie et l'évaluation de l'activité antibactérienne et antifongique au niveau de laboratoire d'hygiène de wilaya de Blida. Dans le même cadre nous avons réalisé une activité anti inflammatoire et antioxydant au niveau des laboratoires de groupe SAIDAL (antibiotical) wilaya de Medea.

II-I-1-2-Souches microbienne

- Pour l'activité anti microbienne, nous avons utilisé des souches microbiennes citées dans le tableau ci-dessous.

Tableau 2 : Souches bactériennes et fongiques utilisées dans la réalisation de l'activité antimicrobienne.

Souches bactériennes	Type de bactéries
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram +
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram -
<i>Escherichia coli</i>	Gram -
<i>Citrobacter</i>	Gram -
<i>Morganella</i>	Gram -
<i>Salmonella arizona</i>	Gram -
Souches fongiques	
<i>Candidas albicans</i>	
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	
<i>Aspergillus niger</i>	

II-I-1-3-Matériel animale

- Pour l'activité anti inflammatoire, nous avons utilisé 60 Souris **Albinos** du sexe : mâle et femelle et ayant un poids de 20 à 25g.

II-I-2-Matériels non biologique

Le matériel non biologique comportant l'appareillage, la verrerie, les solvants utilisés sera incluse dans l'annexe 1.

II-2-Méthodes

II-2-1- Traitement de l'échantillon :

Selon **Scazzocchioun et al., (2006)** et **Barbarié et al., (2011)**, le traitement de la propolis est réalisé aux niveau de laboratoire de BPAM comme suit :

II-2-1-1-Traitement préliminaire de la propolis :

➤ **Epuration :**

- Cette étape consiste à débarrasser la propolis de toutes les impuretés telles que les cadavres d'abeilles, débris végétaux et les grains de pollen.
- La propolis brute (figure 7) subit un lavage à l'eau chaude, à une température de 60°C, qui permet l'élimination totale des impuretés et l'élimination partielle de la cire.
- La propolis récupérée est mise au congélateur à +6°C pendant 24 heures.



Figure 7 : Propolis brute (originale 2017)

II-2-1-2-Traitement technologique de la propolis

➤ Macération

Il s'agit d'une extraction solide-liquide, cette dernière a subit une macération qui s'est déroulée dans l'alcool éthylique à 70% pendant 5 jours sur agitation dans un endroit sec et sombre (flacons couverts par un papier aluminium).

Après 5 jours on obtiendra deux phases : le culot qui représente les impuretés et la moitié de la cire, et le surnageant qui correspond à la propolis dissoute dans l'éthanol.



Figure 8 : Macération de propolis dans l'éthanol sous agitation (*originale 2017*)

➤ Filtration

Après 4 jours de macération, la propolis dissoute complètement dans l'alcool (éthanol 70%), suivi de filtration par un tissu mousseline, puis une filtration à l'aide d'un papier filtre pour obtenir l'extrait.



Figure 9 : Filtration des deux échantillons (*originale 2017*)

➤ **Evaporation**

La solution alcoolique est mise dans le Rota vapeur pendant une heure à une température de 65°C et nombre de rotation de 150 à 200 jusqu'à obtention d'une pâte de propolis qui se solidifie rapidement.



Figure 10 : Evaporation des deux échantillons par un Rota vapeur, et l'extrait obtenu après l'évaporation (*originale 2017*)

➤ **Conservation et stockage**

La conservation des extraits alcooliques se fait dans des flacons ambrés en verre dans un endroit frais à 4°C.

II-2-2-Méthodes d'analyses physico-chimiques

Au niveau de laboratoire de chimie de département de biotechnologie.

II-2-2-1-Détermination du pH

• **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.



Figure 11 : détermination du pH par spectrophotomètre (*originale 2017*)

II-2-2-2-Détermination de l'acidité titrable

- **Principe**

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



Figure 12 : dosage de l'acidité titrable (*originale 2017*)

- **Mode opératoire**

- 0.01g de propolis sont pesé.
- l'échantillon est place dans une fiole conique avec 50ml d'eau distillée chaude récemment bouillie et refroidie, puis mélanger jusqu'à l'obtention d'un liquide homogène.
- Cette fiole conique est adaptée à un réfrigérant à reflux puis le contenu est chauffé au bain-marie pendant 30mn.
- Refroidi, transvasé ce contenu dans une fiole jaugée de 250ml et compléter jusqu'au trait de jauge avec de l'eau distillée récemment bouillie et refroidie, bien mélanger puis filtrer.

- 100ml de l'échantillon sont prélevé à la pipette pour mesurer l'acidité et versé dans un bécher sous agitation.
- Nous avons titré avec une solution d'hydroxyde de sodium.
- L'opération est rapidement réalisée jusqu'à un pH de 7, puis lentement jusqu'à un pH $8 \pm 0,2$.

II-2-2-3-Screening chimique

Réaliser au niveau de laboratoire chimie de SAIDAL de Medea.

II-2-2-3-1-préparation de l'infusé

Dans un tube à essai, nous avons met 0.01mg de propolis dans un 10ml de l'éthanol.



Figure 13 : Extrait éthanolique (l'infusé) (*originale 2017*)

II-2-2-3-2-Détermination de la teneur en polyphénols totaux

- **Principe**

En présence de phénols, le mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et phosphomolibdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) est réduit en oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}), que l'on détermine par colorimétrie.

- **Mode opératoire**

Le dosage des polyphénols totaux est réalisé par la méthode décrite dans la littérature (**Kamazawa S., et al., 2002**)et (**Singleton V., et al., 1999**) avec quelques modifications.

A/ Préparation de la gamme d'étalonnage

200mg d'acide gallique sont pesé et dissout dans 100ml d'éthanol, soit une solution (s1) avec une concentration de 2mg/ml. La solution mère est diluée comme suit :

_ prélever 5ml de la solution mère puis ajouter 5ml d'eau distillée et l'on obtient la dilution s/2

_ prélever 5ml de la solution s/2 puis rajouter 5ml l'eau distillée et l'on obtient la dilution s/4

_ Refaire la même procédure pour les autres dilutions

Tableau 3 : Préparation des dilutions de l'acide gallique pour la réalisation de la courbe standard des polyphénols totaux.

Dilution	S	s/2	s/4	s/8	s/16	s/32	s/64	s/128
Concentration (mg/ml)	2	1	0.5	0.25	0.12	0.06	0.03	0.01

- **Traçage de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique**
 - Prélever 0.5ml de chaque dilution d'échantillon dans tubes à essais,
 - Ajouter 5ml d'eau distillée dans chaque tube.
 - Ajouter 0.5ml de réactif de Folin-Ciocalteu's.
 - Après 3 mn, ajouter 0.5 ml de carbonate de sodium à 10%,
 - Laisser incuber pendant une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière.

Le blanc est représenté par 5 ml d'eau distillée additionné de 0.5 ml de folin-Ciocalteus et 0.5 ml de carbonate de sodium à 10%

La lecture des absorbances est faite à 760 nm. Après agitation et repos d'une heure, la concentration en composés phénoliques totaux est déterminée en se référant à la courbe d'étalonnage obtenue en utilisant l'acide gallique comme standard d'étalonnage.

Le dosage des polyphénols totaux dans l'extrait éthanolique de la propolis est illustré dans la figure suivante :

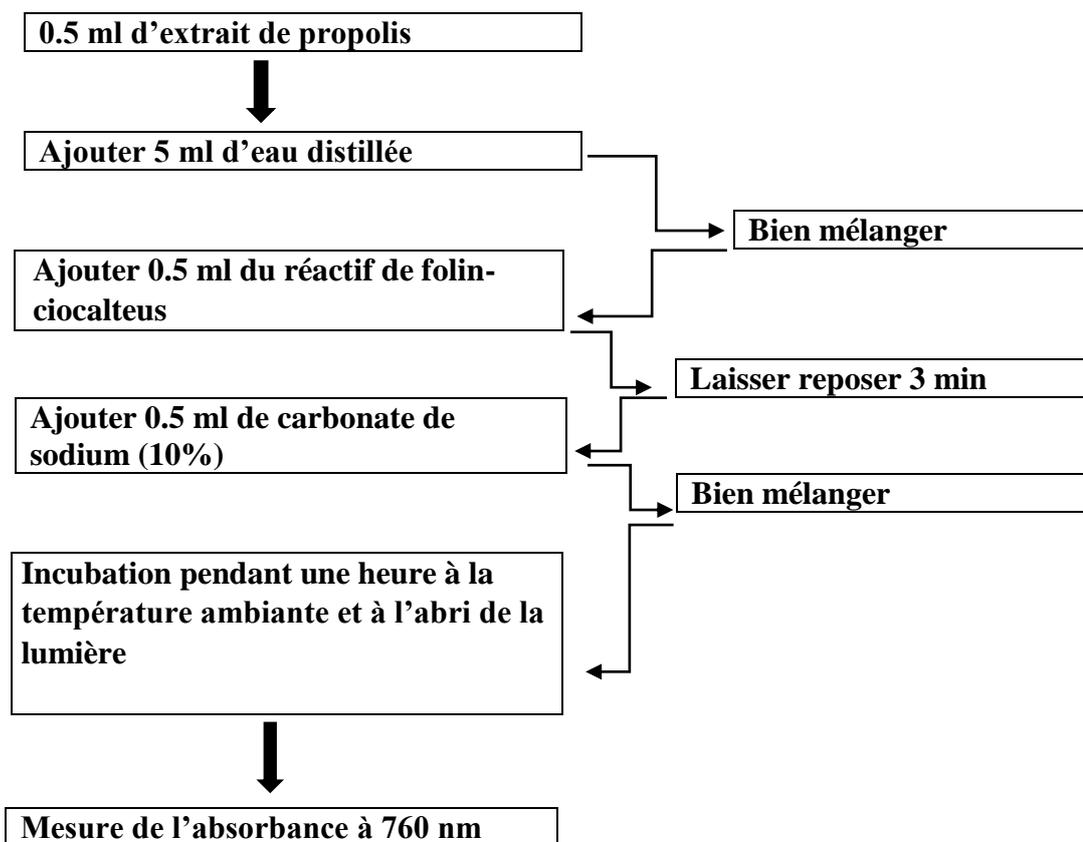


Figure 14 : Organigramme représentant le dosage des polyphénols totaux

La quantification des polyphénols a été faite en fonction d'une courbe d'étalonnage linéaire ($Y = a X + b$) réalisée par l'extrait d'étalon « acide gallique » à différentes concentrations dans les mêmes conditions que l'échantillon. Les résultats sont exprimés en mg équivalent d'acide gallique par 1 g de propolis brute.

II-2-2-3-3-Détermination de la présence de flavonoïdes

A 5ml de l'infusé est ajouté 1ml de $AlCl_3$. La réaction donne une coloration rouge orangée en présence des flavonoïdes.

II-2-2-3-4-Détermination de présence tanins

A 5ml d'infusé et ajoutée quelques gouttes de $FeCl_3$ à 5%. La réaction donne une coloration bleu noir en présence des tanins.

II-2-2-3-5-Détermination des sucres

A 5ml d'infusée sont ajoutées quelques gouttes de Fehling. La réaction provoque la formation de coloration rouge brique ensuite violette en présence des sucres.

II-2-2-3-6-Déterminaton des alcaloïdes

Nous avons met 0.01g d'extrait dans un tube à essai et 10ml acide sulfurique à 10% sont ajoutée suivi d'une agitation énergiquement pendant 2mn et filtré, puis ajoutée quelques gouttes de réactif Dragnodorff.

La réaction donne une coloration rouge orangé en présence des alcaloïdes.

II-2-3-Etude de l'activité antifongique et antibactérienne de l'extrait de propolis

L'étude de l'activité antimicrobienne de notre extrait éthanolique de propolis consiste à déterminer la zone d'inhibition pour chaque germe par la méthode de diffusion en milieu solide (Archambaud 2009, Popova et al., 2010). Réalisée au niveau de laboratoire d'hygiène de Blida.

II-2-3-1-Détermination des diamètres des zones d'inhibition

Cette technique permet de prouver l'existence d'une activité antimicrobienne de l'échantillon testé. Elle est basée sur une technique utilisée en bactériologie médicale, l'antibiogramme (Satrani 2007, M. Archambaud 2009, Popova et al., 2010).

Principe

Ces diamètres ont été déterminés selon la méthode de diffusion en milieu solide en utilisant le milieu Mueller Hinton pour les bactéries et Sabouraud pour les souches fongiques (Satrani 2007, M. Archambaud 2009, Popova et al., 2010). Elle consiste à utiliser des disques de 9 mm, imprégnés de la substance à tester selon trois concentrations (5%, 10% et 20%). Les disques sont déposés à la surface d'une gélose uniformémentensemencée avec une suspension de germe étudié après 24 heures pour les bactéries à 37°C et après 48 heures pour les levures à 25°C.

Après 24 heures d'incubation dans l'étuve, il s'établit un gradient de concentration de la substance testé, l'interaction entre les bactéries et la substance à tester s'exprime par la zone d'inhibition (Amhis et al., 2001), puis on mesure les diamètres des éventuelles zones d'inhibition observées autour des disques (Loubaki et al., 1999, M.Archambaud, 2009).

Pour le témoin de contrôle, on utilise un disque imprégné seulement de tween 80. Et pour enrichie notre travail en a fait des témoins positives :

Les bactéries : Gentamicine et Céfalexine

Les champignons : Flazol et Terbinafine

Mode opératoire

Le travail s'effectue dans des conditions aseptiques, à côté du bec benzène entouré du matériel stérilisé auparavant et déposé sur une paillasse bien nettoyées avec l'eau de javel.

Repiquage des souches bactériennes

Les différentes souches bactériennes de référence ATCC ont été repiquées sur milieu d'isolement par la méthode des stries étroit puis incubées à l'étuve à 37°C pendant 18 à 24 heures afin d'obtenir une culture jeune, et des colonies isolés qui ont servi à préparer l'inoculum.

Coulage des milieux de cultures

- ✓ Verser 20 ml de gélose MH pour les bactéries et Sabouraud pour les champignons dans une boîte pétrie de 3 à 4 mm d'épaisseur.
- ✓ Laisser solidifier dans l'étuve.

Préparation de l'inoculum

- ✓ A partir des souches repiquées, prenez à l'aide d'une pipette pasteur le sommet de 3 à 5 colonies typique (bien isolées et parfaitement identiques).
- ✓ Décharger la pipette dans 10 ml d'eau physiologique stérile.
- ✓ Bien homogénéiser la suspension au Vortex.

Ensemencement

- ✓ l'ensemencement se fait par écouvillonnage, on fait passer l'écouvillon dans la suspension bactérienne.
- ✓ L'assurer en le pressant fermement en tournant sur la paroi interne du tube afin de décharger l'excès de la suspension.
- ✓ Ensemencement par stries serrés verticales puis de même horizontales, puis deux tours aux bordures intérieures de la boîte de pétri.

Application des disques

- ✓ Imprégner le disque dans la suspension a testé

- ✓ Déposer délicatement le disque au centre de la gélose et à l'aide d'une pince.
- ✓ Diffusion pendant 30 minutes. Les boîtes renversées sont mises dans l'incubateur à 37°C pour les bactéries et à 25°C pour les champignons.

II-2-3-2-Lecture des résultats

La lecture des résultats 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 (D) 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

II-2-4- Etude de l'activité anti inflammatoire

Cette étude a été effectuée au laboratoire de pharmaco-toxicologique CRD du groupe SAIDAL. Cette étude permet de comparer la réduction de l'œdème après administration du produit anti-inflammatoire à tester par rapport au produit de référence correspondant selon la méthode de **Levy**, citée par **Berkan et al., (1991)**.

- **Le principe**

Ce test consiste à induire chez les souris de laboratoire un produit inflammatoire, qui sera antagonisé par des substances censées être douées d'une activité anti-inflammatoire, administrées préalablement.

II-2-4-1-Mode opératoire

Le test consiste à évaluer l'effet anti-inflammatoire de l'extrait éthanolique de propolis dilué avec l'éthanol à 3%, 5% et 10% des deux régions différentes de Sidi Moussa et d'Ouled Yaich sur l'œdème des pattes postérieures provoquée par l'injection d'une solution de carraghénine à (1%) chez les souris.

L'injection de la carraghénine sous l'aponévrose plantaire de la patte de souris provoque une réaction anti-inflammatoire qui peut être réduite par un produit anti-inflammatoire.

- **La préparation de la solution de carraghénine (1%)**

A été fait par une dilution de 20 mg de la Carraghénine dans 20 ml d'eau physiologique.

- **La carraghénine** : provoque une réaction inflammatoire, c'est une gélatine végétale extraite de la plante *Chondrus crispus* (Algue rouge comestible-légume). La solution de Carraghénine utilisée contient éléments, tel que : Potassium (10,4%), Calcium (2,4%) et Sodium (0,7%) (Colot, 1972).

Afin de mettre en évidence de façon indubitable l'effet anti-inflammatoire les souris sont réparties en 08 lots de 04 souris chacun, à savoir six lots traités et un lot témoin négative et un lot de référence, les souris ont été mises à jeun pendant 18 heures avant l'expérimentation. Le gavage a été réalisé à l'aide d'une sonde gastrique.

Tableau 04 : La différente concentration et les témoins de gavage des souris au temps T0.

Lot 1(de référence)	0.5 ml d'un produit anti-inflammatoire (Déclofinac) ; 1 comprimé de 75 mg dans 750 ml d'eau physiologique.
Lot 02	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 03% (propolis de Sidi Moussa).
Lot 03	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 05% (propolis de Sidi Moussa)
Lot 04	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 10% (propolis de Sidi Moussa).
Lot 05	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 03% (propolis d'Ouled Yaich).
Lot 06	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 05% (propolis d'Ouled Yaich).

Lot 07	0.5ml de l'extrait éthanolique dilué à 10% (propolis d'Ouled Yaich)
Lot 08 (témoin négative)	0.5ml d'eau physiologique à 09%.



Figure 15 : gavage réalisé à l'aide d'une sonde gastrique (*originale 2017*)

- **Au temps T0+30min**

La solution de carraghénine à 1% est injectée sous l'aponévrose plantaire des pattes arrières gauche sous un volume de 0,025 ml à tous les animaux mis en expérience.

- **Au temps T0+4h**

Après avoir sacrifié les animaux ayant été soumis à une forte concentration d'éther diéthylique, nous avons coupé les pattes postérieures à hauteur de l'articulation et nous les avons pesés avec une balance analytique.

II-2-4-2-Expression des résultats

- Calculer les moyennes arithmétiques des poids des pattes gauches et droites pour chaque lot.
- Calculer le pourcentage d'œdème par la formule suivante :

% d'œdème = moyenne des poids des pattes gauches – moyenne des poids des pattes droites /
moyenne des poids des pattes droites

Calculer le % de réduction de l'œdème chez les souris traitées par rapport aux témoins selon la
formule suivante :

% de réduction d'œdème = % de l'œdème témoin - % de l'œdème essai * 100 / % de l'œdème
témoin. (Levy)

II-2-5-Méthodes de l'activité anti-oxydante

Le DPPH (2,2-Diphényl-1-picrylhydrazyl) est un radical libre stable de couleur violacée qui
absorbe à 517nm. En présence de composés anti-radicalaires, le radical DPPH est réduit en
changeant de couleur et en virant vers le jaune. Les absorbances mesurées à 517 nm servent à
calculer le pourcentage d'inhibition du radical DPPH, qui est proportionnel au pouvoir anti
radicalaire de l'échantillon.

II-2-5-1-Mode opératoire

Cette méthode est basée sur la mesure de la capacité des antioxydants à piéger le radical DPPH.
L'effet de l'extrait éthanolique de la propolis sur le DPPH est mesuré par la procédure décrite
par **Benhammou et al, (2006)**. Un volume de 50µl de différentes concentrations de l'extrait
éthanolique est ajouté à 1,950 ml de la solution méthanolique du DPPH (0,025 g/l) fraîchement
préparée. En ce qui concerne le contrôle négatif, ce dernier est préparé en parallèle en
mélangeant 50 µl de l'éthanol avec 1,950 ml d'une solution méthanolique de DPPH à la même
concentration utilisée. Après incubation à l'obscurité pendant 30 min et à la température
ambiante la lecture des absorbances est effectuée à 517 nm à l'aide d'un spectrophotomètre.

II-2-5-2- Expression des résultats

Calcul des pourcentages d'inhibitions : Nous calculons ainsi les pourcentages d'inhibition par
la formule suivante :

$$I \% = ((Ac - At) / Ac) * 100$$

Ac : absorbance du contrôle ;

At : absorbance du test effectué

Calcul des IC50 : IC50 ou concentration inhibitrice de 50 % (aussi appelée EC50 pour Efficient
concentration 50), est la concentration de l'échantillon testé nécessaire pour réduire 50 % de
radical DPPH Les IC50 sont calculées graphiquement par les régressions linéaires des graphes

tracés, les pourcentages d'inhibition en fonction de différentes concentrations des fractions testées.

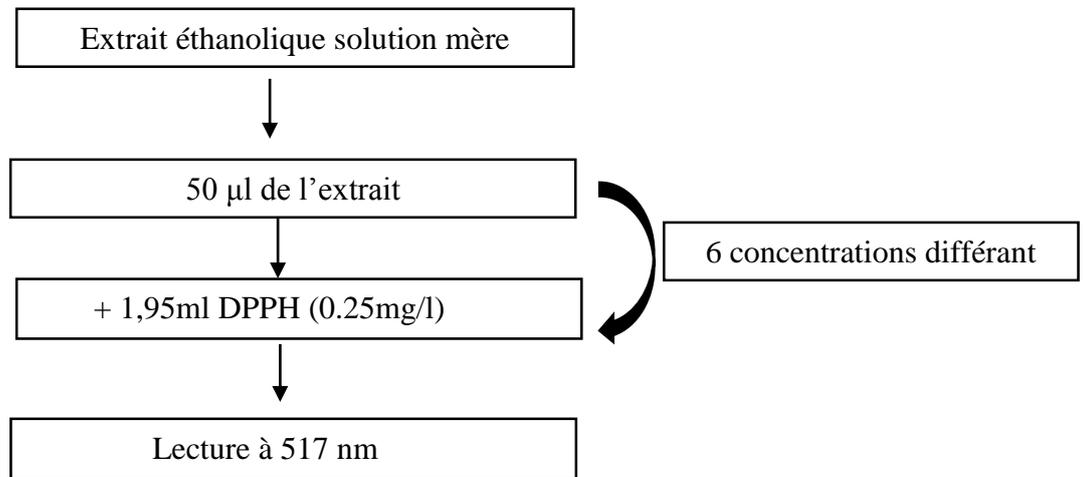


Figure 16 : Principale étapes de l'activité antioxydant

II-2-6-Fabrication de savon à base de propolis

II-2-6-1-Protocole expérimentale

➤ Les ingrédients

- ✓ 200g de savon Marseille
- ✓ 6g de miel
- ✓ 2g de cire d'abeille
- ✓ 1g de propolis (broyée au moulin à café)
- ✓ 1 cuillère de jus de citron

➤ Préparation de savon

- ✓ Faire fondre le savon au bain mari
- ✓ Ajouter la cire et bien mélanger
- ✓ Ajouter le miel et le citron
- ✓ Incorporer la propolis
- ✓ Utiliser un mixeur permet de faire gagner un temps considérable
- ✓ Verser le mélange dans le moule



Figure 17 : Le mélange de savon sur moule Le bain mari (*originale 2017*)



Figure 18 : Le mélange de savon dans le (*originale 2017*)



Figure 19 : Démoulage et découpe de savon (*originale 2017*)

III-I-Résultats

III-I-1-Rendement en polyphénols

Les résultats du rendement en polyphénols totaux des deux échantillons de propolis sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 5 : Rendement des polyphénols totaux des deux échantillons

Echantillon	Région	Rendement %
Echantillon 01	Sidi Moussa	18,60 %
Echantillon 02	Ouled Yaich	29,30 %

D'après les résultats obtenus nous remarquons que la propolis d'Ouled Yaich est plus rentable par rapport à la propolis de Sidi Moussa. (**Tableau 4**)

III-I-2-Résultats des analyses chimiques

III-I-2-1-Résultats du pH

Les résultats du pH des deux échantillons de propolis sont illustrés dans le tableau suivant :

Tableau 6 : Résultat du pH des deux échantillons de propolis.

Echantillon	Valeur du pH	Température °C
Sidi Moussa	4.73	27 °C à 28 °C
Ouled Yaich	4.14	27 °C à 28 °C

D'après les résultats du pH et de la température obtenus nous remarquons que l'échantillon de Sidi Moussa a présenté un pH de 4.73, par contre pour l'échantillon d'Ouled Yaich a présenté une valeur de 4.14, et cette valeur elle est un peu moins élevée par rapport à l'échantillon de Sidi Moussa. Et la valeur de la température est la même pour les deux échantillons de Sidi Moussa et d'Ouled Yaich a présenté entre 27°C et 28 °C.

Les résultats du pH obtenus pour les deux échantillons de propolis ont montré que les deux échantillons sont de nature acide, cette acidité est due à sa composition riche en acide aromatiques (dérivés de l'acide benzoïque, de l'acide benzaldéhyde et de l'acide aliphatique).

III-I-2-2-Résultats de l'acidité titrable

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

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

Tableau 7 : Résultats du dosage de l'acidité titrable des deux échantillons.

Echantillon	Acidité titrable
Sidi Moussa	5,24
Ouled Yaich	6,13

Les résultats obtenus mettent en évidence la nature acide de la propolis. L'acidité titrable des échantillons étudiés elle nous a affirmé que la propolis de Sidi Moussa présente une acidité de 5,24 cette valeur est faible si on la compare avec l'échantillon d'Ouled Yaich qui présente une valeur de 6,13.

En comparant les pourcentages de l'acidité entre ces deux régions, on constate que la propolis d'Ouled Yaich possède une acidité élevée par rapport à l'échantillon de Sidi Moussa. Ce qui peut être expliqué par la dégradation de l'échantillon ou bien la différence de la flore botanique entre ces deux régions ou aux enzymes de l'abeille.

III-I-2-3-Screening chimiques

Tableau 8 : Résultats de présence ou absence des compositions chimiques

Présence de	EEP de SM	EEP d'OY
Les Polyphénols	+	+
Les Flavonoïdes	+	+
Les tanins	+	+
Les sucres	+	+
Les alcaloïdes	-	-

(+) Présence

(-) Absence

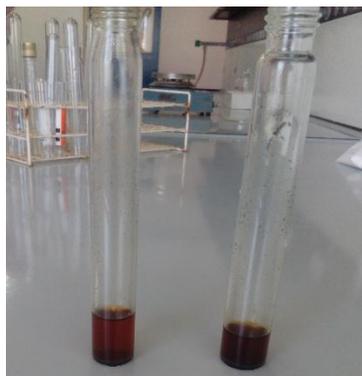


Figure 20 : Présence des sucres (*originale 2017*)

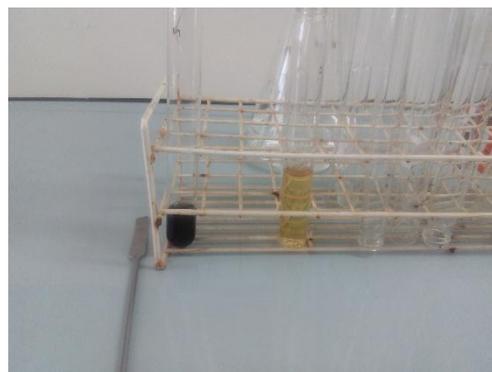


figure 21 : Présence des tanins
(*originale2017*)

III-I-2-3-1-Teneur en polyphénols

L'étude quantitative des extraits éthanoliques brute au moyen du dosage par spectrométrie, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols. La courbe d'étalonnage (**figure38, Annexe4**) a été tracée, Elle est réalisée avec de l'acide Gallique à différentes concentrations, les mesures de densité optique ont été réalisées à 760 nm.

La teneur en polyphénols se différencie d'un échantillon à un autre selon l'origine botanique de la propolis, c'est-à-dire la région des provenances (**Leandro M., et al., 2008**), comme illustrées dans le tableau N°8

Tableau 9 : Teneur de polyphénols dans la matière brute de la propolis.

Echantillon	[C]mgAG/gEch	Qté de polyphénol dans la matière brute mg/g d'extrait
Sidi Moussa (SM)	0.007	70
Ouled Yaich (OY)	0.008	80

On a remarquant que nous avons une teneur déférente en polyphénols dans la matière brute de chaque échantillon : 70mg/g pour SM et 80mg/g OY.

III-I-3-Résultats de l'activité antimicrobienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne des deux extraits de propolis à trois concentrations différents, par la méthode de diffusion sur gélose sont exprimés en millimètres, les résultats des zones d'inhibition sont présentés dans le tableau suivant :

Tableau 10 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 5%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi Moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled Yaich en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	11	10.5
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	10	10
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	Résistante	Résistante
<i>Morganella</i>	Résistante	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	Résistante	Résistante
Champignons		
<i>Candida albicans</i>	Résistante	Résistante
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Résistante	Résistante
<i>Aspergillus niger</i>	Résistante	Résistante

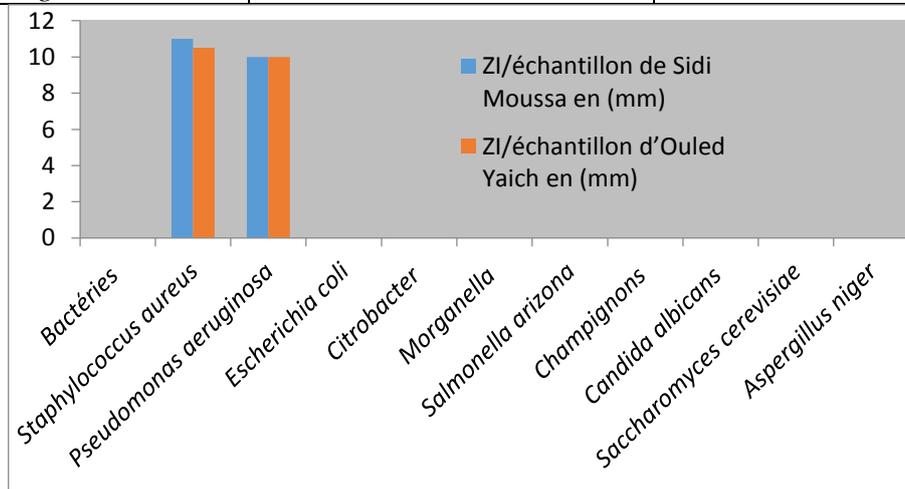


Figure 22 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%

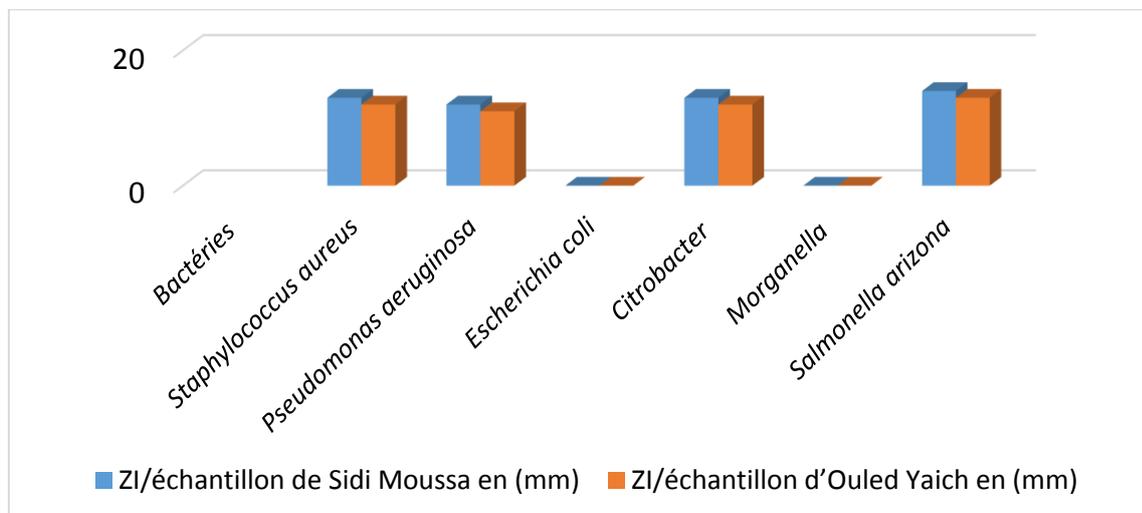


Figure 23 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%

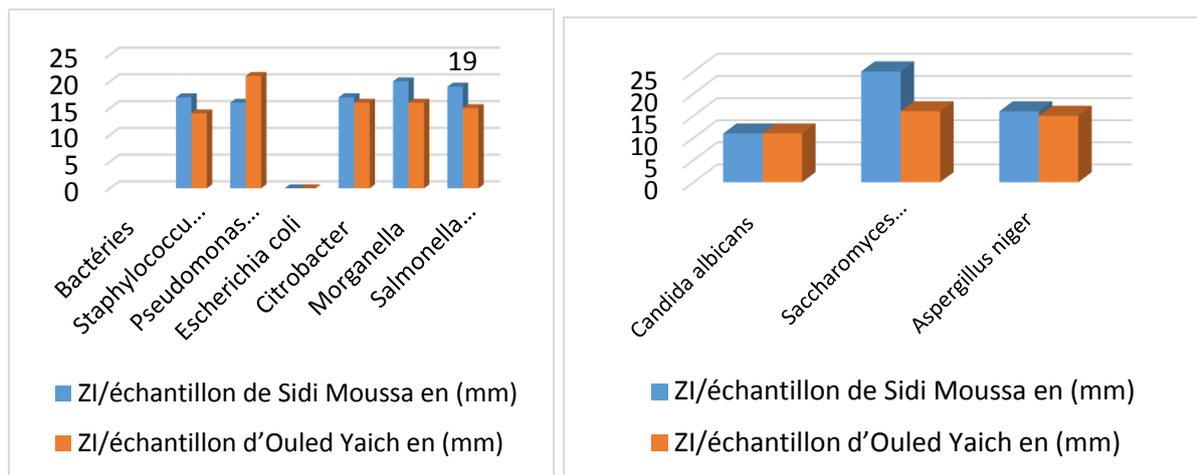


Figure 23 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 20%

Tableau 11 : Résultat des zones d'inhibition des témoins positives (antibiotiques)

Souches microbiennes	ZI/ de Gentamicine en (mm)	ZI/de Céfalexine en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	28	Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	37	Résistante
<i>Escherichia coli</i>	30	10
<i>Citrobacter</i>	26	Résistante
<i>Morganella</i>	21	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	37	Résistante
Champignons	ZI/de Flazol en (mm)	ZI/ de Terbinafine en (mm)
<i>Candida albicans</i>	Résistante	30
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Résistante	50
<i>Aspergillus niger</i>	16	16

Tableau 12 : Résultat des zones d'inhibition des témoins négatives (Tween 80)

Souches microbiennes	ZI/ de Tween 80 en (mm)
Bactéries	
<i>Staphylococcus aureus</i>	Résistante
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Résistante
<i>Escherichia coli</i>	Résistante
<i>Citrobacter</i>	Résistante
<i>Morganella</i>	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	Résistante
Champignons	
<i>Candida albicans</i>	Résistante
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Résistante
<i>Aspergillus niger</i>	Résistante

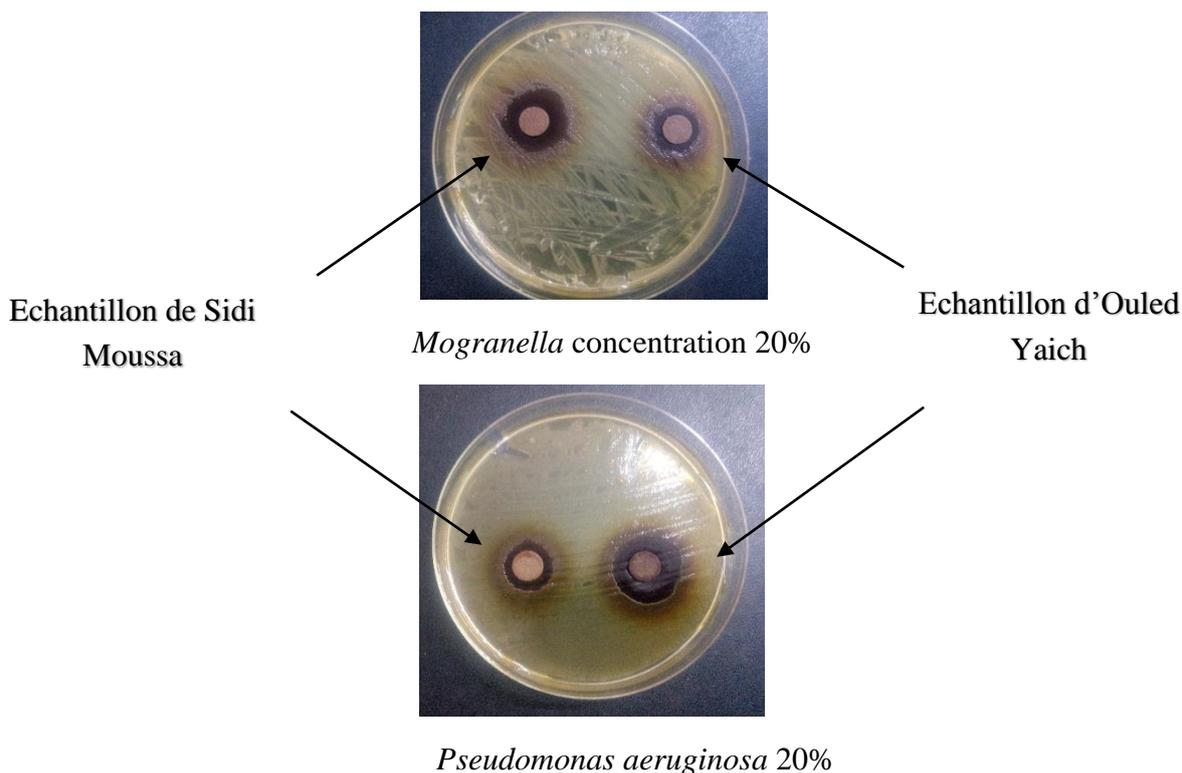


Figure 24 : Les différentes ZI de croissance pour certaines souches en réaction avec la propolis, après 24 heures d'incubation. (*originale 2017*)

Selon les tableaux précédents, nous remarquons que la propolis issue de Sidi Moussa a une activité antimicrobienne plus élevée que la propolis d'Ouled Yaich.

La mise en évidence des zones d'inhibitions de croissance a montré que les deux extraits de propolis présentent une bonne activité inhibitrice sur les germes testés. La couleur foncée des zones d'inhibition montre l'action par contact de cet extrait.

- **Concentration 5%**

Le diamètre de la zone d'inhibition pour la concentration 5% est très faible pour les deux échantillons, on a remarqué que tous les microorganismes sont résistants à l'extrait de propolis sauf *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa* ou le diamètre de la zone d'inhibition varie entre 10 mm et 11 mm pour les deux régions.

- **Concentration 10%**

Pour la concentration 10%, les ZI sont plus élevés dans les deux échantillons par rapport à la concentration 5%. Le diamètre des zones d'inhibition de l'échantillon de Sidi Moussa varie entre 12 mm et 14 mm, et entre 11mm et 13mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich. Ceci qui indique l'existence d'un effet thérapeutique dans cet extrait de propolis. Le diamètre mesuré

diffère selon les germes testés, cette variation du diamètre des ZI permet d'estimer la sensibilité ou la résistance du germe.

Cependant *Salmonella arizona* est la plus sensible vis-à-vis de l'extrait éthanolique de propolis, avec un diamètre de 14mm pour l'échantillon de Sidi Moussa et 13mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich, suivi par *Staphylococcus aureus* et *Citrobacter* avec 13mm pour la propolis de Sidi Moussa et 12mm pour la propolis d'Ouled Yaich. Les autres bactéries et champignons sont résistants à l'extrait des deux échantillons.

- **Concentration 20%**

Par contre à la concentration de 20% on a remarqué que tous les germes présentent une grande sensibilité pour les deux échantillons, ainsi que *Morganella* est la plus sensible vis-à-vis l'extrait de propolis, avec un diamètre de 20mm pour l'échantillon de Sidi Moussa et 16mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich, suivi par *Salmonella arizona* avec 19mm pour la propolis de Sidi Moussa et 15mm pour la propolis d'Ouled Yaich.

En outre *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus* et *Citrobacter* répondent par une sensibilité moins importante que les autres bactéries pour ce qui concerne la zone d'inhibition, à savoir 17mm et 16mm respectivement pour l'échantillon de Sidi Moussa et 21mm, 16mm et 14mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich.

Mais pour *Escherichia coli*, l'extrait éthanolique des deux échantillons ne présente aucun effet inhibiteur sur cette souche à gram -.

Les champignons sont plus sensibles à cette concentration de l'extrait de propolis, avec un diamètre qui varie entre 11mm et 25mm pour l'échantillon de Sidi Moussa et entre 11mm et 16mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich. *Saccharomyces cerevisiae* est le plus sensible à la propolis, leur diamètre d'inhibition 25mm pour l'échantillon de Sidi Moussa et 16mm pour l'autre échantillon, suivi par *Aspergillus niger* avec un diamètre de 16mm pour l'échantillon de Sidi Moussa et 15mm pour l'échantillon d'Ouled Yaich, le moins sensible parmi ces champignons est *Candida albicans* avec 11mm pour les deux régions.

Concernant la détermination de la zone d'inhibition de la croissance ZI, aucune activité inhibitrice d'extrait éthanolique n'a été trouvée contre la bactérie *Escherichia coli*, dont la zone d'inhibition a été nulle dans toutes les concentrations ; Ces résultats sont similaires à ceux de

(Popova et al., 2010) qui a prouvé que la propolis Brésilienne, Bulgare, et Maltaise n'a pas inhibé *E.coli*, et la propolis Coréenne n'as pas réussi à inhiber la *Pseudomonas aeruginosa* et *Salmonella typhi* **(Kalogeropoulos et al., 2009)**.

Nos échantillons démontrent une meilleure activité contre *Morganella* qui s'est manifesté par une zone de 20mm pour l'extrait de Sidi Moussa, et un pouvoir d'inhibition moins important par l'échantillon d'Ouled Yaich (16 mm), nous confirmons l'observation de **(Popova et al., 2010)** qui a signalé à son tour que la propolis méditerranéenne est active contre ce micro-organisme, avec une zone d'inhibition supérieur à 23,7mm.

A cause de ses activités antimicrobiennes, la propolis est souvent nommée " antibiotique naturel"

Un grand nombre d'études ont démontré l'effet d'inhibition sur les différents micro-organismes. Parmi les quelles, citant l'effet destructif sur *Bacillus larvea* **(Mlagan et Sulimanovic, 1982)** et sur *Bacillus Subtilis* **(Meresta et Meresta, 1985)**.

L'activité antimicrobienne de la propolis est due à sa composition riche en pinocembrine, galangine, acide caféique, et l'acide férulique. **(Schmidt et Buchmann, 1992)**.

De nombreuses études ont démontré l'effet d'inhibition de la propolis sur les souches Gram+, Gram- **(Grange et Davey 1990, Rojas Hernandez et al, 1993)** et les bactéries anaérobies **(Kedzia 1986, Boyanova et al 2006, Santos et al 2002)**. Cet effet dépend de la souche étudiée, de l'origine de la propolis et du solvant utilisé **(Ugur et arslan 2004)**. De plus, la propolis possède des propriétés antifongiques **(Ota et al 2001, Pepeljnak et al 1982, Cizmaric et Trupl 1976, Ozcan et al 2004)**, antivirales **(Amaros et al 1992, Maksimova-Todorova et al 1985, Escanu et al 1981)**, anti protozoaire et antiparasitaire **(Higashi et al 1995)**.

On en déduit de notre travail que la propolis est un produit thérapeutique naturel, renferme des molécules antibactériennes et antifongiques sur de nombreuses espèces. Pour ces raisons, elle peut entrer dans la composition des produits d'hygiène comme les savons, les crèmes, les lotions pour l'utilisation de la peau. Soit on peut utiliser pour les maladies vaginales comme le début de cancer d'utérus.

III-I-4-Résultats de l'activité anti-inflammatoire

III-I-4-1-Variation de poids des pattes postérieures gauches et droites des souris

Les résultats de variation du poids de la patte gauche et de la patte droite pour chaque lot de souris après induction de l'œdème sont représentés dans le **tableau 13** sur **Annexe 2**

Ces résultats ont expliqué une augmentation de poids des pattes postérieures gauches des quatre lots (lot de l'eau physiologique, lot de d'éclofinac, lots d'extrait des deux échantillons à différents concentrations de Sidi Moussa et d'Ouled Yaich) par rapport à celui des pattes postérieures droites.

Cette différence se révèle par la présence d'un œdème au niveau des pattes postérieures gauches, ce qui confirme l'effet pro-inflammation de la Carraghénine.

III-I-4-2-Variation de pourcentage d'œdème des pattes gauches et droites

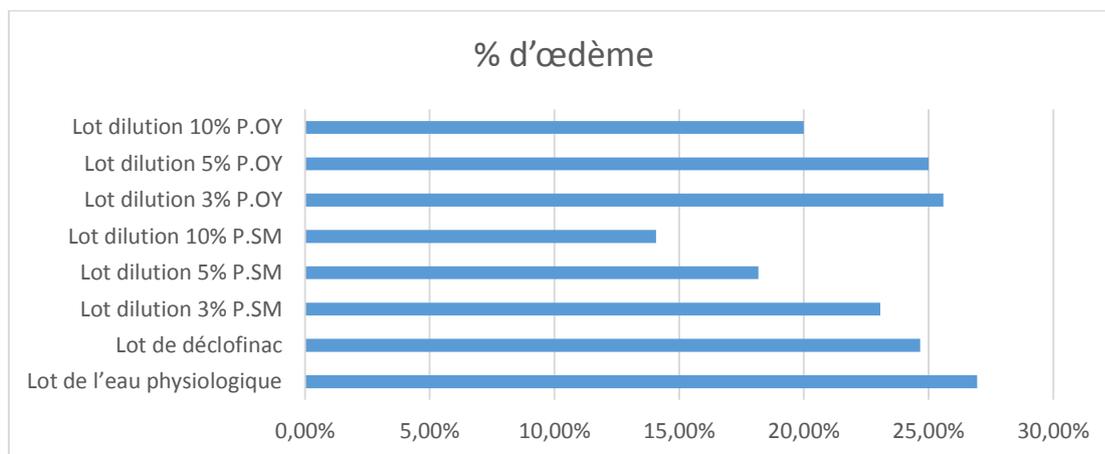


Figure 25 : Variation des pourcentages d'œdème des pattes gauches et droites des souris traités (SM : extrait de propolis de Sidi Moussa, OY : extrait de propolis de Ouled Yaich)

Après une demi-heure, les souris des huit lots reçoivent une injection de la Carraghénine dans la patte gauche. Une réaction immédiate et persistante a été constituée. Elle consiste en l'apparition d'un œdème d'intensité variable pour les 08 lots (témoin traité avec l'eau physiologique, traité par le D'éclofinac, traité par l'extrait éthanolique de la propolis de Sidi Moussa à 3%,5% et 10%, traité par l'extrait éthanolique de la propolis de Ouled Yaich dilué a

3%,5% et 10%) dont les pourcentages d'œdème sont respectivement : 26,95%, 24,66%,23,07%,18,18% , 14,08%,25,6% , 25% et 20% : (figure 25)

III-I-4-3-Variation de pourcentage de réduction d'œdème des huit lots

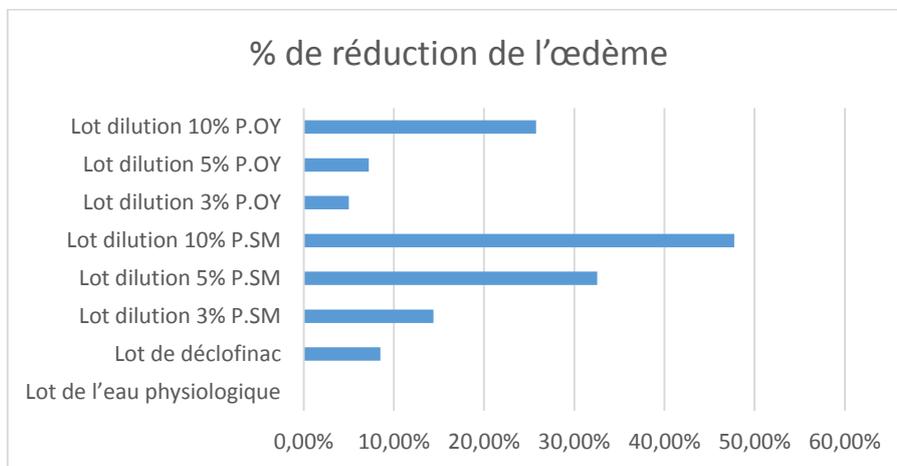


Figure 26 : Variation de pourcentage de réduction d'œdème des six lots traité (SM : extrait de propolis de Sidi Moussa, OY : extrait de propolis de Ouled Yaiche)

Après 4 heures de l'administration par gavage de 0.5 ml de l'eau physiologique, de l'extrait éthanolique de la propolis des deux régions à trois concentrations (3%,5% et 10%) et du Déclonac. une diminution progressive d'œdème des pattes postérieures gauches des 07 lots traités a été observée, les calculs de pourcentage de réduction de l'œdème ont confirmé notre observation ; 8.49 % pour Lot de déclofinac, 14,39% pour Lot dilution 3% P.SM, 32,54% pour Lot dilution 5% P.SM , 47,75% pour Lot dilution 10% P.SM, 5% pour Lot dilution 3% P.OY, 7,23% pour Lot dilution 5% P.OY et 25,78% pour Lot dilution 10% P.OY.

Ces résultats ont révélé que la dilution à 5% de l'extrait éthanolique d'Ouled Yaich a induit une réduction d'œdème proche de celle du Diclofénac, tandis que l'extrait de la propolis de Sidi Moussa a donné des meilleurs résultats avec une réduction de 47,75% pour la dilution de 10%, 32,54% pour la dilution de 5%, et une réduction de 14,39% pour la dilution de 3%.

Donc nous avons déduit que la propolis de Sidi Moussa est très riche en molécules pouvoir thérapeutique par rapport à celle d'Ouled Yaich. (Figure 26).

Nous constatons donc que la nourriture des abeilles joue un rôle très important dans la qualité de la propolis. La végétation de la région de Sidi Moussa caractérisé par différentes végétations

Selon **Stefano Castaldo et al. (2002)**, la Propolis inhibe selon la dose, l'activité des cyclo-oxygénases (COX) et l'enzyme intervenant dans la formation des prostaglandines impliquées dans l'inflammation. De plus, les extraits de Propolis stimulent les macrophages, ce qui a pour finalité l'activation des mécanismes de protection naturelle, et confère à la Propolis ses propriétés anti-inflammatoires (**Martini, 2006**).

Ainsi des études cliniques sur la propolis ont prouvé son efficacité dans les traitements de différentes inflammations de la peau (ulcères et abcès). Des patients ont été soignés par des crèmes à base de propolis dont la majorité des symptômes disparaissaient au bout de 11 jours. (**Morales et al., 1997**).

III-I-5-Résultats de l'activité anti-oxydante

Les résultats illustrés dans (**figures 27, 28**) suivantes montrent que les activités anti-radicalaires des deux extraits éthanoliques de la propolis sont importantes, les deux échantillons analysés ont prouvé une bonne élimination des radicaux libre, 82.18% des radicaux libres à une dose de 1.08 mg/ml pour l'échantillon d'Ouled Yaich, nous remarquons une élimination de 92.44% des radicaux libres a une dose de 0.43 mg/ml pour l'échantillon de Sidi Moussa. Le pourcentage d'inhibition du radicale libre augmente avec l'augmentation des concentrations pour les deux extraits. (**Lendro M., et al., 2008**).

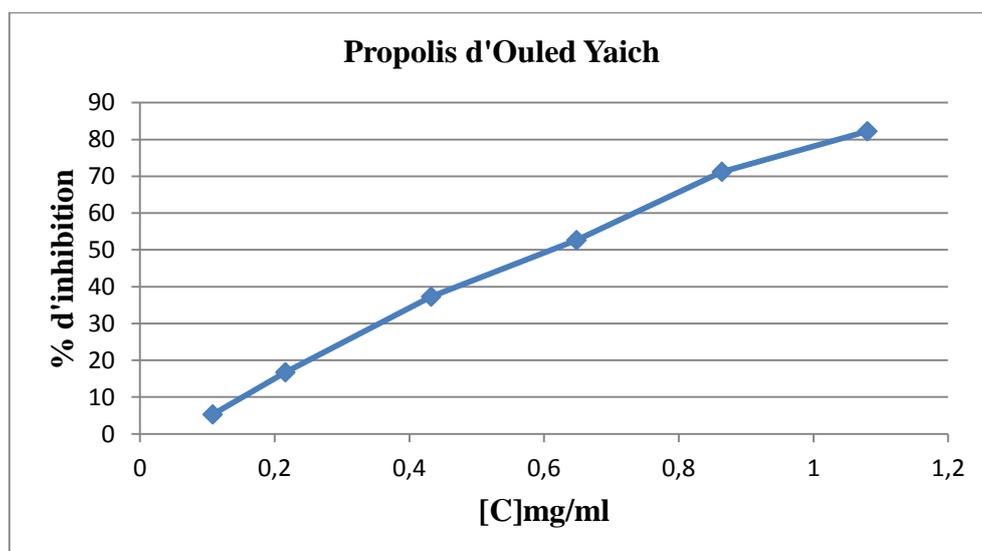


Figure 27 : Pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon d'Ouled Yaich.

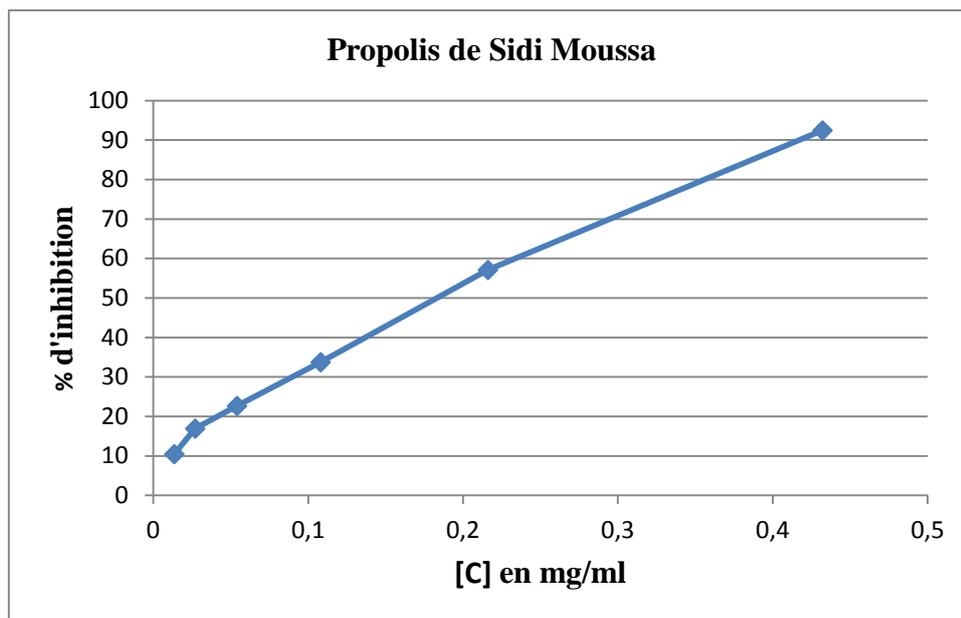


Figure 28 : Pouvoir anti-radicalaire de l'échantillon de Sidi Moussa.

Afin d'établir une comparaison entre les deux échantillons qui sont de deux régions différentes, nous avons déterminé le IC_{50} qui sont résumés dans le tableau suivant :

Tableau 13 : Résultats obtenus des IC_{50} des deux extraits éthanoliques.

Echantillon	IC_{50} (mg/ml)
Ouled Yaich	0.63
Sidi Moussa	0.199
Vitamine C	0,103

L'activité antioxydante de l'extrait de propolis, en comparant par celle de l'acide ascorbique comme antioxydant de référence et l'extrait de propolis de celle d'Ouled Yaich et de Sidi Moussa. A montré que l'extrait éthanolique de la propolis et la vitamine C ont pu réduire le radical libre DPPH. L'antioxydant standard Vitamine C a montré une activité antioxydante puissante avec une IC_{50} de l'ordre de 0,103 mg/ml. Pour l'extrait éthanolique de Sidi Moussa, ce qui montre une activité anti-oxydante intéressante aussi avec une IC_{50} de l'ordre 0.199 mg/ml par rapport à l'extrait éthanolique d'Ouled Yaich qui a montré une IC_{50} moins actif d'ordre de 0.63mg/ml. Donc il semblait que l'effet antioxydant de l'extrait éthanolique de Sidi Moussa est aussi important que le Vitamine C par rapport à celui d'Ouled Yaich.

Les résultats de l'activité de piégeage du radical libre DPPH par notre extrait et de l'acide ascorbique sont donnés dans le (**Tableau 13**).

Afin de situer l'activité antioxydante de notre extrait, nous avons fait une étude comparative entre son activité et celle d'un antioxydant de référence : la vitamine C. La variation de cette activité en fonction de leurs concentrations est donnée représentée dans la (Fig.27, 28) et dans (Fig. 39 Annexe 4)

Alors qu'une étude réalisée sur des extraits éthanolique de propolis provenant du Portugal a montré que les valeurs obtenues d'IC₅₀ sont de l'ordre de 0.006 mg/ml et 0.0025 mg/ml. Résultats de loin inférieurs à ceux trouvés dans notre étude, donc la propolis du Portugal a un pouvoir anti-radicalaire plus important que nos échantillons analysés (**Leandro M., et al., 2008**). Cette différence peut être due à la situation géographique et les conditions climatiques influençant le couvert végétatif des régions sources de butinage des abeilles.

L'objectif de cette étude est la valorisation de la propolis algérienne, issue de deux sites situés au Nord central du pays : Sidi Moussa et d'Ouled Yaich, dans le domaine de phytothérapie et santé en évaluant son pouvoir antimicrobien et anti-inflammatoire et antioxydant et, étudier ces caractéristiques physico-chimiques. Grâce à nos essais expérimentaux, nous avons constaté que les propriétés de la propolis Algérienne sont très nombreuses et peut être utilisée dans la médecine naturelle dans de nombreuses pathologies. Elle peut être considérée comme un antibiotique naturel et pour augmenter les défenses naturelles de l'organisme.

Les résultats ont montré que les deux échantillons de propolis sont de nature acide, l'échantillon d'Oued Yaich présente une acidité (pH= 4.14, Acidité=6,13) plus forte que celle de l'échantillon de Sidi Moussa (pH= 4.73, Acidité=5,24).

Les deux échantillons présentent une teneur en polyphénols différente. La teneur en polyphénols est de 70mg/g pour l'échantillon de Sidi Moussa moins élevé que celle d'Ouled Yaich (80mg/g). Le screening chimique montre que les deux échantillons renferment les mêmes composants qui sont (les polyphénols, les flavonoïdes, les sucres et les tanins).

La propolis est une substance aux propriétés antiseptiques, prédominantes, étendues à de nombreuses souches de micro-organismes bactériens et de champignons. Les essais réalisés pour les deux extraits éthanoliques de propolis, ont donné des résultats importants et ont été exprimés sur la souche bactérienne *Morganella* qui a donné une zone d'inhibition égale à 20mm par l'échantillon de Sidi Moussa et par l'échantillon d'Ouled Yaich avec une zone d'inhibition plus supérieure (21mm) sur la souche *Pseudomonas aeruginosa*. Pour l'activité anti fongique les deux échantillons ont donné une zone d'inhibition importante contre le champignon *Saccharomyces cerevisiae* qui est de 25mm pour Sidi Moussa et moins importante (16mm) par l'extrait d'Ouled Yaich.

Dans l'activité anti-inflammatoire, la réduction de l'œdème par l'extrait éthanolique de la propolis d'Ouled Yaich (25.78%) par la concentration 10% était plus importante que celle du Diclofénac (14.39%), tandis que la propolis de Sidi Moussa a révélé une réduction bien meilleure (47.75%) que celle du Diclofénac.

L'étude de l'activité antioxydants a révélé des propriétés anti oxydantes puissantes que possèdent les extraits éthanoliques de la propolis dans l'élimination des radicaux libres. Suivant les résultats qu'on a obtenus expérimentalement, nous pouvons déduire que la

propolis de Sidi Moussa présente une meilleure activité (92.44%) par rapport à celle d'Ouled Yaich (82.18%).

Selon ces résultats, on peut déduire que la propolis Algérienne a un effet thérapeutique (anti-inflammatoires, antioxydants antifongiques et antibactériens...etc) important et à ne pas considérer comme un déchet naturel.

Pour cela et en perspectives, nous proposons d'encourager et de former les apiculteurs dans le domaine de production de la propolis brute et sa récupération, de développer les techniques d'extraction et de purification de cette substance naturelle et de d'identifier le profile chimique du produit selon la situation géographique et le couvert végétal pour une éventuelle homologation et commercialisation.

Ces résultats pourrait ouvrir la voie pour l'explication des autres propriétés de la propolis, toutefois, il serait intéressant de poursuivre ce travail par :

- Détermination de compositions chimiques et caractéristiques globale physicochimiques (HPLC)
- L'étude de leur toxicité sur l'homme.
- Etudier autres propriétés telle que l'activité antivirale et anti-cicatrisante et antalgique.
- Etudier sa puissance pour prévenir le cancer et combattre les effets secondaires de la chimiothérapie.

Références bibliographiques :

1. **Amhis. M., Simoes, C.M., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M., 1992.** Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparaison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products* 55, 1732-1740.
2. **Amoros, M., Simoes, C.M., Girre, L., Sauvager, F., Cormier, M., 1992.** Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparaison with the antiviral activity of propolis. *Journal of Natural Products* 55, 1732-1740.
3. **Archambaud M.2009.** Méthodes d'évaluation de l'activité des antibiotiques in vitro 17 Mars-2009. Laboratoire Bactériologie-Hygiène CHU Rangueil Toulouse. P
4. **Bankova V., de Castro S.L., Marcucci M.C., 2000.** Propolis : récent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31 :3-15.
5. **Banskota A.H., Tezuka Y., Adnyana I.K., Midorikawa K., Matsushige Dejair M., Huertas A.G., Kodata S.2000.** Cytotoxique, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China. *Journal of Ethnopharmacology* 72(200) 239-246
6. **Barbaric M., Katarina M., Mirza B., Baus M., Asja S., Zeljko D., Marica M. 2011.** La composition chimique des extraits éthanolique de propolis et son effet sur les cellules Hela, *Journal d'Ethnopharmacologie*, (116) 220-231
7. **Berkan T., Ostunes I., Lermioglu F. et Ozer A., (1991)**-anti-inflammatory, analgesic and antipyretic effect of an aqueous extract of *Neute, plantamedica* 57.34.37p.
8. **Bienenvolk .Z (2006):** Miel produits apicoles de l'apiculture maison, revue scientifique p2.
9. **Bogdanov S., Gallman P., Stangacius S., Cherbuliez T.2006.** produits apicoles et sante, edition apitherapy consulting, Bucarest, Roumanie, 51p
10. **Bogdanov S., Gallmann P., Cherbuliez T. (2006) :** produits apicoles et santé, Edition Apitherapy consulting, Bucarest, Roumanie, 51p.
11. **Boyanova, L., Kolarov, M., Kilgova, G., Mitov, M (2006).** In vitro activity of Bulgarian à completer
12. **Bufalo C., Joao M., Cadeias M.G., Sforcin J.M.2007.** In vitro Cytotoxic Effet of Brazilian Green Propolis on Human Laryngeal Epidermoid Carcinoma (Hep-2) Cells. 6(4)483-487.
13. **Buratti .S. Benedetti.S.; Cosio.M.S.2007.** Evaluation of the antioxidant power of honey, propolis and royal jelly by amperometric flow injection analysis. *Talanta* 71: 1387-1392.
14. **Caillas A. (1974) :** Le rucher de rapport (les produits de la ruche), édition syndicat national d'apiculture, 5rue de Copenhague 75008 paris, 534p.
15. **Caillas A.1974.** le rucher de rapport les produits de la ruche édition syndicat national d'apiculture 5 rue de copenhagen 75008 parie 534 page
16. **Chauvin R.1968.** pollen c'est moi, revue d'apiculture française n 416 p 20.
17. **Cizmarik, J., Trupl, J (1976).** Effect of propolis on bacteria. *Pharmazie* 31, 656-7.
18. **Colot M. (1972)** Notion technique de pharmacologie générale. Masson & Cie Editeurs, Paris-IV, 137p.

19. Composition chimique et activité antimicrobienne de l'huile essentielle de *Cladanthusmixtus*. Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 146 : 85-96.
20. **Cushnie T.P., Hamilton V.E., Chapman D.G., Taylor P.W., Lamb A.J.2007.**
aggregation of *Staphylococcus aureus* following treatment with antibacterial flavonol galangin. *Journal of applied Microbiology*. 103(5) :1562-7.
21. **Debuyser E. (1983)** : La propolis, Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, édition DIMATEL, 34p.
22. **Debuyser E.1983.** la propolis thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie, galangin. *Journal of Applied Microbiology*.103(5) :1562-7.
23. **Docteur Yves Donadieu**, Les produits de a ruche. 3éme Edition 1981.
24. **Domerego R.2003.** L'apithéra-pie, médecine des abeilles, Edition Amyris, 225 pages.
25. **Dument J.2011.** Un antibiotique naturel : la propolis. Journée de la médecine alternative. Zénith de Toulouse.
26. **Escanu, V., Prahoveanu, E., Cricsan, I., Cioca, A (1981).** The effect of aqueous propolis extract on experimental influenza virus infection in mice. *Virologie* **32**, 213-5.
27. **Fenge Li., Awwale S., TEZUKA T., Kadota S., 2008.** Cytotoxic constiteuents from Brazilian red propolis and their structure activity relationship. *Biorganic and Medicinal chemistry* 16 :5434-5440.
28. **Freitas F., Dias A.L., Ramos CL., Ikegaki M., de Siqueira A.M., Franco M.C. 2007.**
The " in vitro " antifungal activity evaluation of propolis G12 ethanol extract on *Cryptococcus neoformans*, *Rev Inst Med Trop Sao Paulon* ; 49(2) :93-5.
29. **Garoui E.M., Troudi A., fetoui H., Soudani N., Boudawara T., Zeghal N. 2011.**
Propolis attenuates colbat induced-nephrotoxicity in adult rats and their progeny.Elsevier.PubMed.
30. **Ghisalberti E.L.1997.** Propolis : a review. *Bee Wold* 60 :59-84
31. **Grange, J.M, Davey, P. W (1990).** Antibacterial properties of propolis. *Journal of The Royal Society of Medecine* **83**, 159-160.
32. **Gunduz C., Biray C., Kosova B., Yilmaz B., Eroglu Z., Sahin F., Cogulu O. 2005.**
Evaluation of Manisa propolis effect on leukemia cell line by telomerase activity, *Leukemia Research*, Volume 29, 1343-1346.
33. **Higashi, K. O, De Castro, S. L (1995).** Effect of different formulations of propolis on mice infected with *Trypanosomacruzi*. *J. Ethnopharmamology* 46, 55-8.
34. **Kalogeropoulos N., Spyros J., Troullidou K., Mourtzinos E., Vaios I., Karathanos T.2009.** Chemical composition, antioxidant activity and antimicrobial properties of propolis extracts from Greece and Cyprus, *Food Chemistry* 116 (2009) 452-461.
35. **Kamazawa S., Tanguchi M., Suzuki Y., Suzuki Y., Shimra M., Kwon M-S et Nakayama T. 2002.** Antioxidant activity of polyphenols in corob pods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 373-377.
36. **Kedzia, A (1986).**Effect of ethanol extract of propolis (EEP) on anaerobic bacteria. *HerbaPolonia* 32, 53-58.
37. **Khadzai. Y.I, Obolentseva.G.V,Serdyuk.A.D(1969):** pharmacology of acadetin, edition Farmak Toks (Moscou),pp 451-453.

38. **Krell R.1996.** Value _edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone. Chapitre 5.
39. **Krell R.1996:** value added products from beekeeping, FAO food and agriculture organization, of the United Nations, Roma 150p.
40. **Kumazawa S., Hamasha T., Nkamura T.2003.** Antioxidant activity of propolis of various geographic origins, Food chemistry 84.329-339
41. **Le François P., Françoise R.2010.** Functional properties of honey, propolis, and royal jelly, J Food Sci; 73(9): r 117-24.
42. **Lejeune B., Pourrat A., Dehmouch H. 1988.** Propolis utilisation en dérmocosmétique. Parfum, cosmétique, aromes : 73-77.
43. **Maksimova-Todorova, v., Manolova, N., Gegova, G., Serkedzhieva, Y., Uzunova, S., Pancheva, S., Marekov, N., Bankova, V (1985).** Antiviral effects of some fractions isolated from propolis. Acta Microbiologica Bulgaria 17, 79-85.
44. **Mani F., Damasceno H., Novelli E., Martins E., Sforcin M.2006.** Propolis : Effect of different concentrations, extracts and intake period on seric biochemical variables, journal of Ethnopharmacology. Volume 105, Pages 95-98.
45. **Marchenay P. (1977) :** la propolis, copyright of Philippe Marchenay, 35p.
46. **Marcucci M.1995.** Propolis : chemical composition, biological propeties and therapeutic activity. Apidologie, 26, 83-99
47. **Martini MC and Seiller M, (2006),** Actifs ET additifs en cosmétologies, 3éme édition, Lavoisier, p338-350
48. **Meresta L, Meresta T (1985).** An attempt to use propolis extract in the treatment of mastitis of cows. Med Weter 41, 489-492 (in Polish), ApicAbstr (1988) 39(3)
49. **Meyer.W (1956):** Propolis bees and their activities, edition Bee world, 36p.
50. **Mizuno M., Linuma M., Kato H. 1987.** Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, 15(2): 20-28.
51. **Mlagan V., Sulimanovic D. 1982.** Action of propolis solution on Bacillus larvae, *Apiacta* 17, 16-20.
52. **Morales WF, Garbarino JL. (1997)** Clinical evaluation of a new hypoallergic formula of propolis in dressings. In : Mizrahi A, Lensky Y, editors. Bee products : Properties, Application and Apitherapy. New York : Plenum Press ; pp. 101-105
53. **Neumann D., Gotze G., Binus W. 1986.** Clinical study of the testing of inhibition of plaque and gingivitis by propolis. *Stomatology der DDR*: 677-681.
54. **Nolkemper S., Reichling J., Sensch K.H., Schnitzler P.2009.** Mechanism of herpes simplex virus type 2 supression by propolis extracts.
55. **Nolkemper S., Reichling J., Sensch K.H., Schnitzler P.2009.** Mechanism of herpes simplex virus type 2 suppression by propolis extracts.
56. **Nowotnick.K (1997):** Propolis, Gewinnung-Anwendung-Rezepte edition Leopold Stocker Verlag Graz.
57. **Ota, C., Unterkircher, C., Fantimato, V., Shimiz., M. T (2001).** Antifungal activity of propolis on different species of Candida.Mycoses 44, 375-8.
58. **Ozcan, M (2004).** Inhibition of *Aspergillus parasitius* NRRL 2999 by pollen and propolis extracts. J Med Food 7, 114-6.
59. **Pellati F., Orlandini G., Pinettib., Benvenuti S.2011.** HPLC-DAD et les méthodes de profilage HPLC-ESI-MS/MS métabolite de la propolis extrait, Journal of pharmaceutic and biomédicale analysis. .03.024

60. **Pepeljnak, S., Maysinger, D., Jalsenjak, I (1982).** Effet of propolis extract on some fungi. *ScientiaPharmaceutica* 50, 165-7.
61. **Popova M., Trusheva B., Antonova D., Cutajar ., Mifsud S., Farrugia D., Tsvetkova C.I., Najdenski H., Bankova V.2010,** The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta, *Food Chemistry* 126 (2011) 1431- 1435.
62. **Popova M., Trusheva B., Antonova D., Cutajar , Mifsud S., Farrugia D., Tsvetkova C.I., Najdenski H., Bancova V.2010,** The specific chemical profile of Mediterranean propolis from Malta, *Food Chemistry* 126(2011) 1431-1435.
63. **Rojas Hernandez, N. H., Candelario, M., Oliveras, E (1993).** Antimicrobial activity of propolis against representatives of the genus *Mycobacterium*. *Revista Biologica (Habana)* 7, 69-75.
64. **Santos, F. A., Bastos, E. M. A., Uzed, M., Carvalho, M. A. R, Farias, L. M., Moreira, E. S. A., Braga, F. C (2002).** Antibacterial activity of Brazilian propolis and fractions against oral anaerobic bacteria. *J of Ethnopharmacology* 80, 1-7. Propolis against 94 clinical isolates of anaerobic bacteria. *Anaerobe* 12,173-177.
65. **Satrani B., Fougrach H., Bourkhiss B., Bousta D., Talbi M. 2007**
66. **Scazzocchioun F., D'auria, F.D., Alessandrini D., Pantanella F.2006.** Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research* 161, 327-33.
67. **Scazzocchioun F., D'auria, F.D., Alessandrini D., Pantanella F.2006.** Multifactorial aspects of antimicrobial activity of propolis. *Microbiological Research* 161, 327-33.
68. **Schmidt, J.O., S.L. Buchmann, 1992:** Other products of the hive. In: *The Hive and the Honeybee*. J.M. Graham, ed. Dadant & Sons, Hamilton, USA. PP. 927-988.
69. **Sforcin J.M., Fernandesjr A., Lopes C.A.M., Bancova V., Funari S.R.C. ncll**
Seasonal effet on Brazilian propolis antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology* Volume 73, Pages 243-249.
70. **Sforcin J.M., Fernandesjr A., Lopes C.A.M., Bankova V., Funari S.R.C. ncll**
Seasonal effect on Brazilian propolis antibacterial activity, *Journal of Ethnopharmacology* Volume 73, Page 243-249.
71. **Sforcin J.M., Orsatti C.L2011.** Propolis immunomodulatory activity on TLR-2 and TLR-4 expression by chronically stressed mice. U.S. National library of Medicine National Institutes of Health.
72. **Shigenori K., Nakamura J., Masayo M., Mariko M., Mok R., Shuichi F. 2008.** Plant origin of Okinawa propolis : honebee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften* (2008) 95 :781-786.
73. **Sibeli S., Kutulka S., 2005.** Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected dy three different races of honebees in the same region. *Joutnal of Ethnopharmacology* 99 :69-73.
74. **Singleton V., Orthofer R et lamuela-Raventos R. 1999.** Analysis of total phenols and other oxidation substrates and antioxydants by means of folin-ciocalteau reagent. *Method of enzymology*, 299, 152-178.
75. **Stefano Castaldo and Francesco Capasso, (2002).** Propolis, an old remedy used in modern medicine. *Fitoterapia*. Volume 73, Supplement 1, Page S1-S6.

- 76. Tosi A., Enro A.C., Maria C., Ampelio C., Tapiz F., Lui M.2006.** Physicochemical characteristics of propolis collected in Santa Fe(Argentine). APIACTA 41 (2006) PAGE 110-120.
- 77. Ugur, A., Arslan, T (2004).** An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. Med Food 7, 90-94.
- 78. VELOZO.F, BIDARD.F, FRANCON.P, HERNANDEZ.S, PERCIE DU SERT.P (2006) :** la propolis, ses vertus et ses modes d'action, CD ROM pollenergie.

Annexe 1

1- Appareillage :

- Etuve de stérilisation à 50°C, 37°C, 25°C
- Balance
- Bain marie thermostat
- Agitateur vortex
- Réfrigérateur à 37°C
- Bec Benzène
- Spectrophotomètre UV
- Evaporateur type rota vapeur
- pH mètre
- la loupe

2- Verrerie et accessoires :

- Fioles
- Tubes à essais stériles
- Becher
- Pince
- Boîtes de pétri rondes 90mm
- Erlen Meyer
- Les pipettes graduées
- Les pipettes pasteurs
- Micropipettes
- Antonoires
- Les écouvillons
- Papier filtres
- Tubes a hémolyse
- Seringue de 1 mm
- Seringue de gavage
- Ciseau
- Les disques 9 mm

3- Réactifs :

- Eau physiologique
- Alcool éthylique à 96%
- Méthanol
- Eau distillée stérile
- Chlorure de fer III FeCl₃ (5%)
- Chlorure d'aluminium AlCl₃
- Acide sulfurique (10%)

- Dragenodorff
- Fehlink
- Folin-ciocalteu
- Acide gallique
- Carbonate de sodium (20%)
- Hydroxyde de sodium
- Milieu de culture
 - Gélose Sabouraud
 - Gélose Mueller Hinton
- DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyl)
- **Tween 80** : Polysorbate 80

Famille : Emulsifiant, gélifiant, stabilisant.

Description : se présente sous forme de liquide huileux de couleur citron à ambre à 25°C ayant une légère odeur caractéristique.

Risque : Sans danger.

Annexe 2

Tableau 14 : les résultats d'évaluation du poids des pattes postérieures des souris.

Lot de l'eau physiologique		Lot de déclofinac		Lot dilution 3% P.SM		Lot dilution 3% P.OY		Lot dilution 5% P.OY		Lot dilution 5% P.SM		Lot dilution 10% P.OY		Lot dilution 10% P.SM	
Poids															
PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G	PP D	PP G
0.14	0.20	0.16	0.25	0.12	0.18	0.15	0.22	0.13	0.19	0.17	0.24	0.14	0.21	0.16	0.23
0.10	0.13	0.11	0.15	0.14	0.17	0.12	0.16	0.15	0.18	0.13	0.17	0.14	0.18	0.15	0.19
0.10	0.13	0.10	0.12	0.11	0.14	0.12	0.15	0.11	0.14	0.12	0.15	0.11	0.14	0.12	0.15
0.12	0.15	0.13	0.17	0.14	0.18	0.13	0.17	0.14	0.18	0.13	0.17	0.14	0.18	0.13	0.17

PPD : patte postérieure droite

PPG : patte postérieure gauche

P.SM : propolis de Sidi Moussa

P.OY : propolis d'Ouled Yaich

Tableau 15 : pourcentage d'œdème et réduction d'œdème des quatre lots

Lots	% d'œdème	% de réduction de l'œdème
Lot de l'eau physiologique	26,95%	0
Lot de déclofinac	24,66%	8,49 %
Lot dilution 3% P.SM	23,07%	14,39%
Lot dilution 5% P.SM	18,18%	32,54%
Lot dilution 10% P.SM	14,08%	47,75%
Lot dilution 3% P.OY	25,6%	5%
Lot dilution 5% P.OY	25%	7,23%
Lot dilution 10% P.OY	20%	25,78%

Annexe 3

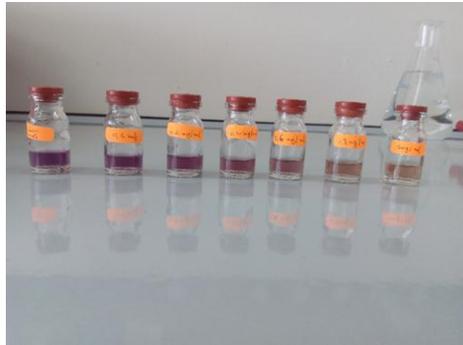


Figure 29 : Changement de couleur de DPPH de violet vers le jaune(*originale 2017*)



Figure 30 : Résultats de la ZI dans *Aspergillus niger* (a gauche l'échantillon d'Ouled yaich et a droite l'échantillon de Sidi moussa) a concentration 20% (*originale 2017*)



Figure 31: Résultat des zones d'inhibition des témoins positives (antibiotiques)
(*originale 2017*)

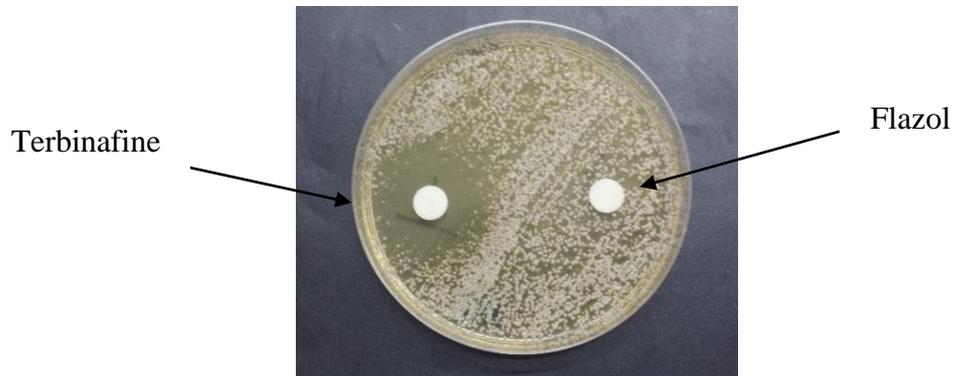


Figure 32 : Résultats de témoin positif dans *Saccharomyces cerevisiae* (*originale 2017*)

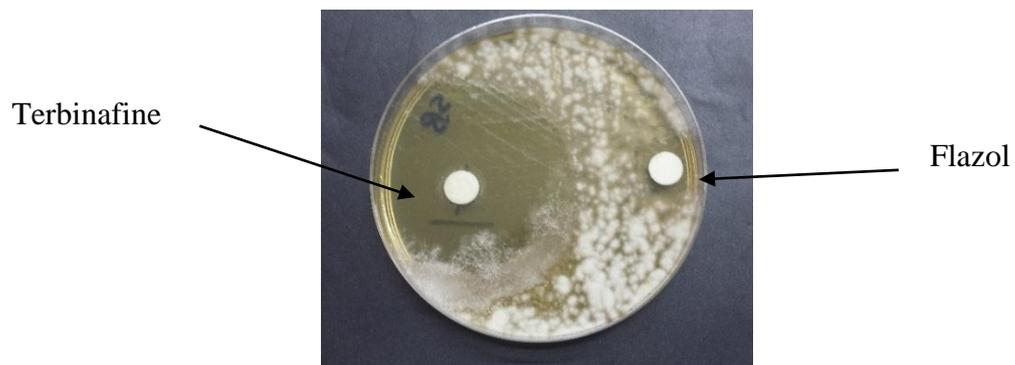


Figure 33 : resultats de temoin positif dans *Aspergillus niger* (*originale 2017*)

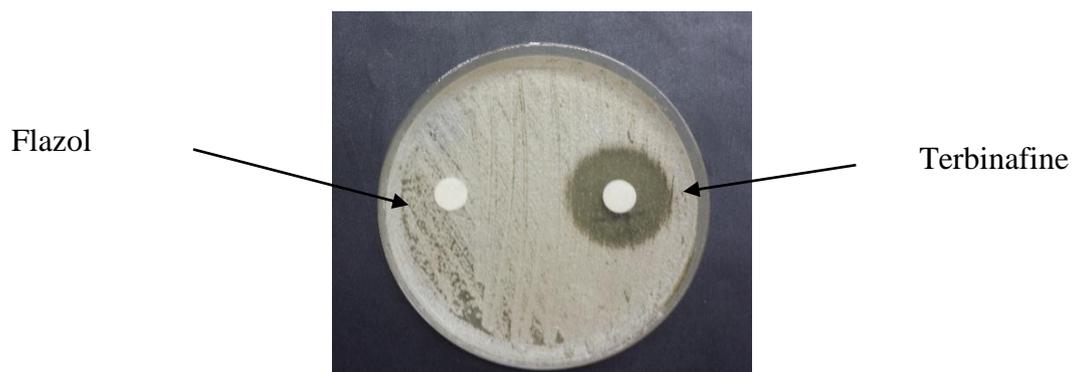


Figure 34 : résultats de témoin positif dans *Candida albicans* (*originale 2017*)

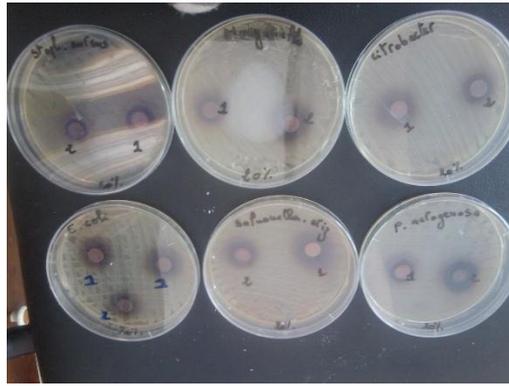


Figure 35 : résultats des ZI des deux échantillons de propolis à concentration 20%
(originale 2017)



Figure 36 : emplacement des ruches dans la région d'Ouled Yaich (originale 2017)



Figure 37 : emplacement des ruches dans la région de Sidi Moussa (originale 2017).

Annexe 4

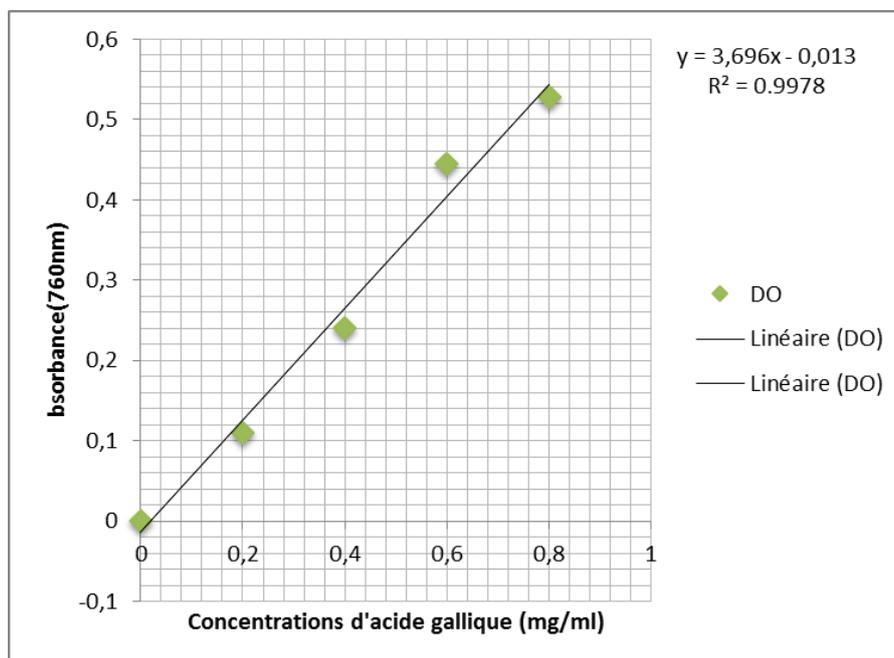


Figure 38 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique. (Originale, 2017)

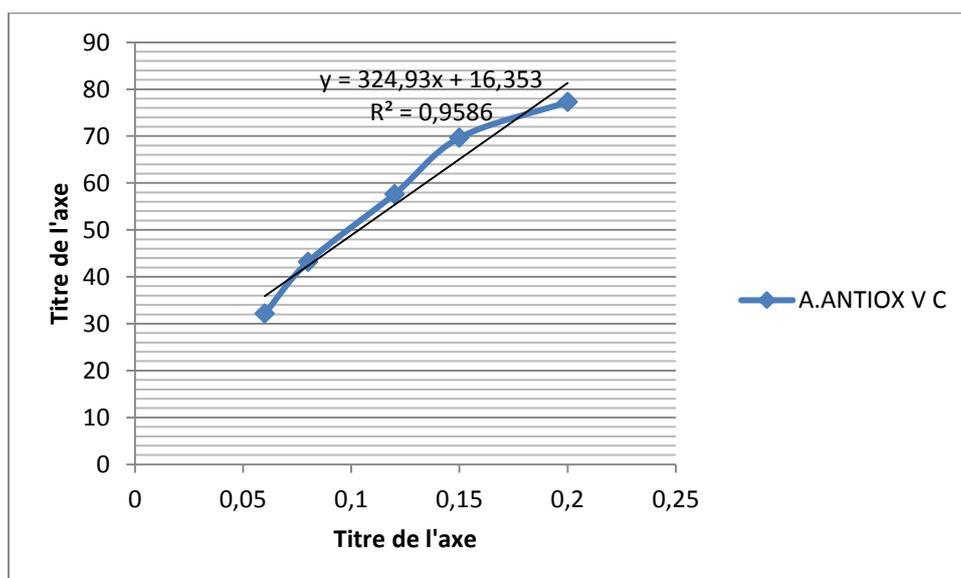


Figure 39 : variation de l'activité de piégeages du radical libre DPPH en fonction de la variation de la concentration des antioxydants de référence.

Préparation de dilution de l'extrait de la propolis :

Pour l'activité antimicrobienne :

5mg de l'extrait → dans 100 ml de tween 80 (5%)

10mg de l'extrait → dans 100 ml de tween 80 (10%)

20mg de l'extrait → dans 100 ml de tween 80 (20%)

Pour l'activité antioxydant :

La solution mère : Co = 1mg/ml

Tableau 16 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 10%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi Moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled Yaich en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	13	12
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	12	11
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	13	12
<i>Morganella</i>	Résistante	Résistante
<i>Salmonella arizona</i>	14	13
Champignons		
<i>Candida albicans</i>	Résistante	Résistante
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	Résistante	Résistante
<i>Aspergillus niger</i>	Résistante	Résistante

Tableau 17 : Résultat des zones d'inhibition des deux échantillons des concentrations à 20%

Souches microbiennes	ZI/échantillon de Sidi Moussa en (mm)	ZI/échantillon d'Ouled Yaich en (mm)
Bactéries		
<i>Staphylococcus aureus</i>	17	14
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	16	21
<i>Escherichia coli</i>	Résistante	Résistante
<i>Citrobacter</i>	17	16
<i>Morganella</i>	20	16
<i>Salmonella arizona</i>	19	15
Champignons		
<i>Candida albicans</i>	11	11
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	25	16
<i>Aspergillus niger</i>	16	15

