

République Algérienne Démocratique Et Populaire

Université Abdelhamid Ibn  
Badis-Mostaganem  
Faculté des Sciences de la  
Nature et de la Vie



جامعة عبد الحميد بن باديس  
مستغانم  
كلية علوم الطبيعة و الحياة

DEPARTEMENT D'AGRONOMIE

N°...../SNV/2018

MÉMOIRE DE FIN D'ÉTUDES

Présenté par

**BENSALAH NOURHANE**

**BELHADJ ANFAL**

Pour l'obtention du diplôme de

**MASTER ENAGRONOMIE**

**Spécialité :Contrôle et Qualité Alimentaire**

THÈME

**Etude comparative du contenu en polyphénols totaux et de l'activité  
antimicrobienne de trois extraits de propolis locale**

Soutenue publiquement le 13/09/2018

DEVANT LE JURY

Président	<b>BEKADA Ahmed</b>	Professeur	<b>U. Mostaganem</b>
Examineur	<b>BENAKRISHE Mohamed</b>	Professeur	<b>U. Mostaganem</b>
Encadreur	<b>BENBOUZIANE Bouasria</b>	M.C.B	<b>U. Mostaganem</b>

*Thème réalisé au Laboratoire de Microbiologie N°03 Site III. Univ-Mosta*

Année Universitaire : 2017/2018

## Remerciements

De prime abord nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadreur Mr **Bouasria Benbouziane** Maitres de conférences à l'université de Mostaganem, qui nous a fait confiance à nouveau en s'engageant à nos côtés dans ce travail, nous faisant profiter de son savoir, et nous offrant sa présence tout au long de ces longs mois d'efforts.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury pour l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche , au professeur **Bekada Ahmed** de l'université de Timsilet qui nous a fait l'honneur d'accepter de présider le jury , ainsi qu'au professeur **Benakriche Mohamed** de l'université de Mostaganem pour avoir accepté d'examiner notre travail et de l'enrichir par ses propositions.

Nous remercions également Mr **Bouzouina Mohamed** Maitres de conférences qui nous a ouvert de bonne volonté les portes de son laboratoire, nous prodiguant conseils et aide, ainsi qu'à l'ensemble des ingénieurs qui nous y ont épaulé, on nomme : **Rachida, Rachida, Rabiae, Redouane.**

Nos remerciements s'étendent également à Mr **Djilali Benbouziane**, responsable du laboratoire de microbiologie numéro 3, pour sa présence ses encouragements et toute la patience dont il a fait preuve à notre égard.

Nous remercions de même les responsables de salle d'autoclavage.

Un grand merci également à Melle **Boufadi yasmina** qui a partagé avec nous son Protocol, ainsi qu'à ses collègues **Sarah chaa** et **Djahira Hamed** pour leurs conseils et les souches bactériennes qu'elles nous ont fourni.

Nous tenons à présent à remercier Mr **Semmadj Kamel** responsable de l'association des apiculteurs de nous avoir dirigé vers Mr **Hadj Lahcen** apiculteur qui nous a fourni les deux échantillons de propolis de Mostaganem ; ainsi que Mr **Djillali bouzina Nabil** qui nous offra l'ensemble de sa récolte en Propolis de Chlef.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tout le corps enseignant et tout membre de notre université, côtoyés au court de ces cinq années.

Merci à tous ceux qui de prêt ou de loin ont contribué à la réalisation de ce travail, rien de tout cela n'aurait été possible sans vous.

## *Dédicace*

Je dédie ce travail à mon rock l'homme de ma vie mon père Nourdine BENSALAH, à mon inspiration et modèle, cette femme plus forte que la vie elle-même ,maman Dr.Wassyla SEBBANE, à mon protecteur et mon sang ,mon frère Nourdine Mohamed , à ma chérie ma jumelle Chahinez ,ma bien-aimée sœur Meriem, à l'ensemble de ma famille oncles tantes, cousin(e)s ,à la patriarce de notre famille ma grand-mère , mima fatma BENHAMOUDA ,à mon Mohamed à jamais présent dans mon cœur ainsi que toute sa famille .

En hommage à tous ceux qui nous ont brutalement quitté cette année, tante kheira, ba sidi Hadj Hmida, oncle Alaa ; puisse Dieu les accueillir en son vaste Paradis ; ainsi qu'à tous mes aïeux, BENSALAH, SEBBANE, KHITIB, BENHAMOUDA, MKHATRIA et BOUZID.

A l'ensemble de la famille OULDBEY, nos chers amis, toujours présents à nos cotés, ainsi qu'à monsieur LABDAOUI Djamil pour son inestimable et infailible soutien.

À celle qui m'a toujours suivie dans mes idées aussi invraisemblables et difficiles qu'elles aient puparaitre, durant ces 5 années, ma sœur de cœur Ikbal Anfal BELHADJ, ainsi qu'à l'ensemble de sa famille.

Je souhaite également profiter de cette chance pour témoigner de mon immense gratitude envers mon enseignant Dr .BENBOUZIANE , je lui serais à jamais grée de toute la bonne volonté qu'il a toujours mis en son enseignement nous poussant à nous dépasser et exploiter tout notre potentiel ainsi que de sa bonne humeur contagieuse et toute l'énergie positive qu'il a au long de ces 5 années d'enseignements partagé avec nous .

À la mémoire de ce qui a été perdu le 27 octobre 2017.

À la lumière de Salomon :

« Science sans conscience n'est que ruine de l'âme »

*François RABELLAIS*

*Camélia Nourhane BENSALAH*

## *Dédicace :*

Tout d'abord, je tiens à remercier le bon **Dieu** le tout Puissant de m'avoir donné la force et le courage de mener à bien ce modeste travail.

Je dédie ce travail à mes chers parents **Mimi** et **Mohamed**, pour tous leurs sacrifices, leur amour, leur tendresse, leur soutien et leurs prières tout au long de mes études,

A ma très chère sœur **Achouak**, son mari **Mouard** et leurs garçon **Wassim** pour leurs encouragements permanents, et leur soutien moral.

A mes chers frères **ABDOU**, **ISLAM**, **OUSSAMA** pour leur appui et leur encouragement

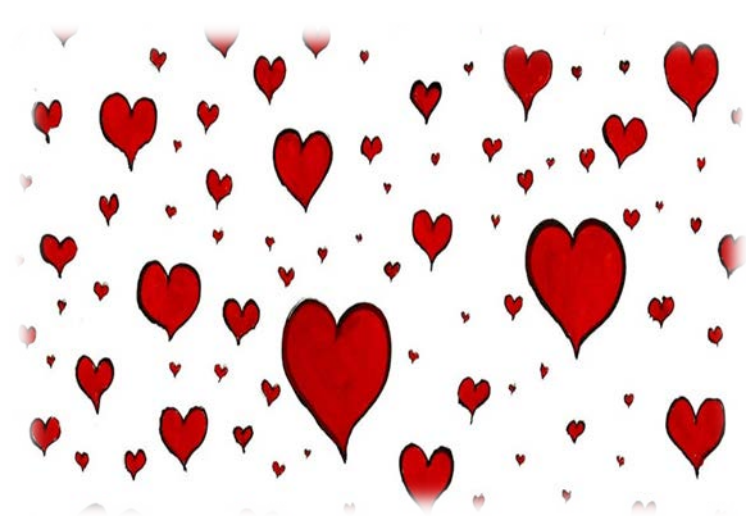
A toute ma famille pour leur soutien tout au long de mon parcours universitaire et surtout mon oncle **Houssine**.

A celle que j'aime beaucoup et qui m'a soutenue tout au long de notre projet ma sosie et mon binôme **Nourhane** et toute la famille **BENSALAH**.

A tous mes amis et à toute la promo de contrôle de qualité alimentaire.

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infallible

Aucune dédicace ne saurait exprimer l'amour, l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous. Merci d'être toujours là pour moi.



*Anfal*

## Liste des figures

<b>Figure N° 01</b> : Extrait de propolis brute	<b>01</b>
<b>Figure 02</b> : Raclage de la propolis sur les cadres de la ruche	<b>03</b>
<b>Figure 03:</b> Plante de Mahang ( <i>Macaranga tanarius</i> )	<b>05</b>
<b>Figure N°04:</b> pin ( <i>Pinus</i> sp).	<b>06</b>
<b>Figure N°05</b> : Chêne.	<b>07</b>
<b>Figure N°06</b> : Cyprès ( <i>Cupressus sp</i> ).	<b>07</b>
<b>Figure N°07:</b> Châtaignier.	<b>07</b>
<b>Figure N°08:</b> Formule chimique de la pinocembrine	<b>17</b>
<b>Figure N°09</b> : formule chimique de l'acide caféique	<b>17</b>
<b>Figure 10</b> : Structure de base des flavonoïdes	<b>20</b>
<b>Figure N°11</b> : Méthode d'extraction des polyphénols totaux de la propolis	<b>25</b>
<b>Figure N°12</b> : Dosage des polyphénols totaux	<b>27</b>
<b>Figure N°13</b> : Dosage des flavonoides totaux	<b>29</b>
<b>Figure N°14</b> : Méthode des puits AWDT	<b>32</b>
<b>Figure N°15</b> : Méthode des puits AWDT + Disques	<b>34</b>
<b>Figure N°16</b> : Antibiogramme liquide	<b>35</b>
<b>Figure N°17</b> : Rendement de l'extrait éthanoïque de propolis sec (EEP)	<b>37</b>
<b>Figure N° 18</b> : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.	<b>39</b>
<b>Figure N°19</b> : Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de propolis	<b>40</b>
<b>Figure N°20</b> : Droite étalon de rutine	<b>41</b>
<b>Figure N°21</b> : Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits de propolis.	<b>42</b>
<b>Figure N°22:</b> Zones d'inhibitions du <i>Candida albican</i> Par la méthode des puits	<b>44</b>
<b>Figure N° 23</b> : Moyenne d'inhibition pour <i>Candida Albicans</i>	<b>45</b>
<b>Figure N°24:</b> Zones d'inhibitions du <i>Bacillus cereus</i> Par la méthode des puits	<b>47</b>
<b>Figure N° 25</b> : Moyennes d'inhibition pour <i>Bacillus Cereus</i>	<b>48</b>

## Liste des tableaux

<b>Tableau N°01</b> : La source botanique de la propolis selon les différentes régions.	<b>04</b>
<b>Tableau N°02</b> : Comparaison entre la composition de Peuplier ( <i>Populus nigra</i> ) et celle de la propolis	<b>06</b>
<b>Tableau N°03</b> : Mesure des CMI limitant le développement des levures	<b>16</b>
<b>Tableau N°04</b> : caractéristique de provenance des échantillons de propolis.	<b>22</b>
<b>Tableau N°05</b> : Les souches utilisées	<b>31</b>
<b>Tableau N°06</b> : Absorbance de l'acide gallique à différentes concentrations	<b>38</b>
<b>Tableau N°07</b> : absorbances de la rutine à différentes concentrations	<b>40</b>
<b>Tableau N°08</b> : quantité de flavonoïdes en équivalent de rutine pour chaque EEP.	<b>42</b>
<b>Tableau N°09</b> : mesure des diamètres des zones d'inhibition de <i>Candida Albicans</i>	<b>43</b>
<b>Tableau N° 10</b> : pourcentage d'inhibition en fonction de concentration en EEP.	<b>43</b>
<b>Tableau N° 11</b> : mesure des diamètres des zones d'inhibition de <i>Bacillus Cereus</i>	<b>46</b>
<b>Tableau N° 12</b> : Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration en EEP	<b>47</b>

## Tables des matières

Remerciement

Dédicaces

Résumé – Abstract

Table des abréviations

Table des Figures

Table des tableaux

Introduction

<b>Partie bibliographique</b>	<b>Pages</b>
<b>Chapitre I : Généralités sur la propolis</b>	01
<b>I. Généralités sur la propolis</b>	01
<b>I.1. Définition de la propolis</b>	01
<b>I.2. Récolte de la propolis</b>	01
<b>I.2.1. Récolte de la propolis par les abeilles</b>	01
<b>I.2.1.1. L'âge de l'abeille</b>	02
<b>I.2.1.2. La race</b>	02
<b>I.2.1.3. La saison</b>	02
<b>I.2.1.4. Le climat</b>	02
<b>I.2.1.5. La géographie</b>	02
<b>I.2.2. Récolte de la propolis par l'homme</b>	02
<b>I.3. Origine botanique</b>	03
<b>I.3.1. Différente propolis du monde</b>	03
<b>I.3.2. Différente propolis d'Algérie</b>	05
<b>I.3.2.1. Quelques plantes source de la propolis en Algérie</b>	
<b>I.4. Caractéristiques physico-chimiques de la propolis</b>	08
<b>I.4.1. Caractéristiques physiques</b>	08
<b>I.4.1.1. Organoleptique</b>	08
<b>I.4.1.1.1. Couleur</b>	08
<b>I.4.1.1.2. Odeur</b>	08

<b>I.4.1.1.3. Saveur</b>	08
<b>I.4.1.2. Caractéristiques physiques</b>	08
<b>I.4.1.2.1. Consistance</b>	08
<b>I.4.1.2.2. Solubilité</b>	09
<b>I.4.1.2.3. Densité</b>	09
<b>I.4.1.2.4 Point de fusion</b>	09
<b>I.4.2. Caractéristiques chimiques et toxicités</b>	09
<b>I.4.2.1. Chimique</b>	09
<b>I.4.2.2. Toxicité</b>	10
<b>I.5. Conservation</b>	11
<b>I.6. Développement de la filière apicole en Algérie</b>	11
<b>Chapitre II : Généralité sur l'utilisation de propolis</b>	13
<b>II.1. Utilisation par l'abeille</b>	13
<b>II.2. Utilisation par l'homme</b>	13
<b>II.2.1. Historique</b>	13
<b>II.2.2. Actuelle</b>	14
<b>II.2.2.1. Cosmétique</b>	14
<b>II.2.2.2. Médecine</b>	14
<b>II.2.2.3. Technologie alimentaire</b>	14
<b>II.3. Effets biologiques associés à la propolis</b>	15
<b>II.3.1. Effet antimicrobien</b>	15
<b>II.3.1.1. Effet antibactérien</b>	15
<b>II.3.1.2. Effet antifongique</b>	15
<b>II.3.2. Effet anti-inflammatoire</b>	18
<b>II.3.3. Effet antioxydant</b>	18
<b>II.4. Généralités sur les composés phénoliques</b>	19
<b>II.4.1. Définition des polyphénols totaux</b>	19
<b>II.4.1.1. Activité antioxydante des polyphénols</b>	19
<b>II.4.2. Définition des flavonoïdes totaux</b>	20
<b>II.4.3. Polyphénols de la propolis</b>	20
<b>Partie expérimentale :</b>	
<b>Chapitre III : Matériels et méthodes</b>	22
<b>III.1. Présentation de la matière première</b>	22

III.2. Présentation des échantillons	23
III.3. Présentation du lieu de l'étude expérimentale	23
III.4. Etude de l'activité physico-chimique	23
III.4.1. Appareillages	23
III.4.2. Réactifs et solutions	23
III.4.3. Verreries et petits matériels	24
III.4.4. Méthodologies utilisées	24
III.4.4.1. Extraction des polyphénols totaux	24
III.4.4.2. Dosage des polyphénols et flavonoïdes totaux	26
III.4.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux	26
III.4.4.2.2. Dosage des flavonoïdes	28
III.5. Etude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits ADT	30
III.5.1. Appareillages	30
III.5.2. Milieux de culture	30
III.5.3. Solutions	30
III.5.4. Verreries et petits matériels	30
III.5.5. Principales espèces bactériennes utilisées	31
III.5.6. Réactivation des souches étudiées	31
III.5.7. Préparation de solution mère	31
III.5.8. Recherche d'antagonisme Souches pathogènes vs Extrait de propolis	31
III.5.8.a. Teste de sensibilité (pré analyse)	31
III.5.8.b. L'effet inhibiteur de la propolis sur le développement de bacillus aureus et candida albican	33
III.5.8.b.1. Antibiogramme sur gélose	33
III.5.8.b.2. Antibiogramme liquide	34
III.6. Etude statistique	36
<b>Chapitre IV : Résultats et discussion</b>	37
IV.1. Résultats de l'activité physico-chimique	37
IV.1.1. Rendement de l'extraction des polyphénols totaux de la propolis	37
IV.1.2. Résultats de dosage des polyphénols totaux	38
IV.1.2.1. La courbe étalon de l'acide gallique	38
IV.1.2.2. Résultats de dosage des polyphénols totaux de la propolis	39
IV.1.3. Résultats de dosage des flavonoïdes totaux	40

<b>IV.1.3.1.</b> La courbe étalon de rutine	40
<b>IV.1.3.2.</b> Résultats de dosage des flavonoïdes totaux de la propolis	41
<b>IV.2.</b> Résultats de l'activité microbiologique	43
<b>A)</b> <i>Candida albican</i>	43
<b>B)</b> <i>Bacillus cereus</i>	46

Conclusion

Les références

Annexes

Résumé – abstract

## Table des abréviations

EEP : Extrait éthanolique de propolis

EAP : Extrait d'acétate éthyle de propolis

Mg : magnésium.

Zn : zinc.

Al : aluminium.

Mn : Manganèse.

Fe : Fer.

Cu : Cuivre.

Si : Silicium.

Sn : Étain.

Ni : Nickel.

B1 : Vitamine.

B2 : Vitamine.

B6 : Vitamine.

PP : vitamine B3 ou niacine.

CMI : Concentration minimale d'inhibition.

µg : Microgramme.

µl : Microlitre.

Mm : Millimètre.

mL : Millilitre.

Mg : Milligramme.

% : Pourcentage.

C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub> : la sakuranétine

CAPE : ester phényléthylique de l'acide caféique.

VIH : Virus de l'immunodéficience humaine (Sida)

DPPH°: diphénylpicrylhydrazyle

FRAP: Ferric ion Reducing Antioxidant Parameter.

ABTS: Sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azino-bis (3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique)

ROO: les peroxydes

ORAC: Oxygen Radical Absorbance Capacity.

O<sub>2</sub> °: Superoxide

A , C , E : Vitamines

UV : rayonnement ultraviolet.

Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> : carbonate de sodium.

RDT : Rendement.

AlCl<sub>3</sub> : trichlorure d'aluminium.

HPLC : Chromatographie en phase liquide à haute performance.

SDCA : Gélose sabouraud dextrose chloramphénicol.

MH : Muller-Hinton (Milieu de culture).

Disq : Disque d'antibiotique.

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> : Eau oxygéné.

R<sup>2</sup>: Coefficient de détermination.

Moy : Moyenne.

UFC : unité formant colonie.

## **Résumé**

La présente étude vise à évaluer le potentiel antimicrobien de l'extrait éthanoïque de propolis Algérienne propre à deux régions divergentes en climat et patrimoine floral, en soumettant à son action une sélection de trois souches bactériennes à savoir *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus* et *Bacillus Cereus*, ainsi que la souche fongique *Candida Albicans* ; la propolis a été extraite à l'aide d'éthanol 70%, deux méthodes d'antibiogramme à la fois solide et liquide ont été utilisées. L'activité antimicrobienne a été évaluée en équivalence avec les diamètres de zones d'inhibition mesurée en mm pour la diffusion sur agar, et par mesure de l'absorbance spectrophotométrique de la charge microbienne pour la méthode des tubes, après incubation à 37 °C pendant 24h pour les divers bactéries et à 25°C pendant 48h pour la souche fongique. Des différences significatives ont été observées tant entre les deux EEP qu'au niveau de la sensibilité suscitée chez les divers souches testées ; un des deux EEP s'est montré être le plus efficace.

### **Mots clés :**

Propolis, extrait éthanolique, antibiogramme, polyphénols totaux, inhibition.

## **Abstract**

The present study aims to evaluate the antimicrobial potential of the ethanoic extract of Algerian propolis specific to two divergent regions in climate and floral heritage, by subjecting to its action a selection of three bacterial strains namely *Escherichia Coli*, *Staphylococcus Aureus* and *Bacillus Cereus*, as well as the *Candida Albicans* fungal strain; propolis was extracted using 70% ethanol, two methods of antibiogram both solid and liquid were used. The antimicrobial activity was evaluated in equivalence with the diameters of inhibition zones measured in mm for agar diffusion, and by measuring the spectrophotometric absorbance of the microbial load for the tube method, after incubation at 37 ° C. during 24h for the various bacteria and at 32 ° C for 48h for the fungal strain. Significant differences were observed between the two PEFs as well as the sensitivity of the various strains tested; one of the two PEFs proved to be the most effective.

### **Key words:**

Propolis, ethanolic extract, antibiogram, total polyphenols, inhibition.

## Introduction

La nature nous offre une importante variété d'espèces cette diversité est possible grâce à la faculté qu'ont les êtres vivants à assurer leur survie les stratégies pour atteindre ce but sont multiples, mais le principe de base est de former un groupe solide.

Tous comme les fourmis les abeilles vivent en société elles sont organisées pour survivre en coopération et ainsi lutter contre certains prédateurs cependant cette concentration d'individus dans un espace restreint présente aussi des dangers la ruche est exposée à de nombreuses agressions microbiennes qui représentent une menace bien plus importante que les dits prédateurs.

Depuis plus de 50 millions d'années les abeilles résistent aux micro-organismes la population d'une ruche peut croître jusqu'à 60000 spécimens et dans ce milieu confiné il y a une quantité de germes pathogènes, Afin de se protéger contre ceci, les abeilles ont appris à fabriquer une substance miraculeuse la propolis.

La ruche est une société organisée avec des tâches bien réparties pour chaque individu, les butineuses récoltent nectar et pollen les gardiennes garantissent l'entrée de la ruche la reine assure la ponte des œufs des ventileuses assurent même la climatisation.

En produisant la propolis certaine, les butineuses jouent un rôle primordial pour le nettoyage et l'entretien de la ruche elles récoltent sur les bourgeons des arbres et arbustes des résines et des baumes qu'elles transforment avec une enzyme sécrétée par leurs systèmes glandulaires et mélangent avec la cire elles obtiennent une pâte la propolis.

Dès leurs retours à la ruche elles appliquent ce matériau au niveau des fissures et fontes chaque rayon et aussi enduisent d'une couche de propolis elles confectionnent également un tapis de propolis à l'entrée de la ruche obligeant chaque abeille qui entre à franchir cette barrière la colonie est alors protégée contre les germes.

Tout au long des siècles passés on trouve la trace de l'utilisation de la propolis elle fut délaissée à un moment laissant place aux antibiotiques et réapparut dans les années 60 où la science moderne permit de comprendre la complexité de cet amas de substance et d'identifier les principes actifs qui lui confèrent ses propriétés antimicrobiennes.

Bien que l'activité antibactérienne de la propolis ait été largement rapportée la littérature sur l'activité antimicrobienne de la propolis Algérienne est rare ; le présent travail a pour but de comparer la richesse en polyphénols totaux et d'invertir l'activité antimicrobienne de trois extraits de propolis recueillies dans deux régions de l'Algérie au niveau de Mostaganem et Chlef. ,4 souches microbiennes ont été utilisées pour l'étude.

## **I. Généralités sur la propolis :**

### **I.1. Définition de la propolis et provenances :**

La propolis est une substance produite par les abeilles qui constitue un mélange de cire et de matériel botanique comme les bourgeons, les résines végétales (**Fig. 01**). Elle est utilisée par les ouvrières pour colmater les trous et les fissures de leur ruche pour la protéger contre les conditions météorologiques défavorables et comme c'est une substance antiseptique, elle protège ainsi la ruche contre les contaminations bactériennes ainsi que les invasions étrangères [1] [2].



**Figure N° 01 :** Extrait de propolis brute

### **I.2. Récolte de la propolis :**

#### **I.2.1. Récolte de la propolis par les abeilles :**

La propolis est le nom donné à la substance résineuse qui est collectée par les abeilles à partir de différentes parties des plantes (branches, fleurs, pollen, bourgeons) [3] tout dépendant de la localisation géographique [4] [5]. Sa couleur varie du jaune pâle au brun foncé dépendant de la source et de son âge. Les abeilles ouvrières collectent cette résine dans les bourgeons d'arbres tels que le bouleau, le peuplier, le pin, l'aune, le saule et le palmier. Elle peut aussi provenir des substances sécrétées par les plantes, des substances lipophiles sur les feuilles, des mucilages, des gommes, des résines et des treillages.

Après avoir collecté cette résine des fissures dans les écorces des arbres et des bourgeons, les abeilles la mastiquent, des enzymes salivaires sont ajoutées et le produit partiellement digéré est mélangé avec de la cire et utilisé dans la ruche [4][6].

Cette récolte ne répond pas à des règles bien définies et constantes, elle dépend de nombreux facteurs, parmi lesquels nous pouvons dégager et analyser les plus notables [7 ; 23]

#### **I.2.1.1. L'âge 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 de dix-huit jours ;

#### **I.2.1.2. La race :**

La tendance à propoliser dépend de la race d'abeille. Il est reconnu que l'abeille grise des montagnes appelée encore Caucasienne (*Apis mellificacaucasia*) et certaines autres races d'Asie Mineure (celle d'Anatolie centrale en particulier) propolisent en général davantage que les autres, c'est le cas de l'abeille carniolienne (*Apis mellificacarnica*) et l'abeille Tellienne (*Apis mellifira*) [9]. Mais dans de nombreux autres cas, les données d'information en ce qui concerne ce facteur sont encore insuffisantes pour établir des comparaisons précises;

#### **I.2.1.3. La saison :**

La récolte a lieu, soit, en début de printemps, mais le plus souvent à la fin de la miellée, ou à l'approche d'automne au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage ;

#### **I.2.1.4. Le climat (la température) :**

Les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température le plus souvent supérieure à 20°C et en outre, pendant les heures les mieux exposées, à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30 en moyenne), ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires ;

#### **I.2.1.5. La géographie :**

C'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaine.

#### **I.2.2. Récolte de la propolis 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 à une température assez basse, la propolis, alors dure et friable, se détachant mieux ;

Par des grilles spécialement conçues à cet effet. Ce procédé donne une propolis de meilleure qualité [7].

On élimine les déchets les plus grossiers et elle est ensuite dissoute à froid dans l'alcool éthylique à 70 % ce qui permet l'élimination de la cire [23].



**Figure 02 :** Raclage de la propolis sur les cadres de la ruche.

### **I.3. Origine botanique de la propolis :**

Depuis les temps les plus anciens, les apiculteurs se sont aperçus que les abeilles récoltaient la résine des bourgeons de divers arbres et en particulier celle du peuplier [7].

#### **I.3.1. L'origine botanique de la propolis monde :**

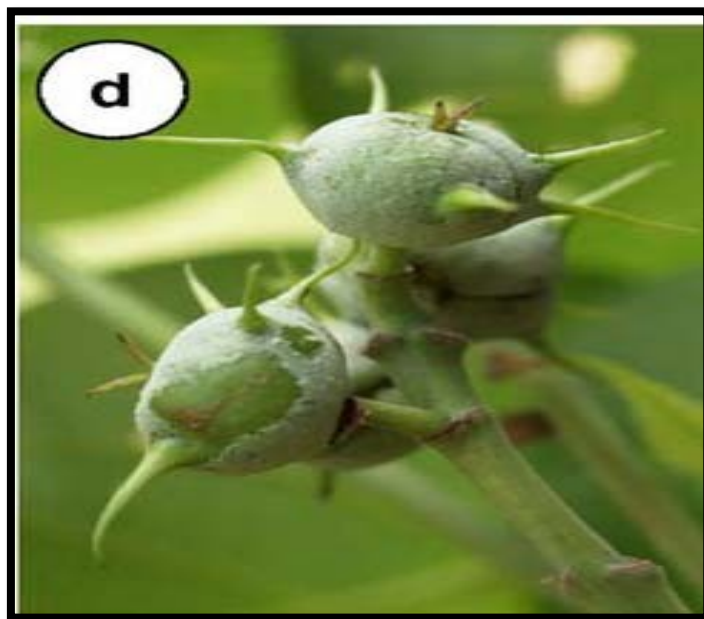
La propolis est un complexe d'une série de substances résineuses gommeuses. Elle est recueillie principalement par les abeilles à partir de plantes, arbres, de bourgeons d'arbres [24] [25].

Il est bien connu qu'en Europe et dans les régions au climat tempéré. Les abeilles récoltent ses précieuses substances sur les bourgeons de peupliers, les Bouleaux, les Aulnes, les Marronniers d'Inde, les Frênes, les Saules, les Epicéas et les Chênes, etc. [26]. Dans les autres régions, il existe d'autres plantes à part celles citées avant telles que la *Macaranga Tanarius* en Okinawa [25].

La provenance de la propolis dépend de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences de l'abeille (**Tableau N°01**) [24].

**Tableau N°01** : La source botanique de la propolis selon les différentes régions.

Genre et / ouespèces	Regiongéographiques	Reference
Peuplier( <i>Populusnigra</i> , <i>Populusitalica</i> , <i>Populustremula</i> )	Bulgarie	[25] [27]
Peuplier ( <i>Populusnigra</i> )	Albanie	[25]
Peuplier ( <i>Populussuaveolens</i> )	Mongolie	[25] [27]
Peuplier ( <i>Populusfremontii</i> )	USA (Mainland)	[27]
Plumeria ( <i>Plumeriaacuminata</i> , <i>Plumeriaacutifolia</i> )	USA (Hawaiian,Islands)	[27]
Peuplier ( <i>Populuseuramericana</i> )	United Kingdom	[27]
Bouleau ( <i>Betulasp.</i> ), Peuplier ( <i>Populussp.</i> ), Pin ( <i>Pinussp.</i> ), <i>Prunussp.</i> ,Acacia.	Hungary	[27]
Bouleaux ( <i>Betulasp.</i> ), Aulnes ( <i>Alnussp.</i> ).	Poland	[27]
Clusia( <i>Clusiasp.</i> ), <i>Delchampsiasp</i>	Region Equatorial	[25] [27]
Clusia ( <i>Clusia minor</i> et <i>Clusia major</i> )	Venezuela	[27]
Xanthorrhoea ( <i>Xanthorrhoeasp</i> )	Australie	[4]
Peuplier ( <i>Populussp.</i> ), Bouleaux ( <i>Betulasp.</i> ), Orme ( <i>Ulmussp.</i> ) et les Conifères.	La Zone tempérée Du Nord	[4]
Romarin des champs ( <i>Baccharisdracunculifolia</i> ), Peuplier ( <i>Populussp.</i> ),	Brésil	[28] [29] [30]
Peuplier ( <i>Populussp.</i> ), Eucalyptus ( <i>Eucalyptus sp</i> ) et le Châtaignier ( <i>Castaneasativa</i> ).	Turkie	[28]
Bouleaux ( <i>BetulaVerrucosa</i> )	Russie	[28] [29] [30]
Mahang ( <i>Macarangatanarius</i> )	Okinawa	[25]
Eucalyptus ( <i>Eucalyptus sp.</i> ), Bouleaux ( <i>Betulasp.</i> ), peupliers ( <i>Popolussp.</i> ), Saule ( <i>Salixsp.</i> ).	Uruguay	[28]



**Figure 03 :** Plante de Mahang (*Macaranga tanarius*) [25].

### **I.3.2. Origine de la propolis d'Algérie :**

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

D'après une étude faite sur la propolis algérienne, récoltée dans quatre régions (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tzi-Ouzou) (**Tab.02**), nous pouvons conclure que : les échantillons analysés ont comme source principale le Peuplier (*Populusnigra*) avec la participation d'autres espèces. Sauf pour l'échantillon de Tizi-Ouzou, car on remarque l'absence de Pinocebrin, Pinobanksin, Chrysin et Galangin[31].

**Tableau N°2 :** Comparaison entre la composition de Peuplier (*Populusnigra*) et celle de la propolis [31].

Composés	Propolis standard de peuplier nigra	Tlemcen	Guelma	M'sila	Tizi-Ouzou
Pinocembrin	4,2 – 12,4	5,9	6,9	9,5	0,2
Pinobanksin	1,7 – 6,2	3,9	3,0	3,5	0,6
Chrysin	5,9 – 12,2	7,5	6,9	1,9	0,4
Galangin	6,6 – 10,3	8,5	6,9	1,9	0,4
Pentenylcaféate	0,7 – 7,5	4,7	2,1	1,8	0,3
Benzyl caféate	1,7 – 5,3	4,9	1,4	1,2	1,2
Acidediterpenique	///	2,0	8,6	20,1	9,1



Résine sécrétée par le tronc du pin



**Figure N°04:** Pin (*Pinussp*).

**I.3.2.1. Quelques plantes source de la propolis en Algérie :**



**Chêneliège**



**Chênezeen**

**Figure N°05 : Chêne.**



**Résin du sapin**

**Figure N°06: Cyprès (Cupressus sp)**



**Figure N°07:Châtaignier.**

#### **I.4. Caractéristiques physico-chimiques de la propolis :**

La caractérisation physico-chimique de la propolis est très importante pour l'obtention d'un produit de qualité standardisé, tel que le réclame le marché. La variété des sources de propolis a, bien évidemment, une influence sur sa composition.

La propolis est récoltée sur une grande variété d'arbres et d'arbustes. Chaque région et chaque colonie, semble avoir ses propres sources de résine préférées. Ce qui explique la grande variation de la couleur et de l'odeur de la propolis ainsi que sa composition [32].

##### **I.4.1. Caractéristiques physique :**

###### **I.4.1.1. Caractéristiques organoleptiques :**

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

###### **I.4.1.1.1. Couleur :**

Elle varie selon sa provenance, allant de jaune clair au brun très foncé, presque noire en passant par toutes les gammes des bruns (brun jaune, brun vert et brun rouge).

###### **I.4.1.1.2. Odeur :**

Elle a 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...) [33].

###### **I.4.1.1.3. Saveur :**

Elle est souvent amère et âcre.

##### **I.4.1.2. Caractéristiques physiques :**

###### **I.4.1.2.1. Consistance :**

La propolis est une substance de consistance variable suivant la température :

- 15 °C, elle est dure et friable ;
- 30 °C elle est molle et malléable.
- Entre 30 °C et 60 °C elle est coulante et gluante.

Le point de fusion est variable, il se situe vers 60 à 70 °C en moyenne mais peut atteindre 100 °C et plus [32].

#### **I.4.1.2.2. Solubilité :**

La propolis d'abeille est soluble de façon partielle dans l'Alcool, l'Acétone, l'Ether, le chloroforme, le benzène, le trichloréthylène...etc. seul un mélange adéquat de différents solvants permet de dissoudre la quasi-totalité de ses composants.

La partie insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen, de débris de cuticule et de soie d'abeille ...etc [7].

#### **I.4.1.2.3. Densité :**

Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne.

#### **I.4.1.2.4. Point de fusion :**

Son point de fusion se situe autour de 70°C. Chauffée au bain-marie, elle se divise en deux parties :

Une partie visqueuse qui tombe au fond du récipient et une partie liquide appelée cire de propolis qui reste en surface et qui trouve de nombreux usages dans le domaine apicole. [34]

### **I.4.2. Caractéristiques chimiques et toxicité :**

#### **I.4.2.1. Caractéristiques chimiques :**

La plus récente publication réalisée par l'institut IBRA (U.K.) qui centralise les recherches du monde entier sur les produits apicoles relève 149 constituants de la propolis [35].

Retenons parmi ces constituants la liste des principes actifs essentiels :

- a) **Flavonoïdes:** galangine, pinocembrine, chrysin, quercétine;
- b) **Acides Aromatiques :** benzoïque, férulique, cinnamique, p-coumarique, caféique;
- c) **Coumarine et Esculetol;**
- d) **Huiles Essentielles:** guaïol, eugénol, anéthol, inène etc...;
- e) **Oligoéléments :** Mg, Zn, Al, Mn, Fe, Cu, Si, Sn, Ni, etc...;
- f) **Vitamines:** B1, B2, B6, PP etc...

Le groupe de flavonoïdes attire nettement l'attention, car les travaux réalisés sur ces constituants de la propolis ont montré qu'ils possèdent des propriétés biologiques remarquables.

Ainsi **lagalangine et la pinocembrine** sont des substances **antimicrobiennes** et **antifongiques** [36].

**La quercétine et la kaempféride** ont une action **antispasmodique** deux fois plus forte que celle de papavérine [37]

**Les acides aromatiques** possèdent aussi des propriétés thérapeutiques. Ainsi, pour l'acide benzoïque et caféique et leurs esters, des propriétés antibactériennes et antifongiques ont été mis en évidence en test comparatif sur les antibiotiques classiques [38]

**L'acide caféique et ses dérivés** participent à une puissante **activité antivirale** [39] sur Herpès 1, Herpès 2 et Herpès Zoster. L'association de **la gelée royale** et de **la propolis** en faible dose immunise l'organisme humain sur le virus influenza [40] dans les proportions de 92%.

Il ne faut également pas oublier que certains constituants, dont les huiles essentielles confèrent à la propolis des propriétés anesthésiques locales.

Le mélange spécifique des constituants de la propolis concourt à un effet synergique global, ce qui pourrait mieux expliquer ses propriétés biologiques.

#### **I.4.2.2. Toxicité :**

L'utilisation très répandue de la propolis dans la pathologie humaine et vétérinaire démontre d'une manière générale sa parfaite innocuité pour l'organisme humain ou animal dans les doses raisonnables.

Des expériences au long court ont été effectuées en Roumanie et en ex. Yougoslavie [94] afin d'étudier la toxicité de la propolis sur l'organisme animal. Les résultats des deux expérimentations convergent vers la même conclusion : la propolis n'est nullement toxique, elle est sans effet néfaste sur la structure cellulaire des organes et n'engendre aucune transformation néo plasmique.

Ce qui nous vient en premier à l'esprit, c'est le risque d'allergie à la propolis. Celle-ci touche environ 1 personne sur 2000, principalement des personnes possédant déjà un terrain allergique et notamment aux piqûres d'abeilles. Pour vérifier si une personne est allergique, il est souhaitable d'appliquer un produit contenant de la propolis sur une zone peu dangereuse comme l'oreille.

S'il y a apparition de démangeaisons, cela signifie que la personne doit s'abstenir de consommer la propolis, au risque d'être victime d'asthme en cas d'inhalation ou de dermatite en cas d'application topique. L'apiculteur est plus souvent sujet qu'une autre personne aux dermatites, en raison de contacts prolongés avec les produits de la ruche. Les allergènes ont été clairement identifiés, ils dérivent de l'acide caféique. Cependant, la présence de flavonoïdes empêche la libération d'histamine, responsable des réactions allergiques, en bloquant les canaux calciques des mastocytes.[41]

### **I.5. Conservation :**

Avant extraction, la propolis est généralement conservée au congélateur (-18°C) avant d'être pulvérisée ou simplement conservée à température ambiante à l'obscurité [42].

Après l'extraction, les échantillons sont conservés secs, soit à température ambiante et à l'abri de la lumière, soit au réfrigérateur (4°C) ou soit encore au congélateur (-20°C) [43].

Les extraits sont parfois conservés à l'état liquide, après traitement, en attendant d'être analysés [44].

Comme pour le miel, la propolis devra être conservée à l'abri de la lumière, de l'humidité et de la chaleur afin qu'elle conserve toutes ses propriétés le plus longtemps possible. Sa consommation se fera aussi fraîche que possible.

### **I.6. Développement de la filière apicole en Algérie :**

A partir de l'année 2000 une politique de développement de la filière apicole au niveau national régional et local a été établit se faisant en trois phases :

- une phase de renouveau apicole de 2000 à 2008 :

Donnant :

- un accroissement du cheptel apicole de 360.000 en 2000 à près d'un million de colonies en 2008(187%),
- une Production de miel triplée de 10.5 00 qx en 2000 à 33.000 qx en 2008 ;
- un Rythme de production d'essaims de l'ordre de 250.000 essaims/an ;
- la Création de 276 pépinières apicoles, pourvoyeuses d'essaims et de reines;
- uneGamme des miels élargie grâce à la pratique de la transhumance;
- le Remplacement d'un grand nombre de ruches traditionnelles par des ruches modernes (25.000 en 2008 contre 95.000 en 2000) ;

- une phase de renouveau rural de 2008 à 2014 :

Donnant :

- 1,3 millions de colonies : +30 % entre 2008 -2014
- 6000 Tonnes de miel.
- Diversification des produits apicoles (Pollen, geléeroyale , propolis ,cire) ;
  - une phase de Renforcement des Capacités Humaines et d'Assistance Technique de 2014 à 2019 :

Dont les Objectifs seraient :

- une Amélioration de la production apicole à 10.000 tonnes de miel
- La valorisation des produits apicoles par la caractérisation des miels algériens notamment la labellisation. A ce titre, il y'a lieu de noter: Les différents travaux en cours, menés par le MADRP /profession pour arrêter les procédures permettant la caractérisation de nos produits agricoles dont le miel (signes de qualité) dans le cadre du projet de jumelage avec l'UE. Et Le projet de création du consortium « miel » par la profession, encadrée dans sa démarche par les institutions publiques (ALGERAC, ALGEX, et ITELV) en vue de promouvoir nos produits apicoles à l'exportation.
- La disponibilité des produits apicoles sur le marché national à des prix accessibles
- La promotion à l'exportation
- Le Renforcement de la dynamique des mouvements associatifs et groupements professionnels.
- Mise en place d'une réglementation régissant l'activité apicole et renforçant la protection de l'abeille des maladies et des produits phytosanitaires [93].

## **CHAPITRE II : Généralité sur l'utilisation de la propolis**

### **II.1. Utilisation par l'abeille :**

A l'intérieur de la ruche, la propolis sert de mastic de ciment ou de baume. Les abeilles l'emploient pour assurer une meilleure isolation thermique : [45]

- Obturer les fissures;
- Réduire l'ouverture de trou de vol dans les régions à climat froid ;
- Recouvrir les corps étrangers (souris, cétoines, frelons...etc.) qu'elles ne peuvent pas évacuer ;
- Réparer les rayons et renforcer les minces parois des alvéoles en l'incorporant à la cire que l'abeille sécrète ;
- Stériliser les alvéoles avant la ponte.

### **II.2. Utilisation par l'homme :**

#### **II.2.1. Historique :**

Depuis des millénaires, Égyptiens, Grecs, Romains, Mayas utilisaient les produits issus de la ruche à des fins préventives, curatives et alimentaires. Dès l'Antiquité, la propolis était employée comme thérapeutique contre les affections de la peau, les plaies et les suppurations. De -3200 à -1100 ans av JC, la propolis avait un rôle religieux dans l'Égypte ancienne. Les Egyptiens utilisaient cette résine pour embaumer les morts, elle était réputée pour ses propriétés conservatrices et son arôme. On l'employait aisément lors de la momification. De -700 à -600 ans av JC, les Grecs ont observé que cette substance résineuse se situait à l'entrée de la ruche comme barrière de protection contre les prédateurs. Ils ont alors donné le nom de « propolis » qui signifie pro=devant polis=la cité. En Rome Antique, les soldats romains, eux, partaient au combat avec un morceau de propolis pour cicatrifier leurs futures plaies. La propolis était réputée pour réduire les œdèmes, apaiser les douleurs nerveuses et guérissait les plaies cutanées ou encore les abcès. Durant la même période, en Amérique du Sud, les Incas utilisaient la propolis comme antiseptique [46].

Au XVIème siècle, elle servait à cicatrifier les blessures de flèches. Hippocrate recommandait la propolis pour la guérison des plaies et des ulcères. C'est surtout au XVIII - XIXème siècle que la propolis fut utilisée pour panser les plaies. Elle était très répandue sur les champs de batailles notamment lors de la guerre des Boers en Afrique du Sud pour soigner les soldats et accélérer le processus de cicatrisation. Elle était reconnue pour son action antiseptique,

anesthésique et cicatrisante. On pouvait la trouver sous formes variées de pommade, d'emplâtre, de lotion ou de gaz [47] [48].

## **II.2.2. Actuelle :**

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tels que :

### **II.2.2.1. Cosmétique :**

La propolis et ses extraits ont été largement utilisés dans la dermatologie et la cosmétique [49]. Ses effets sur la régénération et la rénovation des tissus ont été bien étudiés. Avec ses caractéristiques bactéricides et fongicides, elle offre de nombreux bénéfices dans diverses applications [32].

### **II.2.2.2. 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 [50].

### **II.2.2.3. 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'études ont été 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 [32].

La propolis peut être utilisée comme préservatifs en matériel d'emballage de nourriture. Elle est aussi utilisée pour la prolongation de la vie d'entreposage en congélation des poissons [51].

### **II.3. Effet biologique :**

#### **II.3.1. Effet antimicrobien :**

##### **II.3.1.1. Effet antibactérien :**

Ces propriétés sont étendues et importantes sur de nombreuses souches bactériennes. La première étude dans ce sens a été réalisée par **Whiteen 1906**, cité par qui montra que l'intérieur de la colonie d'abeilles était à peu près dépourvu de micro-organismes. Il n'étudia pas la propolis mais il remarqua que les rayons de cire contenaient très peu de bactéries contrairement à toutes attente, or, il se trouve que les rayons sont recouverts d'une mince pellicule de propolis, c'est donc elle seule qui est en contact avec le milieu de culture.

La propolis est bactéricide efficace pour les germes comme *Bacillus cereus*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*oygenes, *Escherchiafaecalis*, *Escherchia coli*, *Salmonillatyphimurium*, *Listeria innocua*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, et enfin *Pseudomonas aeruginos* [52; 53; 54; 55; 56].

On attribue cette activité au groupe de flavonoïdes en particulier la galangine qui semble avoir un effet anti-staphylococcique très important [19], mais aussi aux acides caféique, férulique, gallique et salicylique.

La propolis est souvent nommée « antibiotique naturel ». Un grand nombre d'études ont montré les résultats suivants :

- La propolis de l'Argentine a montré un effet positif contre *Staphylococcus aureus*, ainsi que sur *Escherichia coli* (ATCC 25922)
- La *Salmonella Typhimurium* a été inhibée par la propolis du Brésil et de la Bulgarie
- La propolis de la région de la Grèce a montré un effet positif sur un nombre important des germes.

##### **II.3.1.2. Effet antifongique :**

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 [7]. Elle a des effets antimycosiques, contre les germes appartenant au genre *Candida* et contre les levures [57].

Il existe cinq constituants de la propolis possédant une activité antifongique significative, il s'agit du Pinobanksol-3-acétate, du Pinocembrine, de l'acide Coumarique et de l'acide Caféique [7].

De même, des études (22) ont prouvé les vertus antifongiques de la propolis. En effet, elles montrent l'activité de la propolis sur 56 souches isolées de patients atteints de mycose au niveau des ongles. Les souches sont représentées de la manière suivante [58] :

41% de *Candida parapsilosis*,

26% *C. tropicalis*

15% *C. albicans*

9% *C. lusitanea*

9% d'autres espèces.

**Le but de ces travaux était de mesurer les CMI limitant le développement de ces levures à 50 et 90%. Les résultats sont reportés dans le tableau ci-dessous :**

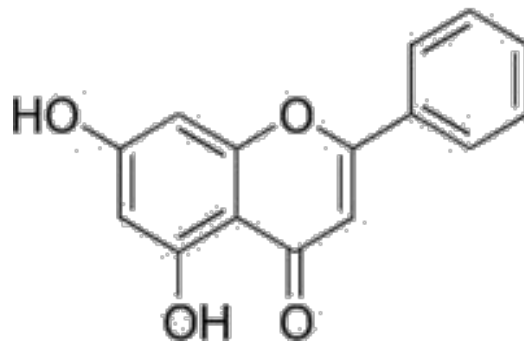
**Tableau N°03 : Mesure des CMI limitant le développement des levures**

TABLE II				
Variation interval of the minimum inhibitory concentrations (MIC) of propolis extract against 56 <sup>a</sup> different isolated yeasts and their MIC <sub>50</sub> and MIC <sub>90</sub> values				
Microorganism	N	MIC range	MIC <sub>50</sub>	MIC <sub>90</sub>
		× 10 <sup>-2</sup> mg/ml		
<i>Candida albicans</i>	8	1.25 - 5.00	2.50	2.50
<i>C. parapsilosis</i>	23	0.63 - 5.00	1.25	2.50
<i>C. tropicalis</i>	15	2.50 - 5.00	2.50	5.00
<i>C. lusitanea</i>	5	0.63 - 5.00	1.25	5.00
<i>Trichosporon sp.</i>	5	0.32 - 1.25	1.25	1.25

*a: from the 67 yeasts submitted to the susceptibility test, for 11 samples (two C. kefyr, two C. guilliermondii, two C. glabrata, one C. stellatoidea, one Geotrichum candidum, and three Saccharomyces cerevisiae) the calculation of the MIC<sub>50</sub> and MIC<sub>90</sub> were not possible due to the lack of the required number of samples for the statistical test.*

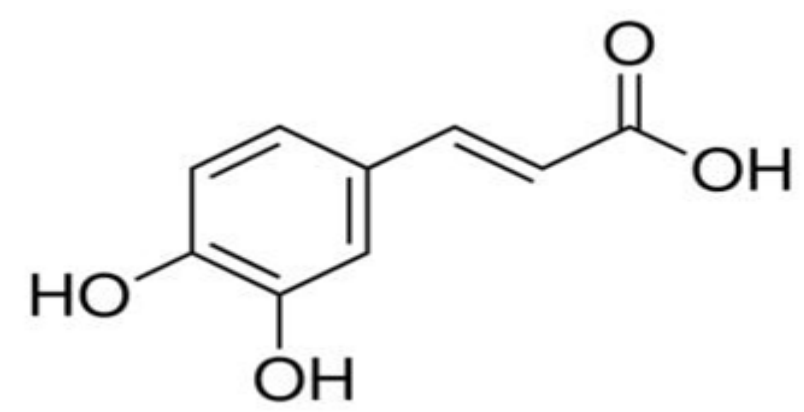
On remarque que *C. albicans* et *C. tropicalis* sont les espèces les plus résistantes. Pour atteindre les CMI 50%, il faudra  $2,5 \cdot 10^{-2}$  mg/ml de propolis, tandis que pour les CMI 90%, il faudra  $5 \cdot 10^{-2}$  mg/ml pour inhiber la croissance de *C. tropicalis* et *C. lusitanea*. L'espèce la plus sensible sera *Trichosporon* avec comme CMI  $1,25 \cdot 10^{-2}$  mg/ml.

Les principaux composants responsables de l'activité antifongique sont : - les flavonoïdes tels que la Pinocembrine ou encore la Pinobanksine.



**Figure N°08 :** Formule chimique de la Pinocembrine [59]

L'acide caféique (composé phénolique et aromatique également à visée analgésique et anti-inflammatoire)



**Figure N°09 :** formule chimique de l'acide Caféique [60]

- l'Ester benzylique
- la Sakuranétine (C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>5</sub>)
- le Ptérostilbène

De même, l'augmentation de la production de macrophages induite par la propolis intervient dans son activité antifongique. L'activité antivirale de la propolis, quant à elle, est due à sa composition en acide caféique, en Lutéoline et en Quercétine. La propolis agit sur les virus du type Herpès, sur les adénovirus ou encore la grippe. Nous reviendrons plus en détail sur le CAPE (Ester phényléthylique de l'acide Caféique) qui est un des plus puissants agents anti-intégrase du VIH et qui a, donc un rôle important dans l'activité antivirale. Ses bienfaits ne s'arrêtant pas là, nous consacrerons un point spécial pour le CAPE.

### **II.3.2. Effets anti-inflammatoires :**

L'extrait de propolis et le CAPE qu'elle contient inhibent l'œdème induit par la Carragénine et par l'arthrite [57] [61].

La propolis, par ses flavonoïdes, retarde l'inflammation de la pulpe dentaire qu'elle protège en la chapotant et simule la réparation de la dentine. Cet effet est utilisé dans l'inflammation de la gencive [62].

### **II.3.3. Effets antioxydant :**

L'activité antioxydante d'un composé ou d'un extrait correspond à sa capacité à diminuer ou à empêcher les réactions d'oxydation. Les antioxydants naturels les plus connus sont le β- carotène (provitamine A), l'acide ascorbique (vitamine C), le tocophérol (vitamine E) ainsi que les composés polyphénoliques en général.

Plusieurs études ont montré que l'activité antioxydante de la propolis était positivement corrélée avec sa teneur en polyphénols [63].

Ainsi, la propolis de type peuplier des zones tempérées, plus riche en polyphénols, possède un potentiel antioxydant supérieur à celui de la propolis verte du Brésil.

Les composés phénoliques responsables de cette activité sont principalement le Caféate de phényléthyle (CAPE), le Kaempférol mais aussi les acides cinnamiques : caféique, p-Coumarique et Férulique[64].

Plusieurs méthodes sont utilisées pour évaluer *in vitro* l'activité antioxydante de la propolis: par piégeage de radicaux différents, comme les radicaux libres DPPH° (diphénylpicrylhydrazyle) [65] les ions ferriques par la méthode FRAP (Ferric ion ReducingAntioxidantParameter) [66],les radicaux ABTS° ( sel d'ammonium de l'acide 2,2'-azinobis-3-éthylbenzothiazoline-6- sulfonique) les peroxydes ROO° par les méthodes ORAC (Oxygen Radical Absorbance Capacity) [67] et superoxydes O<sub>2</sub>° -8 .

Le pouvoir antioxydant de la propolis peut également être évalué par électrochimie, au moyen de la voltammétrie cyclique [68] en comparant le profil du voltammogramme de la propolis, et notamment la vague d'oxydation irréversible caractéristique des antioxydants, par rapport à un standard, généralement l'acide ascorbique et/ ou l'acide gallique.

## **II.4. Généralités sur les composés phénoliques :**

### **II.4.1. Définition des polyphénols totaux :**

Les polyphénols sont synthétisés par les plantes et constituent un groupe important de substances naturelles présentes dans le règne végétal. A ce jour, les scientifiques en ont identifié plus de 8000, allant de molécules simples à des composés hautement complexes. Ils sont regroupés en différentes classes aux noms sibyllins d'acides cinnamiques, d'acides benzoïques, de flavonoïdes, de lignines et de lignanes, de coumarines, de stilbènes, de tanins... Les polyphénols sont naturellement présents dans notre alimentation sous différentes formes telles que les vitamines A, C ou E, les carotènes et certains minéraux comme le sélénium et le zinc. On les retrouve en plus grandes quantités dans les fruits, les légumes et les céréales, ainsi que dans des boissons telles que le thé, le café [69].

#### **II.4.1.1. Activité antioxydante des polyphénols :**

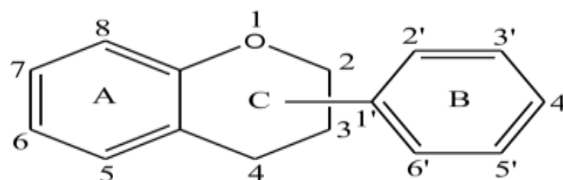
Parmi les nombreuses propriétés bénéfiques présentées par les polyphénols, on retrouve l'activité antioxydante.

L'activité ou potentiel antioxydant d'une molécule est sa capacité à diminuer ou empêcher l'oxydation d'autres substances chimiques. Ces réactions d'oxydation peuvent produire des radicaux libres qui, s'ils se trouvent en excès dans notre organisme, peuvent dégrader nos cellules et entraîner des réactions en chaîne destructrices susceptibles de provoquer différentes maladies.

Les antioxydants sont des molécules capables d'interagir sans danger avec les radicaux libres et de mettre fin à la réaction en chaîne avant que les cellules ne soient endommagées [69].

#### **II.4.2. Définition des flavonoïdes :**

Les flavonoïdes constituent le principal groupe de polyphénols, avec plus de 5000 composés différents identifiés dans le règne végétal. Ces molécules possèdent toutes un squelette chimique commun. En fonction du nombre et de la structure chimique des carbones constitutifs ainsi que sur base de la nature des substituants, les flavonoïdes sont classés en différentes catégories dont les plus importantes sont les flavanones, les flavonols, les flavones, les flavanols, les isoflavones et les anthocyanes. Les flavonoïdes sont généralement de puissants antioxydants; certains de ces composés présentent en effet une activité antioxydante jusqu'à 200 fois supérieure à celle de la vitamine E3. Ils ont ainsi la capacité de protéger les végétaux contre les effets néfastes des radicaux libres générés en réponse aux agressions de notre environnement (polluants, infections, rayonnement UV etc.) et qui favorisent le vieillissement cellulaire. D'autres sont également de bons inhibiteurs d'enzymes ou sont reconnus pour leurs propriétés antiseptiques ou anti-inflammatoires [70].



**Figure 10 :** Structure de base des flavonoïdes [71]

#### **II.4.3. Polyphénols de la propolis :**

De nombreuses études ont démontré que la propolis était une source importante de polyphénols, et notamment de flavonoïdes[72]. Une trentaine de composés ont été identifiés, dont des flavones, des flavonols et des flavanones; on y retrouve par exemple de la chrysin, de la quercétine, de la pinocembrine et de la galangine. Des effets bactériostatiques ont été attribués à la pinocembrine (flavone) et à la galangine [73]. Les abeilles mettent ainsi instinctivement en œuvre les propriétés des polyphénols pour « aseptiser » leur ruche.

Les polyphénols se trouvent dans les sécrétions des bourgeons de nombreux arbres comme le bouleau, l'aulne, le sapin. La composition chimique de la propolis peut donc fortement varier, dépendant directement de la source butinée ainsi que des conditions géographiques et climatiques [74]. Les propolis provenant d'Europe, d'Amérique du Sud ou d'Asie ont par exemple des compositions et des teneurs en polyphénols différentes, induisant des propriétés antioxydantes différentes [75].

### Chapitre III : Matériels et méthodes :

#### III.1. Présentation de la matière première :

Les échantillons de propolis étudiés nous ont été fourni par deux apiculteurs au niveau de différentes zones de l'Algérie à savoir deux échantillons de la wilaya de Mostaganem (Latitude : 35°55.869' Nord \_ Longitude : 0°5.3508' Est) et le troisième de la wilaya de Chlef (Latitude : 36°9.915' Nord \_ Longitude : 1°20.0712' Est).

**Tableau N°04 : caractéristique de provenance des échantillons de propolis.**

Echantillons	1	2	3
Wilaya	Mostaganem		Chlef
Zone de pollinisation	Dahra, Bouguirat		Sortie ouest (cité Chorfa)
Patrimoine végétal	Eucalyptus (Eucalyptus globulus) Sapin de Nulidie (Abies numidica) Oranger (Citrus sinensis)		Oranger (citrus sinensis) Citronnier (Citrus limon) Pamplemoussier (Citrus maxima) Chêne-liège (Quercus suber L) Chêne-liège (Quercus suber)
Climat	Température douce faible écarts thermique (17) Pluviométrie (524 mm /an)		Climat méditerranéenne continental ; hautement chaude pluviométrie (420mm/an)
Race d'abeille	<i>Apis mellificaintermissa</i>		
Méthode de récolte	Méthode des grilles		
Date de récolte	Été 2017	Printemps 2018	Printemps 2018

### **III.2.Préparation des échantillons :**

Trois types des échantillons

- Mostaganem -----➔ Eté 2017
- Mostaganem -----➔ Printemps2018
- Chlef -----➔ Printemps 2018

Nettoyer la propolis après découper, congeler, et broyer.

### **III.3. Présentation du lieu de l'étude :**

L'expérimentation a été divisé en deux partie, la première partie concernant la préparation et l'extraction des différents EEP ainsi que le dosage de ses principes actifs a été réalisé au niveau du laboratoire de biologie végétal du site III (ex ITA) et la deuxième partie concernant les tests microbiologiques au niveau du laboratoire de Microbiologie N°03 (site III ex ITA).

### **III.4. Etude de l'activité physico-chimique :**

#### **III.4.1. Appareillages :**

Balance de précision (KERN AES 200-4N)

Rotavapor (Büchi)

Spectrophotomètre UV- visible (Jenway-6715)

#### **III.4.2. Réactifs et solutions :**

Eau distillé

Ethanol

Acide gallique

Réactif de Folin-Ciocalteu's

Carbonate de sodium Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>

Méthanol

Trichlorure d'aluminium AlCl<sub>3</sub>

Rutine

### **III.4.3. Verreries et petits matériels :**

Becher  
Erlenmeyer  
Entonnoir  
Pipette  
Spatule  
Verre de montre  
Flacon  
Seringue  
Tube  
Burette graduée  
Ballons  
Papier filtre  
Filtre millipore N°04

### **III.4.4. Méthodologies utilisées :**

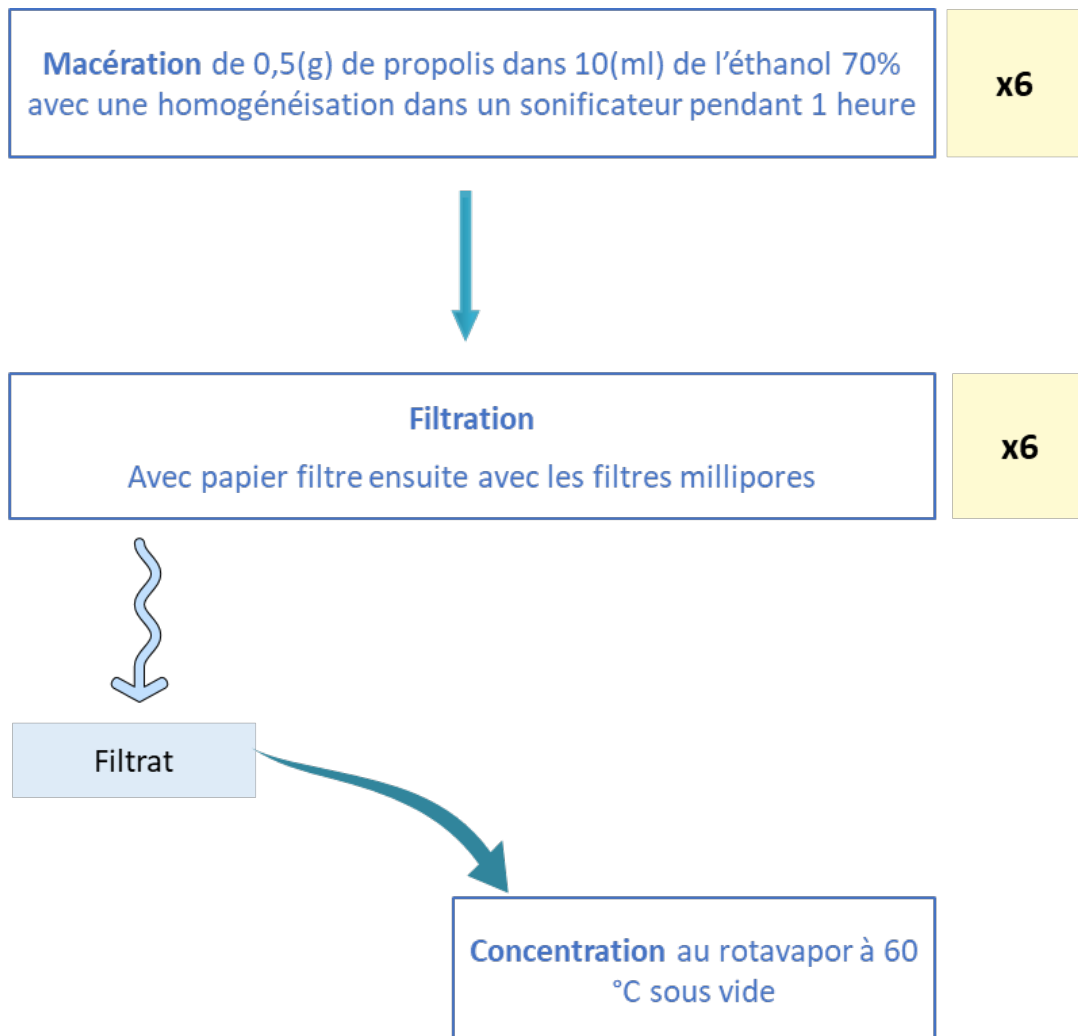
#### **III.4.4.1. Extraction des polyphénols totaux :**

Il s'agit d'une extraction solide-liquide. Le principe consiste en ce que le solvant doit franchir la barrière de l'interface solide liquide, dissoudre le principe actif à l'intérieur du solide et l'entraîner à l'extérieur.

La plupart des auteurs suggèrent que l'entrée du solvant se fait par un mécanisme osmotique et la sortie du soluté par dialyse ou par diffusion. Le solvant utilisé dans cette présente étude est l'éthanol (70%). Celui-ci possède l'avantage d'être plus facilement éliminé sous vide, il donne en plus un meilleur rendement d'extraction (7 fois plus que celui d'eau) et il évite l'extraction de la cire qui se trouve mélangée [76].

Le rendement d'extraction en polyphénols augmente aussi avec le temps de contact [77]

**Protocole :**



**Figure N°11 :** Méthode d'extraction des polyphénols totaux de la propolis

### **Rendements des extraits :**

Le rendement de l'extrait de la propolis a été calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rdt (\%)} = \frac{(P1-P2)}{P1} \times 100$$

P1 : Poids du ballon rempli.

P2 : Poids du ballon vide.

P3 : Poids du ballon rempli.

### **III.4.4.2. Dosage des polyphénols et flavonoides totaux :**

#### **III.4.4.2.1. Dosage des polyphénols totaux :**

##### **Principe :**

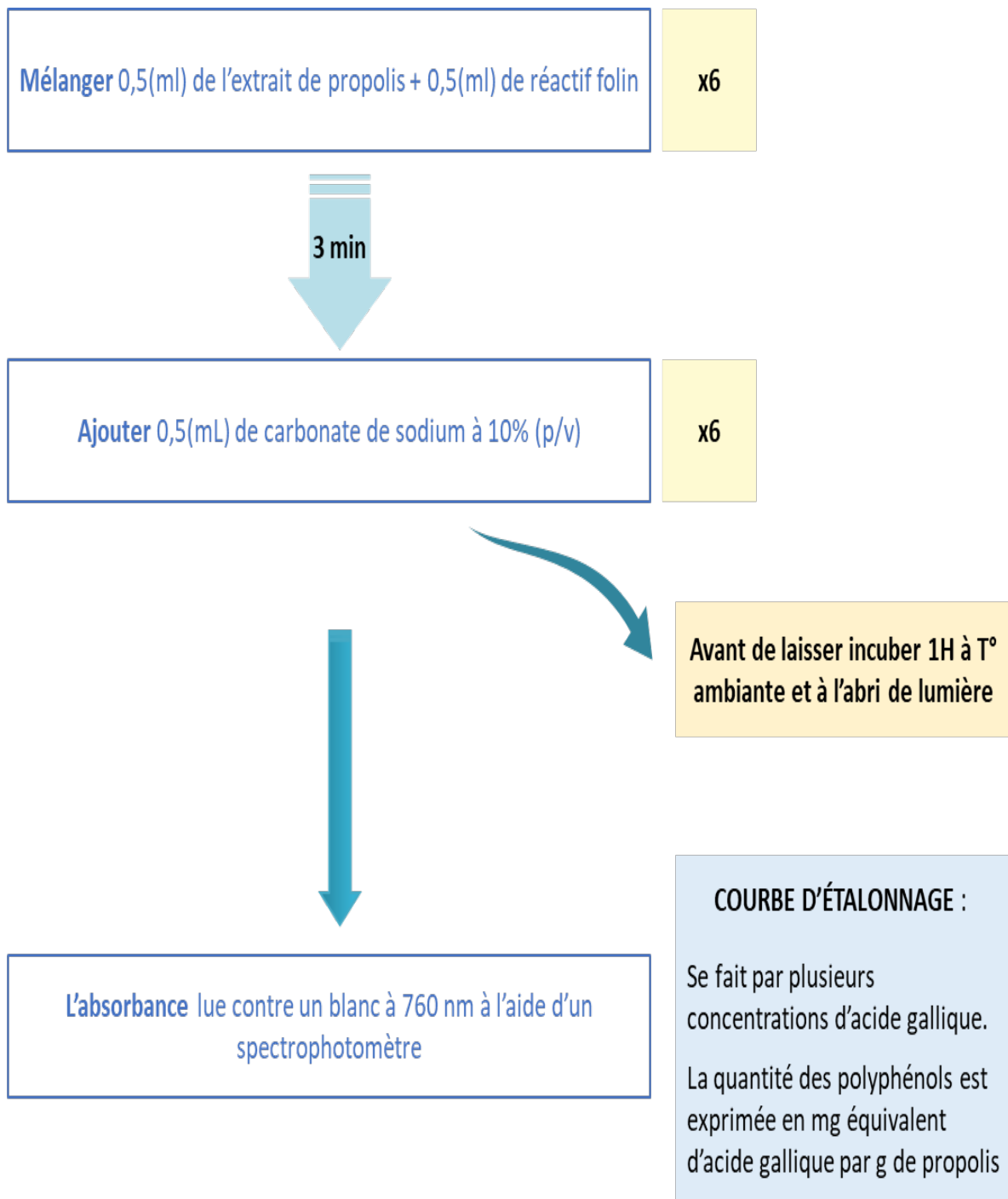
Le dosage des polyphénols totaux a été réalisé selon la méthode décrite par [78] et dont le principe repose sur la réduction du réactif de Folin-Ciocalteu (acide de couleur jaune constitué par un mélange d'acide phosphotungstique et d'acide phosphomolybdique) en un mélange d'oxydes bleus de tungstène et de molybdène (spectre d'absorption maximale à 760 nm) lors de l'oxydation des phénols. L'intensité de cette coloration est proportionnelle à la quantité de phénols ayant réagi.

##### **Procédure :**

On commence par mélanger 0,5 ml de chaque extrait de propolis (EEP ou EAP) ou fractions avec 5 ml d'eau distillée et 0,5 ml de réactif Folin-ciocalteu. Après 3 min, ajouter 0,5 ml du carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 10% (P/V), avant de laisser incuber une heure à température ambiante et à l'abri de la lumière. L'absorbance est lue contre un blanc (eau distillée à la place de l'échantillon dans un même volume réactionnel) à 760 nm à l'aide d'un spectrophotomètre à UV visible à double faisceaux de type SHIMADZU UV-2401PC.

Une droite d'étalonnage est établie avec plusieurs concentrations d'acide gallique et la quantité de polyphénol est exprimée en ms équivalent d'acide gallique/g de propolis (EAG/g).

**Protocole :**



**Figure N°12 : Dosage des polyphénols totaux [78]**

#### **III.4.4.2.2. Dosage des flavonoïdes :**

##### **Principe :**

La teneur en flavonoïdes des différents extraits de propolis est déterminée selon la méthode décrite par [79] qui utilise le trichlorure d'aluminium ( $AlCl_3$ ) comme réactif. La présence d'une case libre dans l' $AlCl_3$  forme une liaison avec les doublets libres de l'oxygène des groupements OH des flavonoïdes, en produisant un complexe de couleur jaune, dont le maximum d'absorption se situe à 430 nm.

Les quantités des flavonoïdes des extraits et des fractions, ont été obtenues par extrapolation sur une droite d'étalonnage établie avec plusieurs concentrations connues de rutine.

##### **Procédure :**

La procédure consiste à mélanger 1 ml des différents extraits de propolis (EEP) ou avec 1 ml de solution d'  $AlCl_3$  à 2% (P/V) qu'on laisse réagir 30 min avant de lire l'absorbance contre un blanc à 430 nm.

La concentration en flavonoïdes contenus dans les extraits de propolis est obtenue par extrapolation sur la droite d'étalonnage établie

La teneur en flavonoïdes est exprimée en mg équivalent de rutine par g de propolis brute.

**Protocole :**

**Mélanger** 1(ml) des extraits propolis avec  
1(ml) de solution d' $\text{AlCl}_3$  à 2% (p/v)

Réagir 30  
mn

**Lire l'absorbance** contre un blanc à 430 nm.

La teneur en flavonoïde est exprimée en mg équivalent de rutine par g de propolis

**Figure N°13 : Dosage des flavonoides totaux [79]**

### **III.5. Etude de l'activité antimicrobienne par la méthode de diffusion en puits ADT**

#### **I.5.1. Appareillages :**

- Bain marie
- Etuve
- Plaque chauffante
- Vortex
- Spectrophotométrie
- Hottes à flux lumineaire
- Balance de precision
- Bec benzene

#### **III.5.2. Milieux de culture :**

Mueller Hinton gélose solide

Mueller Hinton bouillon

Gélose sabouraud dextrose chloramphénicol (SDCA)

#### **III.5.3. Solutions :**

Eau distillé stérile

Eau physiologique stérile

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>

Ethanol

#### **III.5.4. Verreries et petits matériels :**

Becher

Erlenmeyer + barreau magnétique 6 mm

Entonnoir

Pipette pasteur

Spatule

Verre de montre

Flacon

Seringue

Tube à essai

Porte tubes

Burette graduée  
Propipette  
Micropipette  
Les embouts  
Les boites pétris

### III.5.5. Principales espèces bactériennes utilisées :

**Tableau N°5 : Les souches utilisées**

Les souches	Code	Référence
<i>Escherichia coli</i> (-)	ATCC 25922	Université Ibn Khaldoun wilaya de Tiaret
<i>Staphylococcus aureus</i> (+)	ATCC 33862	
<i>Bacillus cereus</i> (+)	ATCC 10876	
<i>Candida albicans</i>	ATCC 10231	Université Abdel Hamid Ibn Badis Mostaganem

### III.5.6. Réactivation des souches étudiées :

Les germes pathogènes : *Escherichia coli* ATCC 25922 ; *Staphylococcus aureus* ATCC 3386, *Bacillus cereus* ATCC 10876, *Candida albicans* ATCC 10231.

Les souches ont été conservées dans le glycérol à -20°C et ont été réactivés sur bouillon MH liquide et incubés à 37 °C pendant 24 heures et *Candida albicans* à 25 °C pendant 48 heures.

### III.5.7. Préparation de solution mère :

Concernant la propolis on prépare 1 mg de l'extrait de propolis + 10 mL d'éthanol 70%.

### III.5.8. Recherche d'antagonisme Souches pathogènes vs Extrait de propolis

#### III.5.8.a. Test de sensibilité (pré analyse) :

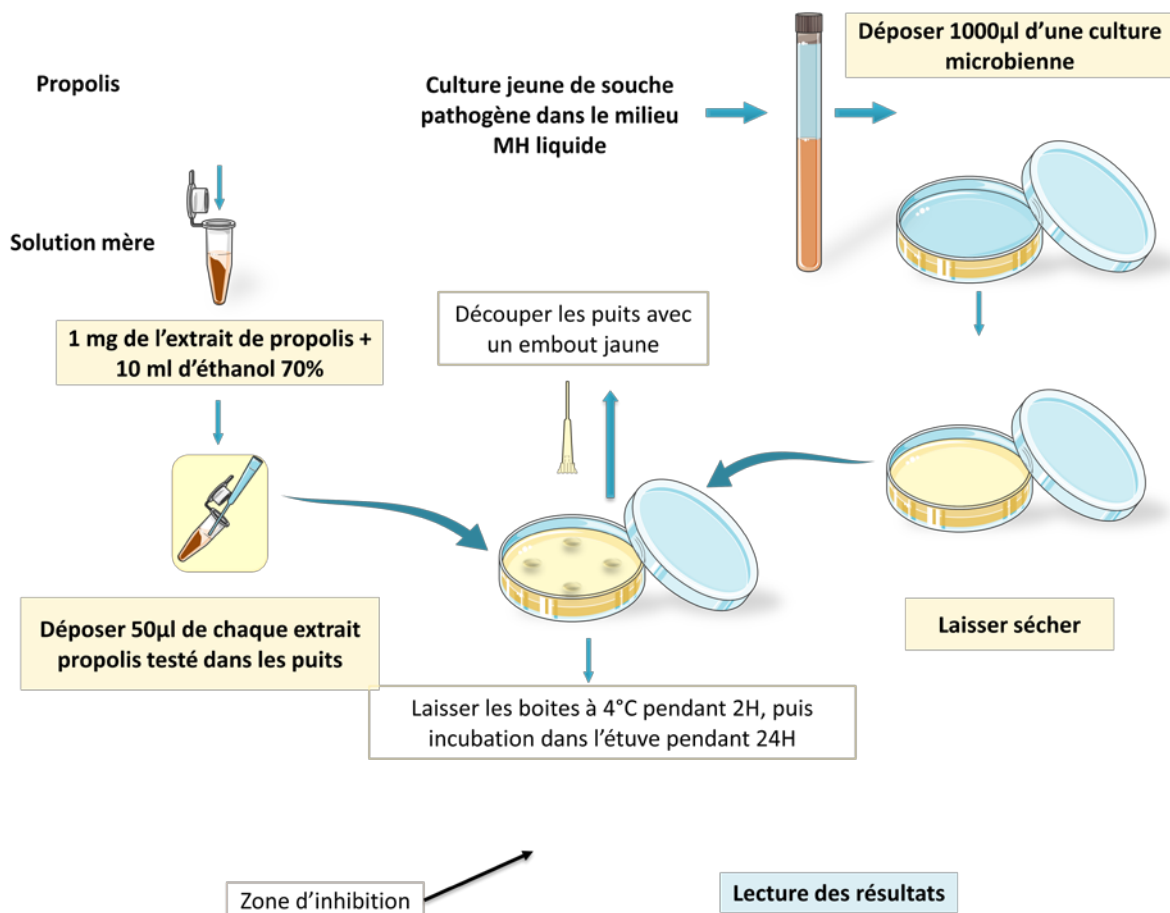
##### But :

Sélection des souches pathogènes montrant une sensibilité à nos extraits de propolis ; de même, faire un classement des extraits selon efficacité vis-à-vis les souches pathogènes.

### Méthode des puits ADT (Agar Well Diffusion Test)

Cette méthode de [80] Permet de détecter les inhibitions dues aux polyphénols de propolis dans le milieu de culture MH solide des souches : Escherichia coli ATCC 25922, Staphylococcus aureus ATCC 33862, Bacillus cereus ATCC 10876, Candida albicans ATCC 10231

Cette méthode consiste à couler 20 ml de MH solide sur une boîte de pétri, qu'on met à refroidir dans une zone stérile, Les puits sont creusés à l'aide d'un embout jaune stérile, généralement on réalise 3 puits par boîte de 6 mm de diamètre (chaque test est réalisé en triplicate) pour chaque type de propolis et chaque souche. Un Volume de 50 µl de l'extrait de propolis à différentes concentrations est mis dans chaque puits, L'éthanol 70% a été utilisé comme témoin.



**Figure N°14 : Méthode des puits AWDT**

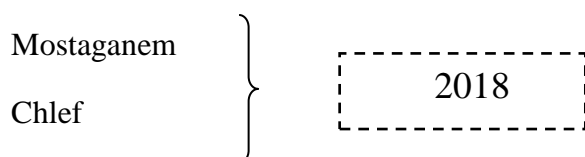
**Résultat du test :**

- Probat pour les souches pathogènes :

Bacillus Cereus ATCC 10876

Candida Albicans ATCC 10231

- Sélection de deux extraits propolis :



**III.5.8.b. L'effet inhibiteur de la propolis sur le développement de *Bacillus Cereus* et *Candida Albicans* :**

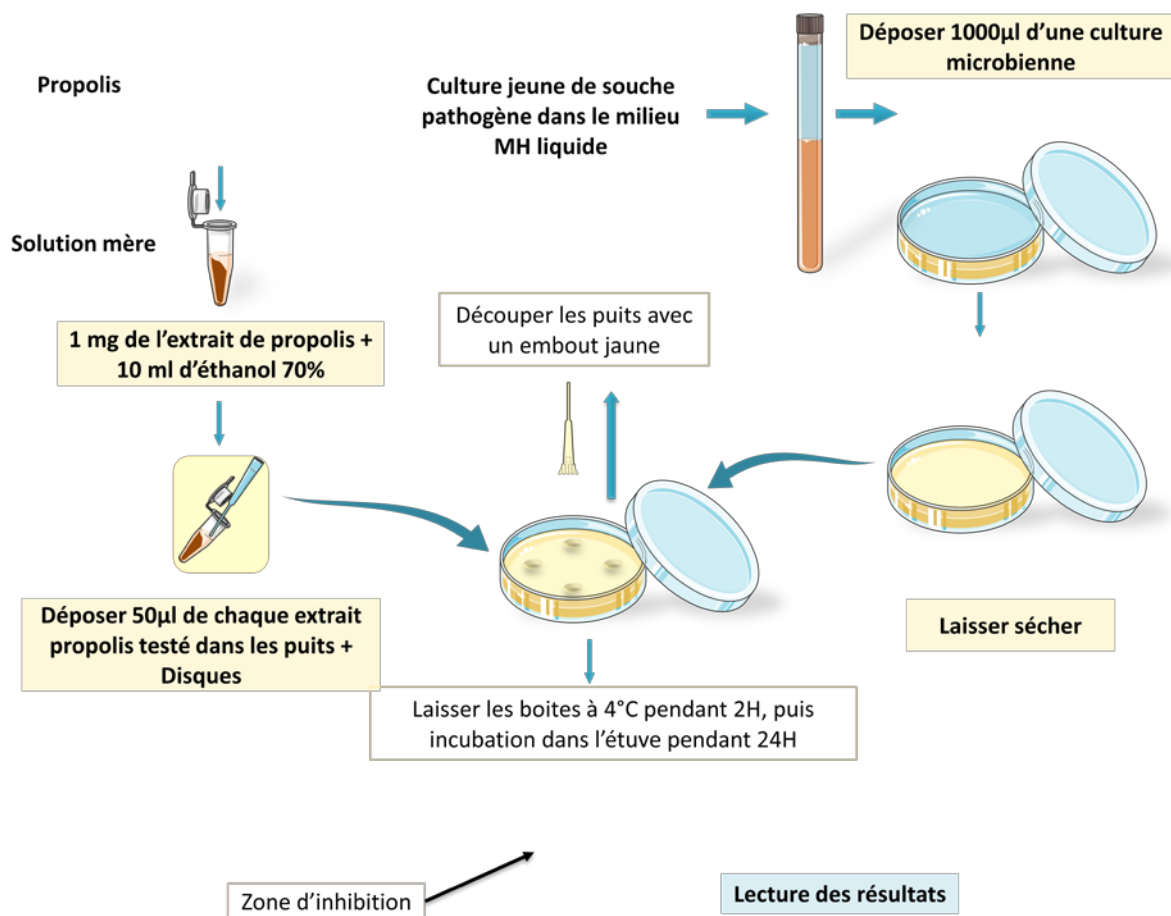
Nous cherchons ici à évaluer l'efficacité antimicrobienne de la propolis sur *Bacillus cereus* et *Candida albican* en établissant une corrélation entre l'efficacité de l'activité antimicrobienne de la propolis et la quantité de propolis mise en jeu.

Pour se faire nous avons eu recours à deux méthodes à savoir antibiogramme sur gélose et antibiogramme liquide

**III.5.8.b.1. Antibiogramme sur gélose :**

On utilisant la méthode des puits AWDT (culture bactérienne en masse) [80] sus-citée, En y additionnant les disques antimicrobiens.

**Protocole :**



**Figure N°15 : Méthode des puits AWDT + Disques**

**III.5.8.b.2. Antibiogramme sur milieu liquide :**

Dans deux séries de tubes à essai dans lesquels on avait préalablement laissé incuber 10 ml de suspension microbienne à savoir *Bacillus Cereus* et *Candida Albicans*, on additionne 50 µL de solution de propolis à différentes concentrations,

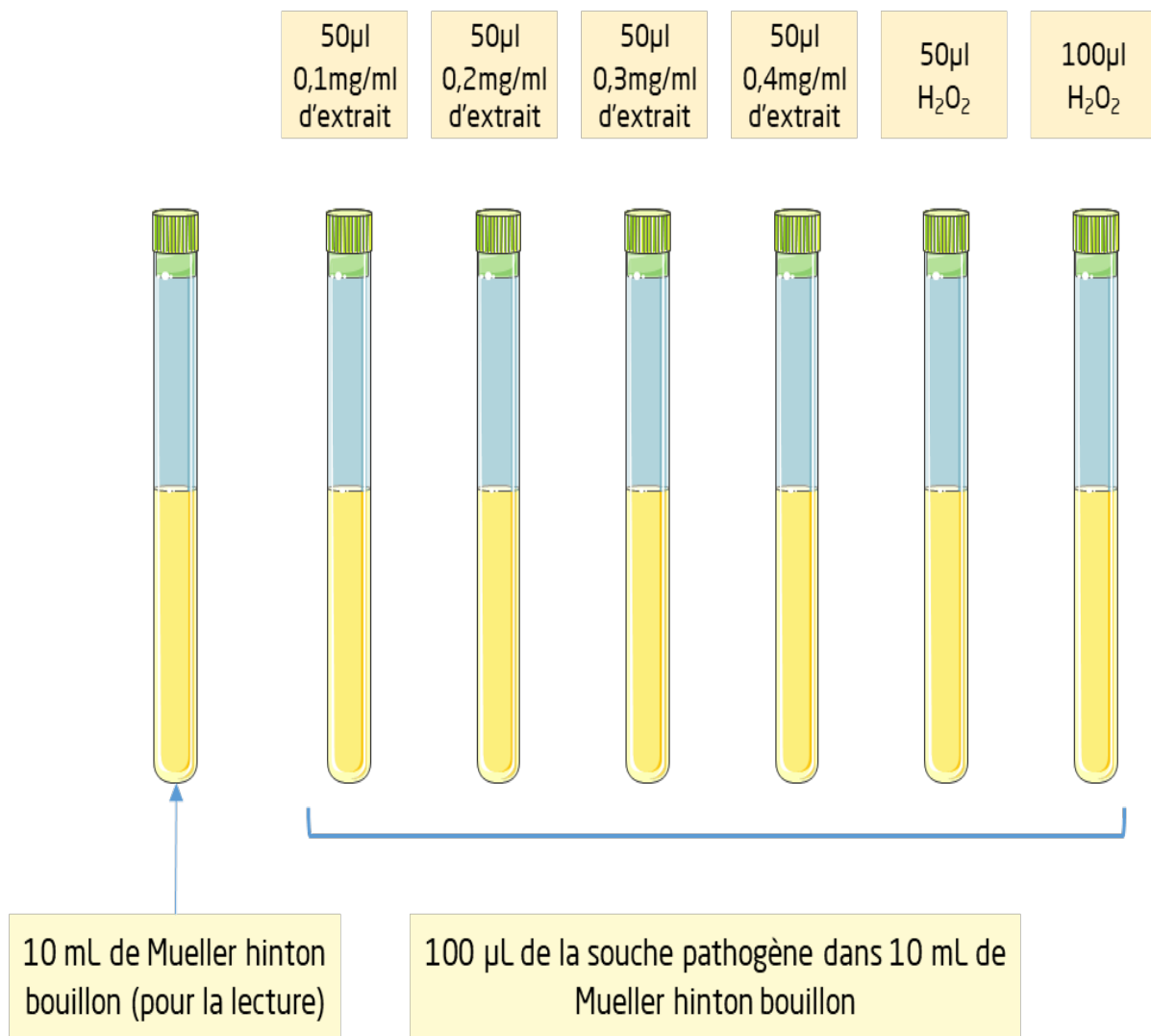
La propolis est mise en contact avec la bactérie *Bacillus Cereus* pendant 24h ;

Et avec la levure *Candida Albicans* 48 h ; avant de procéder à la lecture spectrophotométrique.

Pour les résultats on se réfèrera a un tube dit témoin contenant la suspension microbienne initiale dont la lecture a été faite avant l'addition de propolis ,ainsi qu'a deux autre lectures de tubes ou les inoculum microbiens auraient été mis en contact avec deux concentrations de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> et laisser à incuber avec les deux séries de tubes.

Cette méthode de dilution en milieu liquide décrite se réfère essentiellement au protocole proposé par la norme internationale mise au point par [EUCAST](#).

**Protocole :**



**Figure N°16 : Antibiogramme liquide**

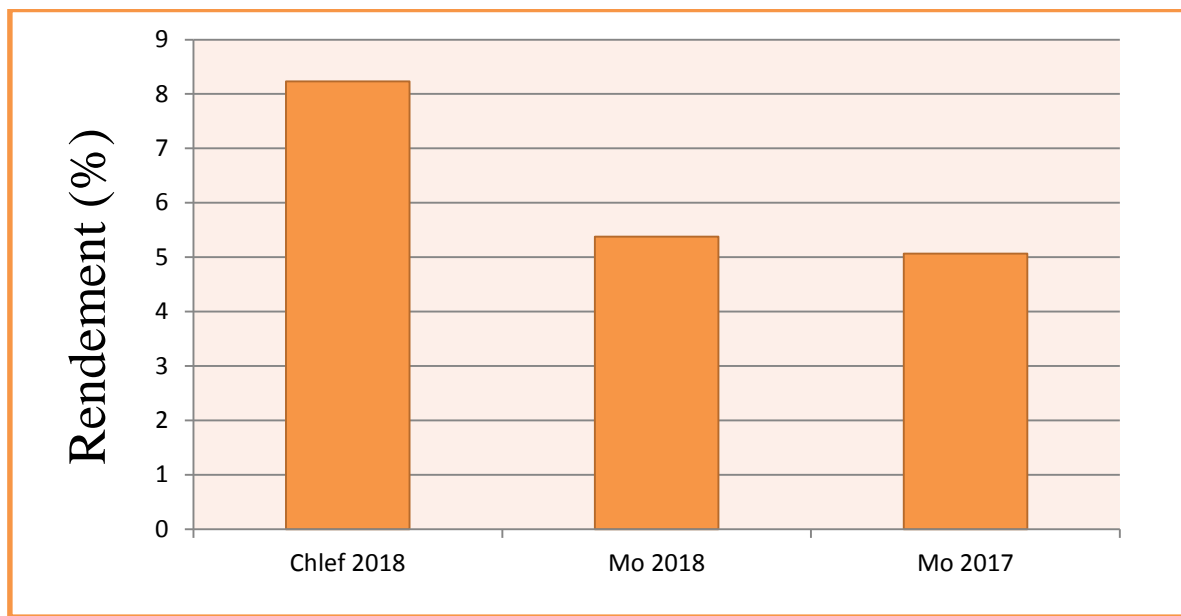
### **III.6. Etude statistique :**

Toutes les expériences ont été faites en triplicate suivies d'une comparaison de moyennes par le biais d'un logiciel (stat box 6.04) selon le test de (Newman et Keuls) avec son écart type (n = 3) pour chaque cas les différences ont été considérées significatives à  $p < 0,05$

## Chapitre IV : Résultats et discussion

### IV.1. Résultats de l'activité physico-chimique :

#### IV.1.1. Rendement de l'extraction des polyphénols totaux de la propolis :



**Figure N°17 :** Rendement de l'extrait éthanoïque de propolis sec (EEP)

Les résultats relevés sur la propolis Brésilienne confirment que le taux d'extraction change d'un échantillon à un autre de la même région, ont été obtenus des taux d'extraction allant de 40,7% à 73,9 % avec l'éthanol (70%) [81].

Un taux d'extraction de 26,6 % à 75,8 % pour l'éthanol 70% [33]

Une autre étude a rapporté des taux d'extraction par l'éthanol de 35 % [82]

Face à ces résultats les notre ne sont en rien satisfaisants, désignant comme responsable, le temps de macération qui n'a pas été respecté à savoir de 24h nous n'avons fait que 1h .toutefois ceci n'influence en rien les paramètres constitutifs de notre EEP Sec. Cette conclusion s'appuie sur différentes études visant à optimiser le rendement en EEP sec à moyen de temps de macération et de combinaison de solvants. Comme en témoigne les résultats de l'une de ces études [83] (Ferhoum 2009) montrant un taux d'extraction de 70% à partir de 8 jours, allant et se stabilisant au tour de 76% à partir de 90 jours.

## **II.1.2. Résultats de dosage des polyphénols totaux :**

L'étude quantitative des extraits éthanoliques bruts au moyen du dosage par spectrométrie, avait pour objectif la détermination de la teneur totale des polyphénols et des flavonoïdes. Deux courbes d'étalonnage (**Figure N° 18 et 20**) ont été tracées, la première réalisée avec de l'acide Gallique à différentes concentrations, l'autre avec la rutine ; les mesures de densité optique ont été réalisées à 765 nm pour les polyphénols et à 430 nm pour les flavonoïdes.

Les quantités des polyphénols et des flavonoïdes correspondants ont été rapportées en équivalent gramme de l'étalon utilisé et déterminées par deux équations linéaires de type :

$$Y = a X$$

La teneur en polyphénols et flavonoïdes se différencie d'un échantillon à un autre selon l'origine botanique de la propolis, c'est-à-dire la région des provenances [84].

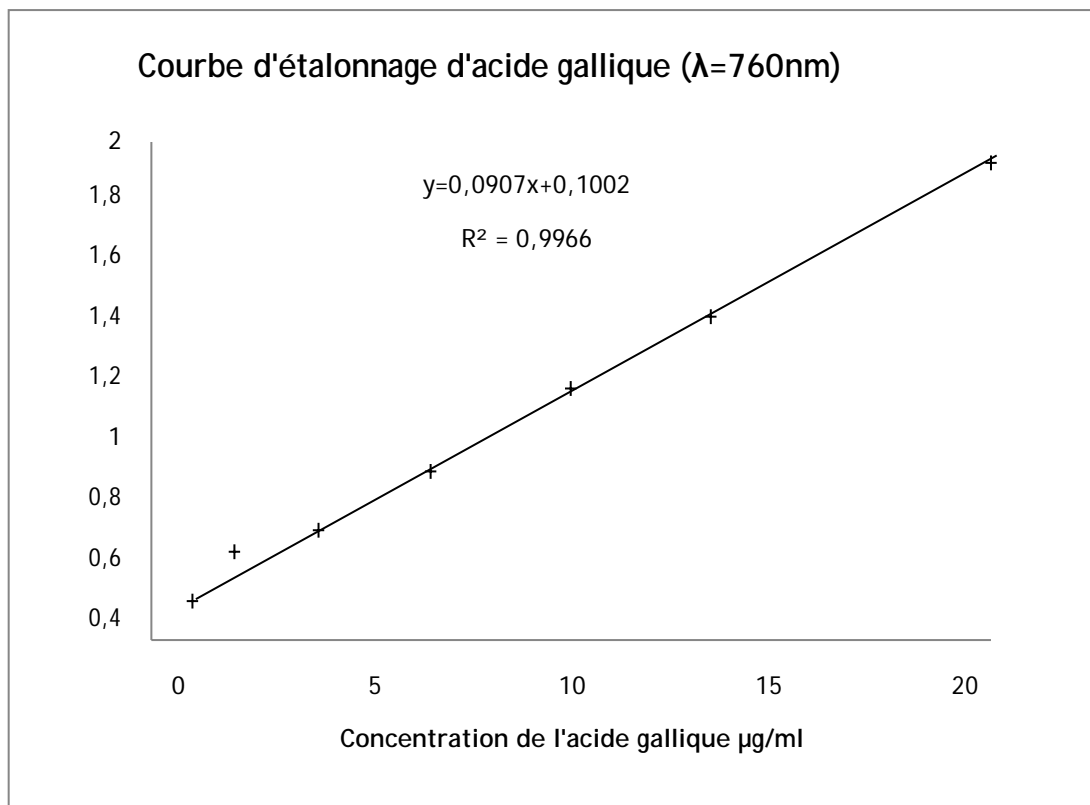
### **IV.1.2.1. La courbe étalon de l'acide gallique :**

Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une série de solution d'acide gallique de différentes concentrations soumis aux analyses de leur absorbance. L'ensemble est regroupé dans le tableau suivant :

**Tableau N° 06 : Absorbance de l'acide gallique à différentes concentrations :**

[a. gallique] µg/ml	20	13,33	10	6,67	4	2	1
A	1,922	1,302	1,013	0,679	0,442	0,355	0,156

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations utilisées (**figure N° 18**). Les analyses quantitatives des données ont été déterminées suite à une régression linéaire de la courbe ( $y = 0,0907x+0.1002$ ) et le coefficient de corrélation ( $R^2 = 99,68\%$ ) de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent acide gallique par gramme d'échantillon de propolis (mg EAG/g de propolis).



**Figure N° 18 :** Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

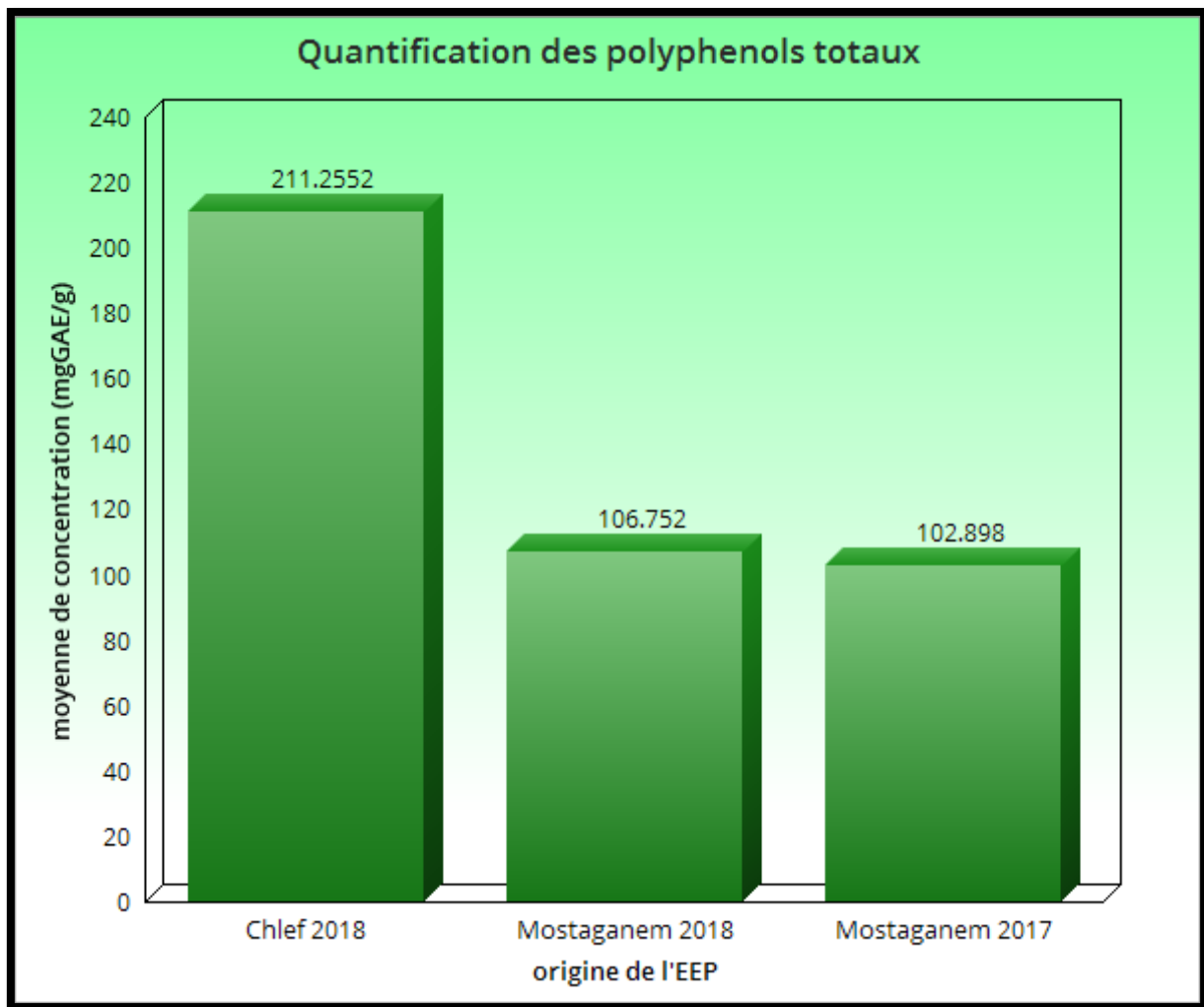
#### **IV.1.2.2. Résultats de dosage des polyphénols totaux de la propolis :**

Les teneurs en composés phénoliques de nos échantillons sont indiquées sur la figure N° 22 où nous avons observé que l'échantillon de Chlef 2018 contient une concentration en polyphénols nettement plus importante en comparaison avec celle de Mostaganem 2017 et 2018, de  $(211,2552 \pm 0.15794)$  mg EAG/g de propolis et  $(106,4813 \pm 0.01609)$  pour Mostaganem 2018 et Mostaganem 2017 vient après avec  $(102,898 \pm 0.0044)$

Ces résultats sont jugés satisfaisants si on se réfère à ceux trouvés dans d'autres régions du pays mentionnés dans le travail de [83] Ferhoum, 2009 avec des taux allant de 233,075 mg EAG/g à 244,42 mg EAG/g .

Ainsi que dans d'autres études sur d'autres pays la teneur en polyphénols totaux de la propolis brésilienne de l'ordre de 232 ( $\pm 22.3$ ) mg EAG/g [85]

L'étude réalisée sur la propolis du Portugal, montrant des teneurs en polyphénols totaux oscillant entre  $(151,00 \pm 0,01)$  et  $(329,00 \pm 0,01)$  mg EAG/g de propolis respectivement pour la région de Fundao et Borne [86]



**Figure N°19 :** Teneur en polyphénols totaux des différents extraits de propolis

#### **IV.1.3. Résultats de dosage des flavonoïdes totaux :**

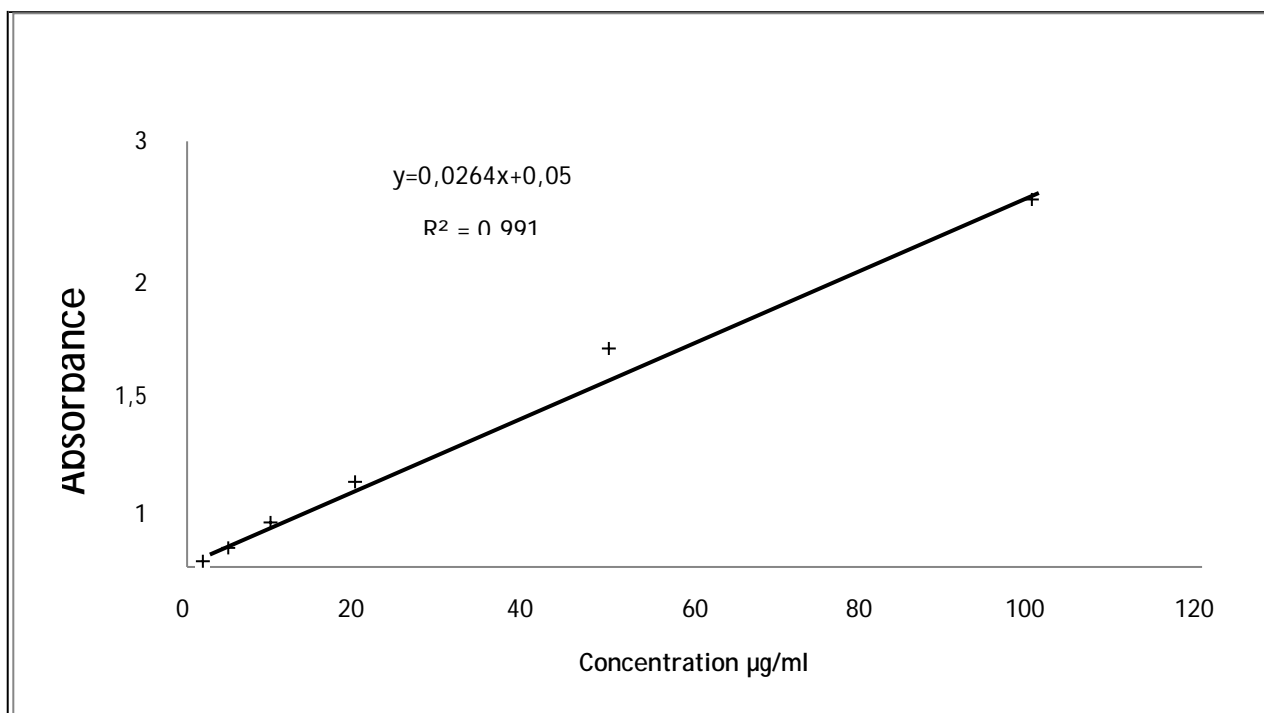
##### **IV.1.3.1. La courbe étalon de rutine :**

Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une série de solution de rutine de différentes concentrations soumis aux analyses de leur absorbances. L'ensemble est regroupé dans le tableau suivant :

**Tableau (07) : absorbances de la rutine à différentes concentrations**

(Rutine) $\mu$ g/ml	100	50	20	10	5	2
A	2,598	1,544	0,601	0,314	0,134	0,04

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations utilisées (**figure N° 20**). Les analyses quantitatives des données ont été déterminées suite à une régression linéaire de la courbe ( $y = 0,0264x + 0,05$ ) et le coefficient de corrélation ( $R^2 = 99,1\%$ ) de la courbe d'étalonnage exprimée en mg équivalent de rutine par gramme d'échantillon de propolis (mg ER/g ) de propolis



**Figure N°20 : Droite étalon de rutine**

#### **IV.1.3.2. Résultats de dosage des flavonoïdes totaux de la propolis :**

Les flavonoïdes sont une classe de composés ubiquitaires dans les plantes (ce qui prouve que la propolis est beaucoup plus d'origine végétale) et représentent un des plus grands groupes de produits naturels phénoliques [87].

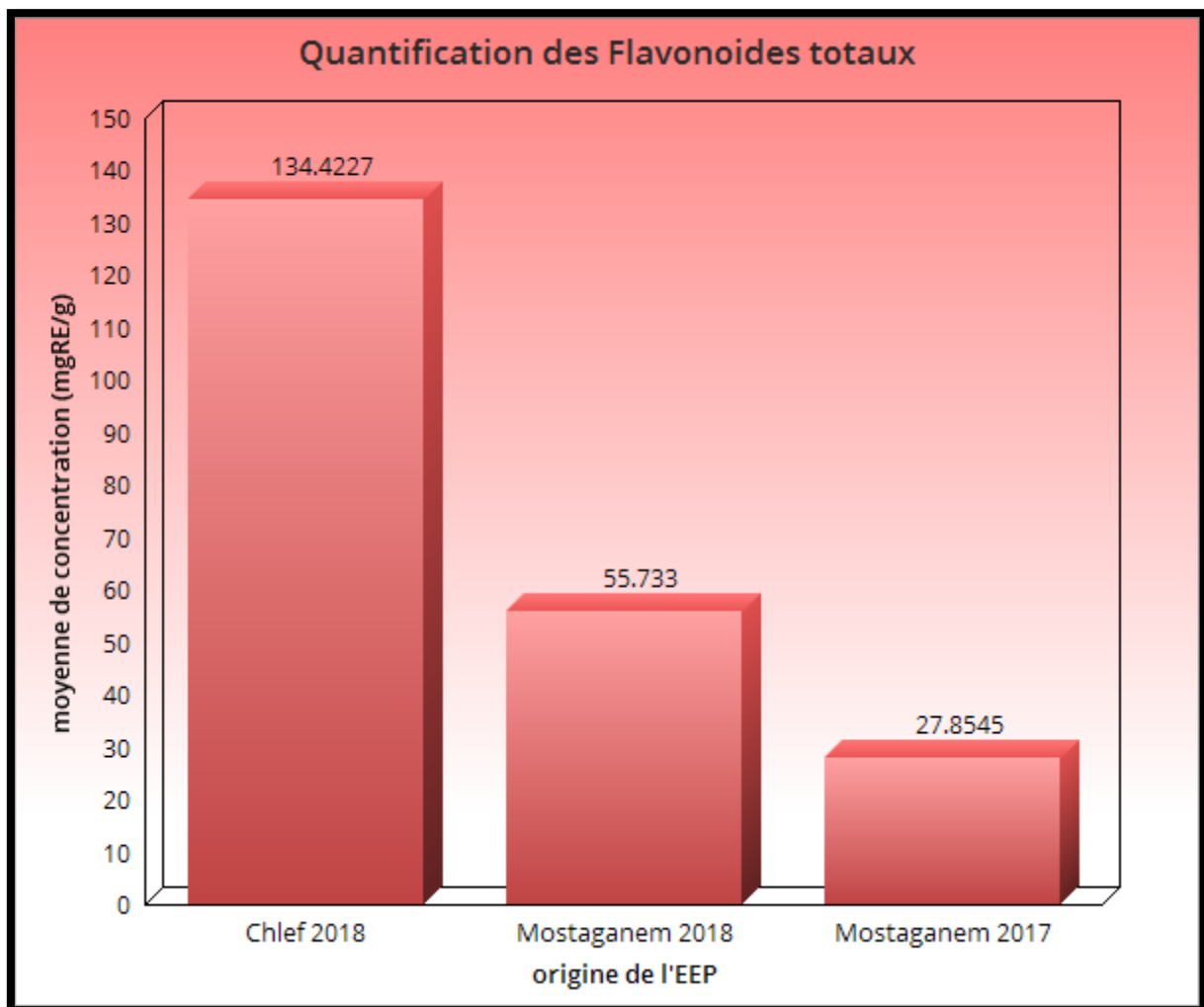
La teneur en flavonoïdes dans les extraits éthanoliques de propolis est exprimée en mg d'équivalent de rutine par g de propolis (mg ER/g de propolis)

Les teneurs en flavonoïdes totaux de nos échantillons montrent une concentration égale à 134,4227 mg ER/g de propolis de Chlef 2018 et 55,7333 mg ER/g de propolis de Mostaganem 2018, et Mostaganem 2017 avec 27,8545 mg ER/g de propolis.

Ces résultats sont jugés satisfaisants si on se réfère à ceux trouvés dans d'autres régions mentionnés dans le **Tableau N° 08 [88]**.

**Tableau N° 08 : quantité de flavonoïdes en équivalent de rutine pour chaque EEP.**

Propolis	chetouane	Sidiabdli	chlef	Benisous	Chouli
quantité en flavonoïdes mg/g	134,8	27,8	79,9	76,3	67,4



**Figure N°21 : Teneur en flavonoïde totaux des différents extraits de propolis.**

## IV.2. Résultats de l'activité microbiologique :

### Interprétation des résultats :

Dans le principe de l'antibiogramme solide un antimicrobien est d'autant plus efficace que son cercle d'inhibition de la croissance microbienne est grand.

Pour l'antibiogramme liquide sa valeur s'appuie sur l'évaluation de l'inhibition microbienne en fonction de la quantité de propolis utilisée :

Dans cette optique nous avons dans un premier temps procédé à la mesure des diamètres de ces zones d'inhibition ; s'en est suivi une lecture spectrophotométrique des deux séries de tube afin de définir si relation entre concentration en EEP croissante et charge bactérienne et fongique décroissante il y a, établissant ainsi une relation de cause à effet qui validera notre hypothèse de « l'effet antimicrobien de nos EEP »

Se référant aux données présentées dans les tableaux ci-dessus on conclut :

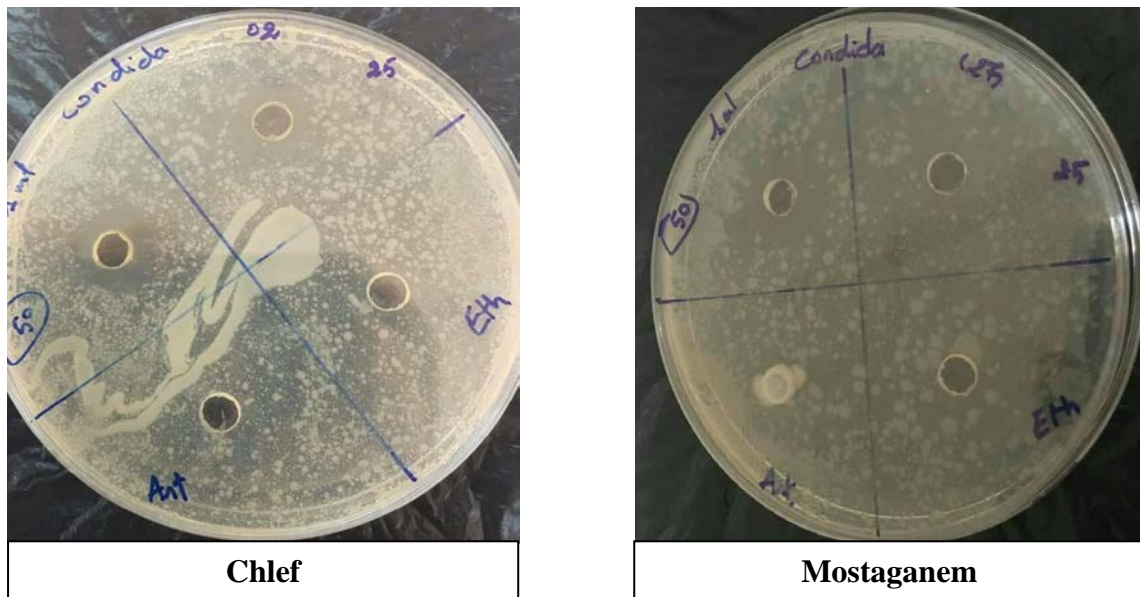
### A) Candida Albicans :

**Tableau N° 09:** mesure des diamètres des zones d'inhibition

Concentration en EEP (mg/mL)	Chlef 2018			Mostaganem 2018		
	0.05	0.1	Disque	0.05	0.1	Disque
Diamètre Moyen d'inhibition (mm)	14,67± 0.4714	16±0.0	X	11± 0.0	12,67± 0.4714	X

**Tableau N° 10:** Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration en EEP

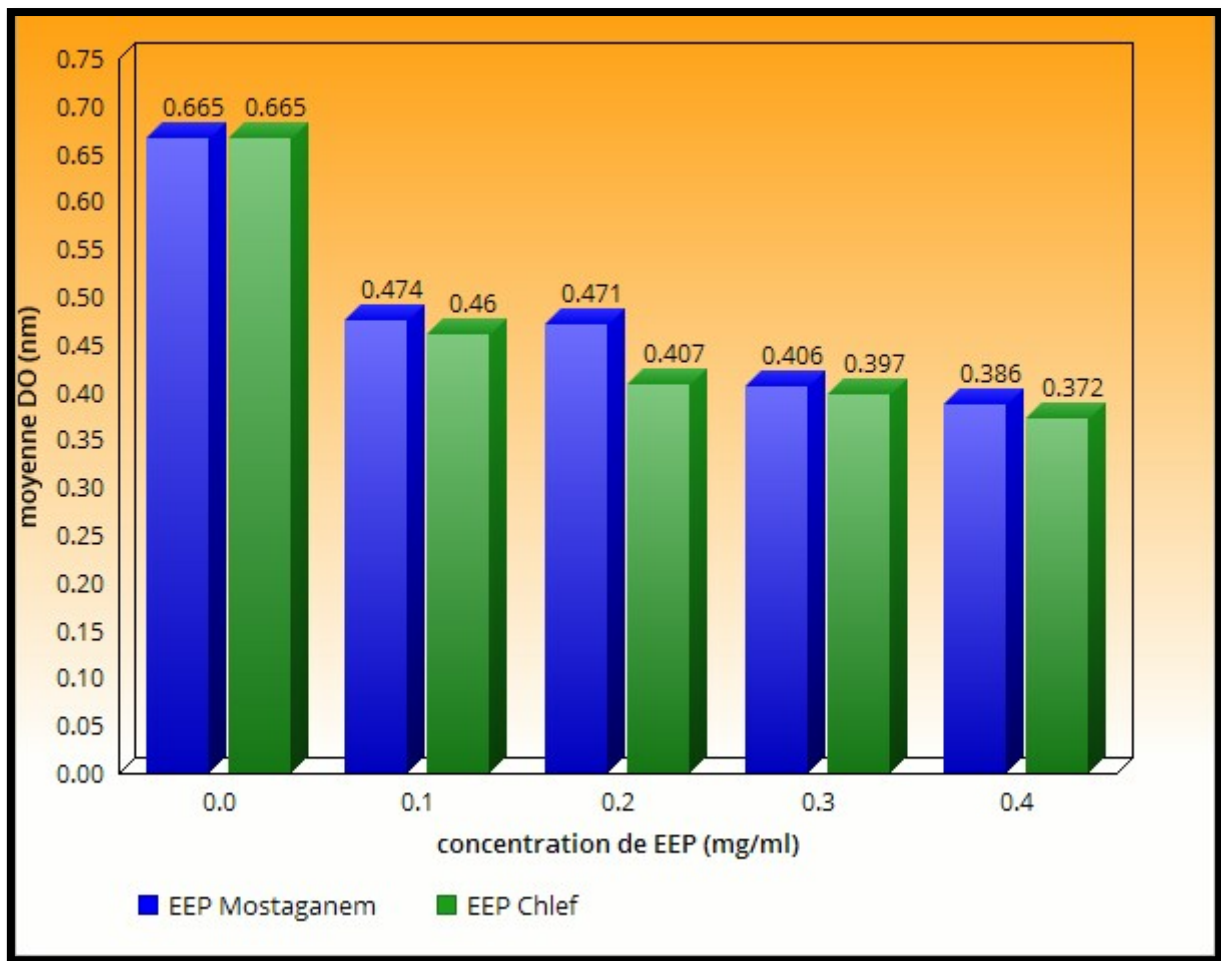
[Concentration de propolis] (mg/mL)	Chlef 2018		Mostaganem 2018	
	Abs Moy (nm)	Pourcentage d'inhibition(%)	Abs Moy (nm)	pourcentage d'inhibition (%)
0,1	0,460±0,01933	30,8271	0,474±0,00082	28,7219
0,2	0,407±0,00125	38,797	0,471±0,00309	29,173
0,3	0,397±0,00216	40,3008	0,406±0,00205	38,9474
0,4	0,372±0,00216	44,0602	0,386±0,00125	41,9549



**Figure N° 22 :** Zones d'inhibitions du *Candida albicans* ATCC 10231 Par la méthode des puits

La Charge microbienne de  $10^5$  UFC /ml pour *Candida albicans* correspondant à  $0,665 \pm 0,00094$  nm, est la charge initiale de notre étude.

Si l'on se rapporte aux recommandations européenne de classement des pathogènes impliqués dans les infections urinaires, une candidurie supérieure à  $10^5$  UFC/ml, mise en évidence à plusieurs reprises et associée à des signes cliniques, est nécessaire pour affirmer le diagnostic d'infection à *Candida*. [89]



**Figure N° 23 :** Moyenne d'inhibition pour Candida Albicans.

Une large zone d'inhibition est observée pour la levure, avec une moyenne de 15 mm pour l'extrait de Chlef 2018, par contre une moyenne de 12 mm a été relevée pour Mostaganem 2018 sans différence significative entre les deux concentrations en EEP des extraits respectif, et un résultat négatif pour l'éthanol 70% quant a son pouvoir inhibiteur.

Nous passant a une série plus importante de concentrations en milieu liquide dont la lecture spectrophotométrique permet de quantifier de façon plus exacte et précise l'inhibition a prêt de 42% de notre inoculum de départ pour une concentration de 0 ;4 mg/ml d'extrait de propolis de Mostaganem 2018 et 44% d'inhibition pour la même concentration cette fois en EEP Chlef 2018.

C'est à dire :

A raison d'une concentration de 0,4 mg/ml d'EEP on atteint respectivement une CMI<sub>42</sub> pour Mostaganem 2018 et une CMI<sub>44</sub> pour Chlef 2018.

De ceci on confirme la première partie de notre hypothèse stipulant que les deux EEP ont un effet antifongique sur la levure *Candida Albicans*.

Avec une nette supériorité quant à l'efficacité de la propolis provenant de la région de Chlef.

Les résultats trouvés convergent avec ceux résultants de l'étude [90]

Prouvant les vertus antifongiques de la propolis sur 56 souches de *Candida* (15% *Candida Albicans*) ;

En mettant l'accent sur la responsabilité de deux principaux composants flavonoïdes à savoir la pinocénbrine et la pinobanksine émettant ainsi l'hypothèse que nos deux extraits en sont riches.

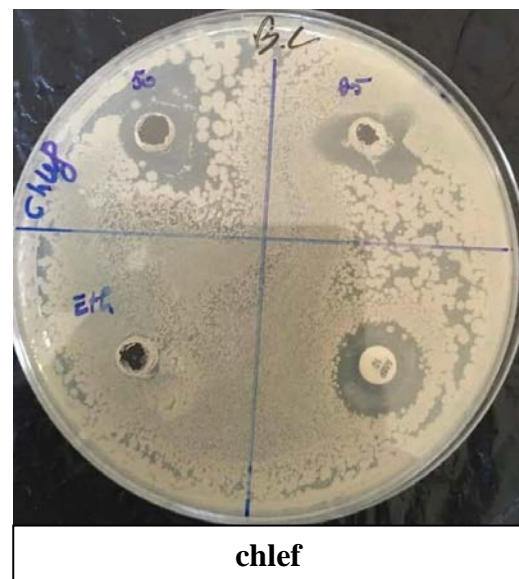
### **B) *Bacillus cereus* :**

**Tableau N° 11 :** Mesure des diamètres des zones d'inhibition de *Bacillus cereus*

	Chlef 2018			Mostaganem 2018		
Concentration en EEP (mg/mL)	0.05	0.1	Disque Ampicilline 10µg/ml	0.05	0.1	Disque
Diamètre Moyen d'inhibition (mm)	10,00± 0.04949	13.33± 0.01449	10.67± 0.00722	7.67± 0.09121	11,33± 0.0548	11.67± 0.0014

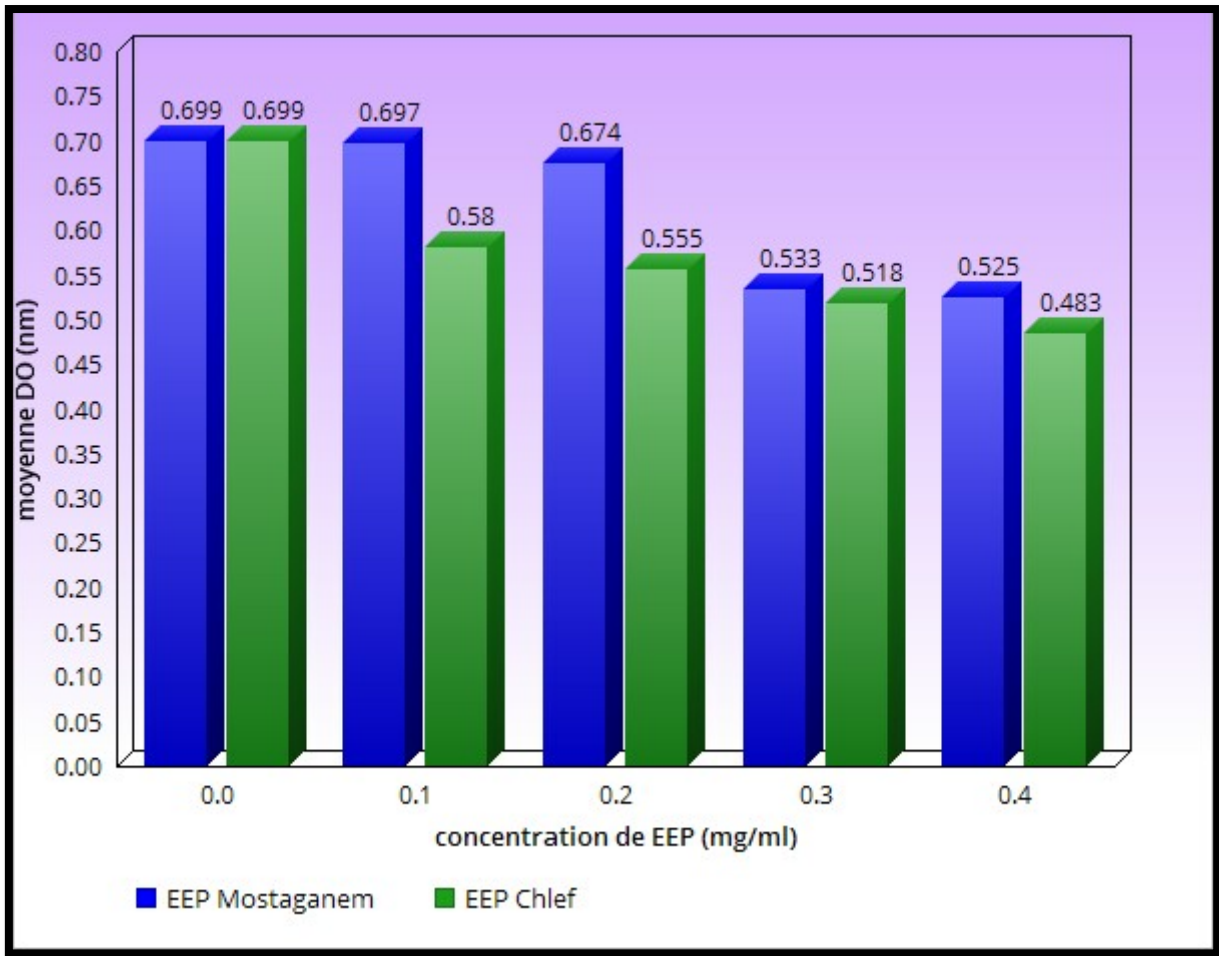
**Tableau N° 12: Pourcentage d'inhibition en fonction de concentration en EEP**

[Concentration de propolis] (mg/mL)	Chlef 2018		Mostaganem 2018	
	Abs Moy (nm)	Pourcentage d'inhibition(%)	Abs Moy (nm)	Pourcentage d'inhibition(%)
0,1	0,580±0,00094	17,2	0,697±0,00249	0,43
0,2	0,555±0,00163	20,72	0,674±0,00216	3,72
0,3	0,518±0,00047	26	0,533±0,00125	23,86
0,4	,483±0,00125	31	0,525±0,00047	25



**Figure N°24:** Zones d'inhibitions du *Bacillus cereus* ATCC 10876 Par la méthode des puits

La Charge microbienne initiale de *Bacillus cereus* est de  $7.10^8$  UFC /ml correspondant à  $0.699 \pm 0,00047$  nm



**Figure N° 25 :** Moyennes d'inhibition pour *Bacillus Cereus*

A premier abord une nette différence de diamètre est clairement significative à la fois entre les deux extraits et leurs concentrations respectives, ce qui laisse à prévoir des résultats tumultueux, on note :

Une moyenne de 7mm de diamètre pour l'extrait de Mostaganem 2018 le moins concentré qui passera à 11mm avec la seconde concentration diamètre fortement similaire à celui obtenu avec le disque d'antibiotique, pour le second extrait les zones d'inhibitions sont plus importantes allant même jusqu'à déplacer celle de l'antibiotique : 10 mm à 13 mm en augmentant de concentration là où le disque d'antibiotique ne donna que 11 mm ;

Toutefois il est à noter que l'antibiotique utilisé est l'Ampicilline et que ça concentration est de 10 µg/ml ce qui est bien inférieur à nos concentrations en EEP utilisées dans ce cas on jugera que les deux ont un effet semblable sur la bactérie mais l'ampicilline demeure plus efficace.

Concernant le milieu liquide, il nous apparaît clair que la concentration 0,3 mg/ml des deux extraits représente un virage quant à la charge bactérienne inhibée à savoir :

23% pour EEP Mostaganem et 26% pour EEP Chlef ; A raison d'une concentration de 0,3 mg/ml d'EEP ont atteint respectivement une CMI<sub>23</sub> pour Mostaganem et une CMI<sub>26</sub> pour Chlef.

De ceci on confirme la seconde partie de notre hypothèse stipulant que les deux EEP ont un effet antibactérien sur la bactérie *Bacillus cereus* avec toutefois une nette supériorité de la propolis provenant de la région de Chlef.

Les résultats trouvés rejoignent ceux de l'étude [91] H-KOO et al 2000 sur l'effet de la propolis du Brésil sur *Bacillus cereus*.

L'effet antibactérien est souvent due à la présence de deux composés flavonoïdes : pinocembrine et galangine ainsi que les molécules aromatiques et phénoliques (Acide Cinnamique, Acide Caféique, Acide Férulique) ; la galangine provoquerait des lésions au niveau de la membrane cyto plasmique en capturant le potassium des cellules [92].

## **Conclusion**

A l'heure où les maladies se font de plus en plus nouvelles, nombreuses et agressives, là où les médicaments se font de moins en moins efficaces et sans effets secondaires, les substances naturelles commencent à occuper une place de choix en thérapeutique.

Dans cette optique nous nous sommes intéressés à la propolis, produit de la ruche bien peu connu et exploité localement, mais qui a toutefois été l'Object de bien des études à l'échelle internationale ;

Nous avons pour cela, sélectionné deux types de Propolis provenant de deux régions pédoclimatiques différentes, à savoir Mostaganem et Chlef procédant dans un premier temps à la quantification de ce qui a été identifié comme principes actifs de ce produit à savoir polyphénols totaux et flavonoïdes totaux à partir de leur EEPs respectifs, à fin de par la suite soumettre à leur actions une multitude de souche microbienne, cherchant à prouver leurs effets antibactérien et antifongique.

Les résultats obtenus permettent de prouver l'effet antimicrobien (antibactérien et antifongique) tout en renvoyant cela à la richesse en polyphénols totaux ainsi qu'en flavonoïdes totaux, qui renvoient à leur tour aux patrimoine floral de provenance des deux types de propolis.

Nous conférant ainsi la légitimité de juger et classer nos échantillons de propolis selon efficacité, désignant l'échantillon Chlef du Printemps 2018 comme le plus riche en principes actifs et le plus efficace antimicrobien des trois échantillons.

## **Perspectives :**

Au vu des résultats prometteurs obtenus, et du potentiel du sujet traité. S'y approfondir un peu plus et de différentes approches semble un projet à envisager dans le future.

## Table des références

- [1] : Philippe J. M. le guide de l'apiculteur, Troisième Edition EDISUD, 1999, p.1087.
- [2] : Andelkovi B., Vujisi L., ckovi I. V., Tesevi V., Vajs V., devac D. G. (2016). Metabolomics study of Populus type propolis. *Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, S0731-7085, 30493-9.
- [3]: A. dos Santos Pereira, A.C. Pinto, J.N. Cardoso, F.R. de Aquino Neto, M.F. de Souza Ramos, G.M. Dellamora-Ortiz et E.P. dos Santos , *J. High Resolu. Chromatogr.* 21(1998) 396-400
- [4]: G.A. Burdock, *Food Chem. Toxicol.* 36 (1998) 347-363
- [5]: AS. Pereira, M. Norseil, J.N. Cardoso, F.R. Aquino Neto et M.F.S. Ramos, *J. Agric. Food Chem.* 48 (2000) 5226-5230
- [6]: S. Castaldo, F. Capasso, *Fitoterapia* 73 Suppl. 1 (2002) S1-S6
- [7]: Eric Debuyser., 1984. La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. *Université De Nante, Faculté de pharmacie.*
- [8]: Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). *APIACTA 41 (2006) PAGE 110-120.*
- [9]: Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.
- [10]: SurajPrakashShrestha .; Yuji Narukawa.; TadahiroTakeeda. 2007. Chemical constituents of nepalasepropolis: isolation of new dalbergiones and related compound. *Journal of Natural Medicine (2007) 61 : 73 – 76.*
- [11]: Mohsen FathiNajafi.; Fatemehvahdy.; Mohammed Seyyedini.; Hamid rezaJomehzadeh.;

KazemBozary. 2007. Effet of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. *Cytotechnologie*.(2007) 54: 49 – 56.

[12]: R. KRELL., 1996. Value - edded products from beekeeping. *Food and agriculture organization of the United Nations Rome.Chapitre 5*.

[13]: Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. 2000. Propolis:récent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie 31: 3 – 15*.

[14]: Dobrowolski, J. W.; Vohora, S. B.; Sharma, K.; Shah, S. A.; Naqvi, S. A.; Dandiya, P. C. Antibacterial, antifungal, antiamebic, antiinflammatory and antipyretic studies on propolis bee products. *J. Ethnopharmacol. 1991, 35, 77–82*.

[15] :Liqin Jiang. ; Guozhen Fang. ; Yan Zhang. ; Guojie Cao. ; Shuo Wang. 2008. Analysis of Flavonoids in Propolis and *Ginkgo bilobaby*MicellarElectrokinetic Capillary Chromatography. *J. Agric. Food Chem. 2008, 56, 11571–11577*.

[16]: Burdock, G. (1998), Review of the biological properties and toxicity of bee

[17]: ShigeniroKamazawa.;TomokaHamasaka.; Tsutomu Nakayama. 2004. Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry.84: 329- 339*.

[18]: Jianchun Sheng, Jing Zhou, Lin Wang, Juan XU. 2007. Antioxidant activity of Ethanol and petroleum ether extracts from Brazilian propolis. *Eur Food Technol.225: 249- 253*.

[19]: Shiva.Mohammadzadeh,MohammadShariatpanahi.; ManoochehrHamdi.; Reza Ahmadkhniha.; NasrinSamadi.; Seyed Nasser Ostad. 2006. Chimical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis *.food Chemistry*.

[20]: AtacUzel.;KadriyeSorkun. 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research 160 (2005) 189 – 195*.

[21]: S. M. Alencar, T. L. C. Oldoni, M. L. Castro, I. S. R. Cabral, C. M. Costa-Neto, J. A. Cury, P.L Rosalen, M. Ikegaki. 2007. Chemical composition and biological activity of a new

type of Brazilian propolis: Red propolis. *Journal of Ethnopharmacology* . 113. 278- 283.

[22]: Fenge Li.; Suresh Awwale. ; Yasuhiro Tezuka et Shigetoshi Kadota. 2008. Cytotoxic constituents from Brazilian red propolis and their structure- activity relationship. *Biorganique et Medicinal Chemistry* 16: 5434 – 5440.

[23]: Docteur Yves Donadieu, les produits de la ruche. 3<sup>ème</sup> Edition. 1981

[24]: Arjun H. Banskota.; Yasuhiro Tezuka.; Jeevan K. Prasain.; Katsumichi Matsushige.; Ikuo Saiki et Shigetoshi Kadota. 2004. Chemical Constituents of Brazilian Propolis and Their Cytotoxic Activities. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 7286–7292

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

[26]: Bankova V., de Castro SL., Marcucci MC. 2000. Propolis : recent advances in chemistry and plant origin. *Apidologie* 31: 3 – 15.

[27]: Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.

[28]: Erica Weinstein Teixeira.; Giuseppina Negri.; Renata M. S. A. Meira.; Antonio Salatino. 2005. Plant origin of green propolis : Bee Behavior, Plant and Chemistry. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 1: 85 – 92.

[29]: Bruno B. Saliva. ; Pedro L. Rosalen. ; Jaime A. Cury.; Masaharu Ikegaki.; Vinivius C. Souza.; Alessandro Esteves et Severino M. Alencar. 2007. Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*.

[30]: Gulhan Vardar-Unlu.; Sibel Silici.; Mehmet Unlu. 2008. Composition and in vitro antimicrobial activity of populus buds and poplar-type propolis. *World J Microbiol Biotechnol* 24: 1011 – 1017.

[31] : Moudir Naima, 2004. Les polyphénols de la propolis algérienne. . Thèse de magister en chimie. Université Mohamed Boudiaf,M'sila.

[32]: R. KRELL., 1996. Value - edded products from beekeeping. Food and agriculture organization of the United Nations Rone.Chapitre 5.

[33]: Tosi, Enzo A.; Ciappini, Maria C., Cazzolli, Ampelio F., Tapiz, Luis M. 2006. Physico chemical characteristics of propolis collected in Santa Fe (Argentina). APIACTA 41 (2006) PAGE 110-120.

[34]: <http://chateaudecyr.com/la-propolis/> (10/08/2018)

[35]: Eva Krane et Walker 1987.

[36]: Villanueva, France, 1969.

[37]: Shibata, Japon 1960.

[38]: Metzner Berlin 1978.

[39]: Konig, Dustmann RFA 1986.

[40]: Filipic, Likar et col Slovénie 1978

[41]: Alexandre cuvillier.2015

[42]: Bonvehí, J.; Gut iérrez, A. AntioxidantActivit y and Total Phenolics of Propolis from the Basque. Country (Northeastern Spain) *Journal of the American Oil Chemists' Societ y* **2011, 88**, 1387–1395.

[43]: Ahn, M.-R.; Kumazawa, S.; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F.; Nakayama, T.

Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China. *Food Chemistry* **2007**, *101*, 1383–1392.

[44]: Popova, M.; Bankova, V.; Butovska, D.; Petkov, V.; Nikolova-Damyanova, B.; Sabatini, A. G.;

Marcuzzan, G. L.; Bogdanov, S. Validated Methods for the Quantification of Biologically Active Constituents of Poplar-type Propolis. *Phytochemical Analysis* **2004**, *15*, 235–240.

[45]: Pierre Jean-Proste, Yves Le Conte. 2005. Apiculture : Connaître l'abeille, conduire le rucher. *Edition lavoisier*.

[46]: <http://bee.apinova.fr/pages/La-Propolis> 78 (5/08/2018)

[47]: Caillas A. LES PRODUITS DE LA RUCHE. LE MIEL, LA CIRE, LA PROPOLIS. L'auteur, 3e édition, 1947.

[48]: MAKACHVILI, Z.A. - Quelques données historiques sur l'emploi de la propolis

[49]: Lejeune. B. ; Pourrat, A. et Dehmouche. H. 1988. Propolis utilisation en dermatocologie. Parfums, Cosmétiques, Aromes:73-77.

[50]: Neumann. D.; Gotze G.; et Binus. W. 1986. Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. *Stomatologie der DDR*: 677-681

[51]: Mizuno. M.; Inuma. M.; et Kato. H. 1987. Useful ingredients and biological activity of propolis. *Fragrance Journal*, *15*(2): 20-28.

[52]: Sibel Silci.; Mehmet Unlu.; Gülhan Vardar-Ünlü. 2007. Antibacterial activity and phytochemical evidence for the plant origin of Turkish propolis from different regions. *World J Microbiol Biotechnol* (2007) *23*:1797–1803.

[53]: Gülhan Vardar-Ünlü.; Sibel Silci.; Mehmet Ünlü. 2008 . Composition and in vitro antimicrobial activity of Populus buds and poplar-type propolis. *World J Microbiol*

*Biotechnol: 1011 – 1017.*

[54]: Sibeli Silici.; Semiramis Kutulka. 2005. Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. *Journal of Ethnopharmacology* 99: 69 – 73.

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

[56]: Atac Uzel., Kadriye Sorkun., 2005. Chemical compositions and antimicrobial activities of four different Anatolian propolis samples. *Microbiological research* 160 (2005) 189 – 195.

[57]: K. Ghedira. ; P. Goetz. ; R. Le Jeune. 2009. Propolis. *Phytothérapie* 7: 100-105.

[58]: Oliveira AC, Shinobu CS, Longhini R, Franco SL, Svidzinski TL *Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions*. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006. p 493-497

[59]: <http://miel-et-propolis.e-monsite.com> (5/8/2018)

[60]: <http://www.mpbio.com> (5/8/2018)

[61]: Eun-Hee Park.; Sun-Hee Kin et Soo-Sun Park. 1996. Anti-inflammatory activity of propolis. *Arch Pharm. Res. Vol 19 No 5, PP 337-341.*

[62]: Marcucci, M.; 1995. Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.

[63]: Bonvehí, J.; Gutiérrez, A. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain) . *Journal of the American Oil Chemists' Society* 2011, 88, 1387–1395.

[64]: Ahn, M.-R.; Kumazawa, S.; Usui, Y.; Nakamura, J.; Matsuka, M.; Zhu, F.; Nakayama, T. Antioxidant Activity and Constituents of Propolis Collected in Various Areas of China. *Food Chemistry* **2007**, *101*, 1383–1392.

[65]: Velazquez, C.; Navarro, M.; Acosta, A.; Angulo, A.; Dominguez, Z.; Robles, R.; Robles-Zepeda, R.; Lugo, E.; Goycoolea, F. M.; Velazquez, E. F.; Astiazaran, H.; Hernandez, J. Antibacterial and Free-radical Scavenging Activities of Sonoran Propolis. *Journal of Applied Microbiology* **2007**, *103*, 1747–1756.

[66]: Laskar, R. A.; Sk, I.; Roy, N.; Begum, N. A. Antioxidant Activity of Indian Propolis and Its Chemical Constituents. *Food Chemistry* **2010**, *122*, 233–237.

[67]: Rodríguez, Y.; Sánchez-Catalán, F.; Rojano, B.; Durango, D.; Gil, J.; Marín-Loaiza, J. Caracterización fisicoquímica y evaluación de la actividad antioxidante de propóleos recolectados en el departamento del Atlántico, Colombia. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* **2012**, *15*, 303–311.

[68]: Rebiai, A.; Lanez, T.; Belfar, M. L. In Vitro Evaluation of Antioxidant Capacity of Algerian Propolis by Spectrophotometrical and Electrochemical Assays. *International Journal of Pharmacology* **2011**, *7*, 113–118.

[69]: Uthurry C.A., Hevia D., Gomez-Cordoves C. (2011) Role of honey polyphenols in health. *Journal of ApiProduct and ApiMedical Science* 3(4) : 141-159.

[70]: Heim K.E., Tagliaferro A.R., Bobilya D.J. (2002) Flavonoid antioxidants : chemistry, metabolism and structure-activity relationships. *J. Nutr. Biochem.* 13(10) : 572-584.

[71]: (Di Carlo et al., 1999).

[72]: Walker P., Crane E. (1987) Constituents of propolis. *Apidologie* 18(4) : 327-334.

[73]: Pepeljnjak S., Jalsenjak I., Maysinger D. (1985) Flavonoid content in propolis extracts and growth inhibition of *Bacillus subtilis*. *Pharmazie* 40(2) : 122-123.

[74]: Bankova V., Dyulgerov A., Popov S., Evstatieva L., Kuleva L., Pureb O., Zamjansan Z. (1992) Propolis produced in Bulgaria and Mongolia : phenolic compounds and plant origin. *Apidologie* 23(1) : 79-85.

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

[76] : Ribéreau-Gayon. 1968. Les composés phénoliques des végétaux. *Ed. Dunod Paris*, 254

[77]: (Lapornik B., Prosek M., et Wandra A. L. 2005. Comparison of extracts prepared from plant byproduct using different solvent and extraction time. *Journal of food engineering*, 71 (2): 214-222)

[78]: singleton et *al.*, 1999

[79]: Woisky et Salatino (1998)

[80]: (Barefoot et kaenhammer, 1983 ; Broadasky et *al.*, 1976 ; Doumandji et *al.*, 2010 ; Hwanhlem et *al.*, 2011)

[81]: [*IdeizeBarbosa da Silva., Maria Lucia TiveronTodrigues., Eduardo CesarMeurer., Vassiasbonkova ., Maria Cristina Marcucci., Marcos NogueiraEberlin., Alexandra Helena Frankland Sawaya.* 2006. *Effet of maceration time on chemical composition of extracts of brasilianpropolis. Journal of apiculturalresearch* 45 (3)].

[82]: [*Mohsen FathiNajafi.; Fatemehvahdy.; Mohammed Seyyedin.; Hamid rezaJomehzadeh.; KazemBozary.* 2007. *Effet of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells. Cytotechnologie.* (2007)].

[83] : Ferhoum.2009

**[84]:** Leandro M., Luis G., Diase, José Alberto Pereira, Leticia Estevinho; 2008. Antioxydant properties, total phenol and pollen analysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemical Toxicology* 46 (2008) 3482 – 3485.

**[85]:** Alencar et al., 2007

**[86]:** Leandro et al., 2008

**[87]:** waridel P. 2003. Investigation phytochimique des plantes aquatiques *Potamogetonpectinatus* L., *P. lucens* L. (Potamogetonaceae). *Thèse de doctorat, Université de lausanne. Pp : 3 –4.*

**[88]:** BAGHDAD,2017

**[89]** L. Lachaud, A. Sotto, J.-P. Lavigne, G. Cariou, J.-P. Boiteux, L. Escaravage, P. Coloby, F. Bruyère, le CIAFU. *ProgUrol*, 2011, 21, 5, 314-321].

**[90]:** Oliveira AC,Shinobu CS , Longhini R ,Franco SL, Svidzinski TI. Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz* 2006.

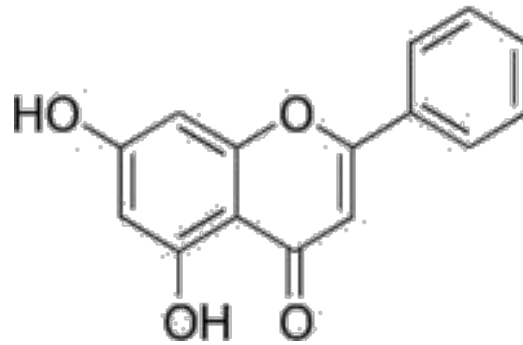
**[91]:** H-KOO et al 2000

**[92]:** T.P.Cushnie,AJ.Lamb.Detection of galangin-induced cytoplasmic membrane damage in *staphylococcus aureus* by measuring potassium loss. *Journal of Ethnopharmacology* 2005.

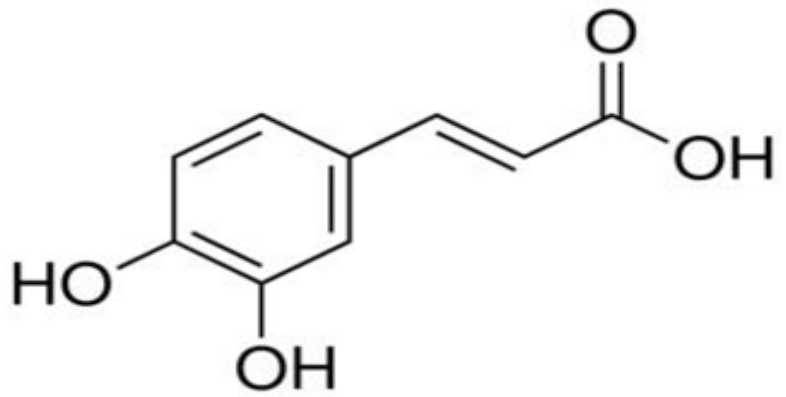
**[93]:** MADRP,DRDPA, 2016

**[94]:** Lebeda Nis 1976 – Essais de toxicité chronique de la propolis sur les rats blancs

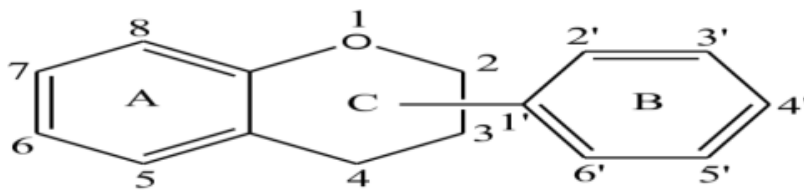
**Annexes I :**



**Figure N° 01 :** Formule chimique de la pinocembrine



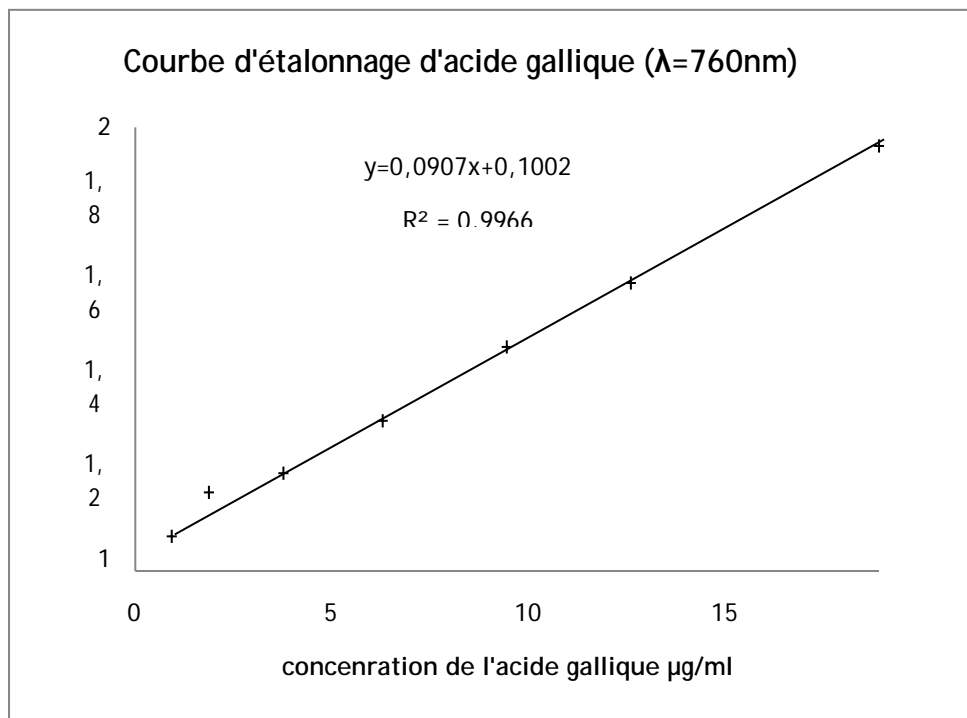
**Figure N°02 :** formule chimique de l'acide caféique (63)



**Figure N° 03 :** Structure de base des flavonoïdes

**Tableau N°01:** Absorbance de l'acide gallique à différentes concentrations :

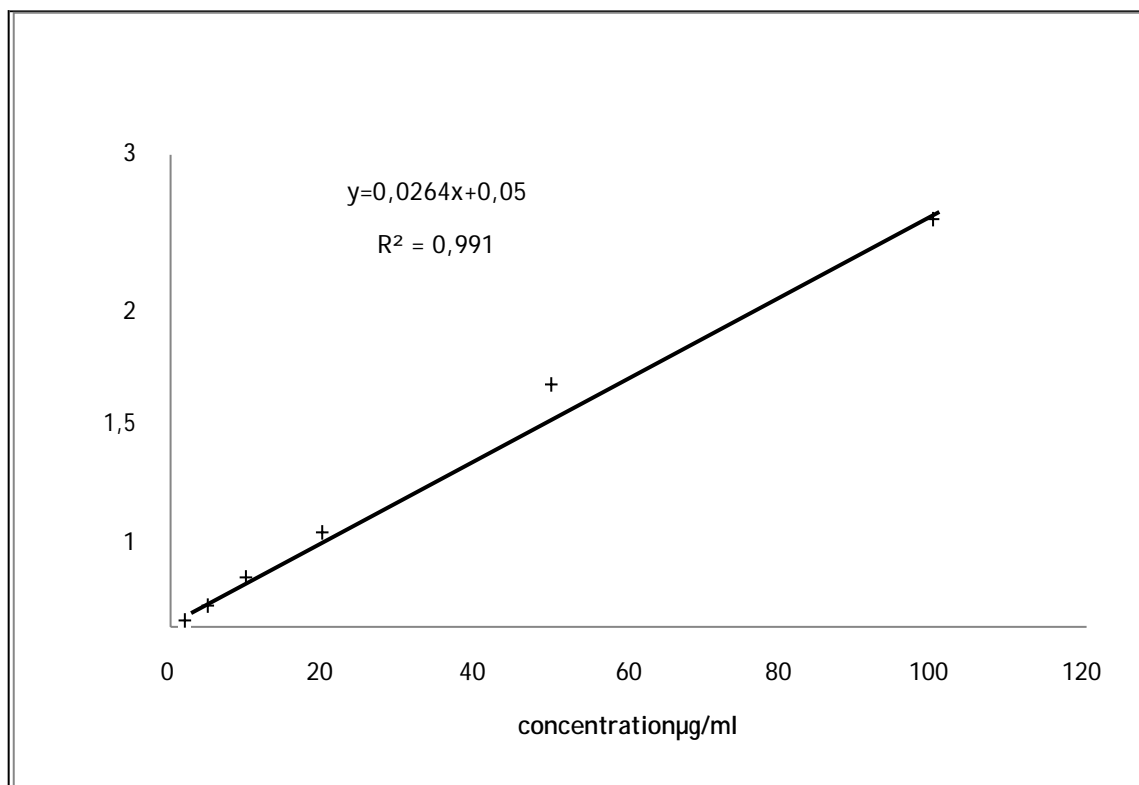
[a.gallique] µg/ml	20	13,33	10	6,67	4	2	1
A	1,922	1,302	1,013	0,679	0,442	0,355	0,156



**Figure N°04 :** La courbe étalon de l'acide gallique

**Tableau (02) : absorbances de la rutine à différentes concentrations**

[rutine] µg/ml	100	50	20	10	5	2
A	2,598	1,544	0,601	0,314	0,134	0,04



**Figure N°05 : La courbe étalon de rutine**

## **Annexes II :**

### **Matériels de laboratoires :**

Nous utilisant le matériel courant de laboratoire à savoir :

Balance de précision

Rotavapor

Spectrophotomètre UV- visible

Bain marie

Etuve

Frigo

Plaque chauffante

Vortex

Hottes à flux laminaire

Bec benzene

### **I.3.3. Réactifs et solutions :**

Eau distillé

Ethanol

Acide gallique

Réactif de Folin-Ciocalteu's

Carbonate de sodium  $\text{Na}_2\text{CO}_3$

Méthanol

Trichlorure d'aluminium  $\text{AlCl}_3$

La rutine

Eau distillé stérile

Eau physiologique stérile

$\text{H}_2\text{O}_2$

**Verreries et petits matériels :**

Becher

Erlenmeyer + barreau magnétique 6 mm

Entonnoir

Pipette pasteur

Spatule

Verre de montre

Flacon

Seringue

Tube à essai

Porte tubes

Burette graduée

Propipette

Micropipette

Les embouts

Les boites pétris

Pipette graduée

Ballons

Papier filtre

Filtre milipore N°04

**Milieux de culture :**

Mueller hinton gélose solide

Mueller hinton bouillon

Gélose sabouraud dextrose chloramphénicol (SDCA)

**Préparation des milieux de culture :**

**Mueller hinton gélose solide :** (Dans 1 litre d'eau distillé)

3 g.....Extrait de viande.

17,5 g.....Tryptone caseine hydrolysate

1,5 g.....Amidon

18 g.....Agar

**Mueller Hinton bouillon :** (Dans 1 litre d'eau distillé)

3 g .....Extrait de viande.

17,5 g.....Tryptone caseine hydrolysate

1,5 g.....Amidon

**Gélose sabouraud dextrose chloramphénicol :** (Dans 1 litre d'eau distillé)

5 g.....Digestion pancréatique de caséine

5 g.....Digestion peptique de tissu animal

40 g.....Dextrose

15 g.....Gélose