

République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université A. MIRA - Béjaia

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie Moléculaire et Médical.



Réf :.....

Mémoire de Fin de Cycle
En vue de l'obtention du diplôme

MASTER

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne de la
propolis**

Présenté par :

CHIHEB Razika & MOUSSAOUI Katiba

Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

M.BENSAID Karim

MAA

Président

M.AMIR Nadir

MCA

Encadreur

Mme.ZENATI Karima

MAA

Examineur

Année universitaire : 2017 / 2018



Dédicaces



Je dédie ce travail

A mon père LAHCENE.

Aucun dédicace ne saurait exprimer l'estime, le dévouement et le respect que j'ai toujours eu pour vous.

Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.

Ce travail est le fruit de tes sacrifices que tu as consentis pour mon éducation et ma formation.

A ma chère mère REBIHA.

Tu représente pour moi le symbole de la bonté par excellence, la source de tendresse et l'exemple du Dévouement qui n'a pas cessé de m'encourager et de prier pour moi.

Ta prière et ta bénédiction m'ont été d'un grand secours pour mener à bien mes études.

A mes très chers frères : NACERDINNE et ABDEREZZAK,

A mes très chères soeurs : LILA et KAHINA,

Je vous souhaite un avenir plein de joie, de bonheur, de réussite et de sérénité.

Je vous exprime à travers ce travail mes sentiments de fraternité.

A ma chère copine KAMELIA,

Tu es toujours là pour moi. Une présence chaleureuse, bienveillante.

Tu es la main qui m'aide à me relever quand je me sens triste.

Tu es une belle personne, que je suis fière de côtoyer.

Merci pour tout.

A mes grands-parents MOUHEND et ABDERRHMAN.

A mes grand-mères OUM-ELHANNA et SOULTANA.

A mes chères tantes DJAMOU et SONIA.

A mes copines RAZIKA, MISSIVA, ASMA, SIHEM, LILIA.

En fin, à toute personne qui m'a aidé de près ou de loin.

KATIBA





Dédicaces



Au nom de DIEU le tout puissant je dédie ce modeste travail à :



*A l'être le plus cher à mon cœur, l'homme de ma vie, école de mon
déma vie, de mes efforts et de ma réussite, la flamme de mon cœur, Aucune
dédicace ne saurait exprimer mon respect, ma considération, mes profonds sentiments
et l'amour Que j'éprouve envers vous mon frère DADA 3ZIZI MORAD, que dieu te garde pour moi.*



*A Ma source d'inspiration et ma raison de vivre, à celle qui m'a guidée
pour faire mes premiers pas et qui m'a appris mon premier mot, à celle qui fut
toujours à mes côtés, qui a illuminé mes nuits sombres et a ensoleillé mes jours
avec son inépuisable affection, qui représente toutes les
choses positives de ma vie. À Maymti DJAMILA.*

*Unedédicace chaleureuse pour WARDA et les deux anges HAYAM et
ABDRAOUF.*

*Une dédicace particulier pour ma chère sœur KARIMA et son époux
MOUHAMED et ses deux princes MOATASIM BILLAH et
SIRADJ ELDIN.*



A ma chère grand-mère FATIMA, ma tante DAHBIYA et mon oncle HAMANI.

A mon aimable frère SAID et sa fiancée HAYAT

A ma sœur AFAF et son époux AZDDINE, et ses princesses WISSAM et ANAIS

A tous mes amis, surtout, SARAH, SANA, LYDIA, SOUAD, NADA, KATYBA

A tous mes cousin et cousines, NADIA, TIMO, BRAHIM, WALID, LAMIYA, ROMAYSSA





Remerciements

Tout d'abord, nous ne pouvons pas oublier de remercier le bon Dieu, le tout puissant, le plus genoux, de nous avoir donné la foi et la sagesse, qui a éclairé notre chemin et nous a donné la volonté et le courage qui nous ont permis de réaliser ce modeste travail.

Nos remerciements les plus chaleureux, s'adressent à notre cher promoteur Mr AMIR, C'est un grand honneur pour nous, d'avoir accepté de nous encadrer.

Toute notre gratitude, Monsieur pour votre disponibilité, vos précieux conseils qui nous avez prodigués tout au long de ce travail ainsi que pour votre confiance et aussi votre présence à nos côtés et l'aide que vous avez porté afin d'accomplir à bien notre travail. À l'occasion de ce jour, permettez-nous de vous dire notre profonde reconnaissance ; puisse Dieu vous récompenser.

Nous adressons également nos plus vifs remerciements à Thiziri et Lehn pour votre présence à nos cotés et l'aide que vous avez porté afin d'accomplir ce travail.

Nous remercions énormément Mr BEN SAID pour nous avoir fait l'honneur de présider ce jury.

Nous tenons également à vous exprimer nos vifs remerciements à Mme BELHADJ, pour avoir examiné ce travail.

Nous exprimons aussi notre reconnaissance à Mme RAHMANI D., pour leur gentillesse et leur aide précieuse durant notre travail au laboratoire.

Enfin, on tient à remercier, tous ceux et celles qui ont apporté aide ou soutien, de près ou de loin, à la réalisation de ce modeste travail.

<i>Sommaire</i>	<i>page</i>
Liste des figures	
Liste des tableaux	
Introduction	1
<i>Synthèse bibliographique</i>	
I. Présentation des produits de la ruche.....	2
1. La propolis.....	2
1.1. Récolte de la propolis.....	2
1.2. Compositions de la propolis.....	3
1.2.1. La résine	3
1.2.2. La cire et les huiles essentielles	3
1.2.3. Le pollen	3
1.2.4. la matière minérale	3
1.2.5. les vitamines	3
1.2.6. Autres substances.....	4
1.3. Analyse macroscopique.....	4
2 Le Venin.....	5
3. Le miel.....	5
4. Le pollen.....	5
5. La Cire.....	6
6. La gelée royale	7
II. Activités biologiques des produits de la ruche.....	7
1. La propolis	7
1.1 Effets antibactériens.....	7
1.2 Effets anti-oxydants.....	8
1.3 Effets antifongiques.....	8
1.4 Effets antiviraux.....	8

1.5 Action cicatrisante et régénératrice	8
1.6 Effets anticancéreux	8
1.7 Effets anesthésiantes	8
2. Le Venin.....	9
3. Le miel.....	9
4. Le pollen.....	9
5. La cire.....	10
6. La gelée royale.....	10

Matériel et méthodes

I. Origine des échantillons.....	11
II. Extraction des polyphénols.....	11
III. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	11
1. Souches microbiennes testées.....	11
2. Aromatogramme.....	12
2.1. Préparation des souches bactériennes.....	12
2.2. Préparation des suspensions bactériennes.....	13
2.3. Ensemencement.....	13
3. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique.....	13
4. Etude de la synergie entre extraits et antibiotiques	14
5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice.....	14

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction	15
II. Evaluation de l'activité antibactérienne	16
1. Aromatogramme	16
2. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique.....	19
3. Résultat de la synergie entre extrait et antibiotiques	21

4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la propolis.....	26
<i>Conclusion et perspectives</i>	29
Références bibliographiques	

Liste des tableaux

Tableau I : composition de la cire

Tableau II : Souches bactérienne testées.

Tableau III : Rendement et concentrations de la propolis obtenues

Tableau IV : Résultats des aromatoigrammes des extraits éthanoliques de propolis.

Tableau V : Effets bactéricide et bactériostatique

Tableau VI : Résultats des synergies sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Tableau VII : Résultats des zones d'inhibitions des synergies (mm) sur SARM RMA 34

Tableau VIII : Résultats des zones d'inhibitions des synergies (mm) sur *A. baumannii* VEB-ATCA 131107588

Tableau IX : Concentration minimale inhibitrice de la propolis

Liste des figures

Figure 1 : Composition de la propolis.

Figure 2 : Rendement d'extraction de la propolis

Figure 3 : Activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis.

Figure 4 : Effets bactéricide et bactériostatique

Figure 5 : Résultats des synergies sur ATB seul sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Figure 6 : Résultats des synergies sur SARM RMA 34

Figure 7 : Résultats des synergies sur *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588

Introduction

Introduction

La santé et la beauté font partie des préoccupations de l'homme qui continue toujours à chercher le meilleur moyen de les entretenir. Les recherches ont connu une évolution considérable ces dernières années, plusieurs industriels tels que les firmes pharmaceutiques et l'industrie du cosmétique ont suivi une nouvelle révolution à savoir le retour à la nature. Ainsi la médecine douce propose des traitements moins agressifs et surtout plus acceptés par le malade et la cosmétologie propose des préparations à base de produit naturel plus appréciés et plus recherchés par le consommateur.

L'apithérapie est un concept global de santé qui fait partie de la sphère de la médecine dite "naturelle". Il s'agit d'un traitement préventif ou curatif des maladies humaines vétérinaires par les produits biologiques issus ou extraits du corps même de l'abeille secrétée par elle ou récoltés puis transformés par elle (**Becher, 2007**). L'utilisation traditionnelle de ces produits a démontré leur efficacité contre plusieurs maladies à savoir ; les ulcères, les plaies et les brûlures (**Apimondia, 2001**), les stomatites, les aphtes, la gastrite et la laryngite (**Donadieu, 2008**). Mais également dans le cas de l'anorexie, la diarrhée, la bronchite pneumopathie, et enfin le rhume et la grippe (**Domerego et al, 2009**).

Excellente arme utilisée par les abeilles pour lutter contre les microorganismes attaquant la ruche, la propolis a été utilisée comme remède depuis les temps anciens (**Bancova, 2005**). En effet, cette substance est utilisée pour prévenir certaines maladies telles que les maladies inflammatoires et cardiovasculaires, le diabète, le cancer et les ulcères stomacaux (**Ravazzi, 2003**).

C'est dans cet objectif, que notre travail s'inscrit. Il se base essentiellement sur l'identification de l'activité antibactérienne de la propolis récoltée dans la région de Chelata à la commune d'Akbou, wilaya de Bejaia.

A cet effet, nous allons nous intéresser en premier lieu aux données bibliographiques en lien direct avec ce sujet. En second lieu un travail expérimental sur l'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis sur plusieurs bactéries en mettant l'accent sur le matériel et les méthodes utilisés dans les différents tests. Ensuite, nous interprétons et discuterons les résultats obtenus pour dégager une conclusion et des recommandations.

Synthèse bibliographique

I. Présentation des produits de la ruche

1. La propolis

La propolis est une substance résineuse élaborée à partir de la salive des abeilles et de la résine récoltée sur les bourgeons et les écorces d'arbres blessés (**Delepouille, 2014**). Les principaux arbres produisant la résine, transformée par les abeilles en propolis, sont le peuplier, le bouleau, le sapin, le saule, l'orme, le chêne, le frêne, et le marronnier. La propolis voit sa couleur et son odeur changer en fonction de la plante dont elle est issue (**Ravazzi, 2003**). Les butineuses font d'abord usage de leurs antennes pour situer la partie la plus intéressante de la source qu'elle attaque avec leurs mandibules. Elles décollent les fragments de résine, les mélanges avec leurs mandibules et les incorpore à leur salive. Puis, tête redressée, elles reculent afin d'étirer la particule saisie jusqu'à ce qu'elle soit transformée en un fil et que celui-ci se rompe. Enfin, elles entassent et logent les gouttelettes formées et les rapporte à la ruche (**Apimondia, 2001 ; Jean-Prost, 2005 ; Donadieu, 2008**). L'abeille ajoute aussi un peu de cire. Mais également des traces de pollen y sont retrouvées.

Les abeilles l'utilisent pour enduire l'entrée et les cadres de la ruche pour empêcher l'entrée de courant d'air à l'intérieur de la ruche. Elle est utilisée aussi pour embaumer (momifier) les ennemis tués s'ils sont trop volumineux pour être évacués par les abeilles hors de la ruche (**Lavie, 1975 ; Ghisalberti, 1979 ; Challem, 1995**).

Ce produit est utilisé dans les atteintes respiratoires, Oto-rhino-laryngologiques(ORL), de la région buccale ou dermatologique grâce à ses actions anti-inflammatoire, anesthésiante, analgésique et cicatrisante (**Blanc, 2010**).

1.1.Récolte de la propolis

La propolis recouvre les cadres et les parois de la ruche, pour la récolter, on procède parrage ou grattage des cadres et parois. L'inconvénient majeur de cette technique est le nombre des impuretés qui sont récoltées en même temps. Pour obtenir une propolis de meilleure qualité, on dispose une grille en métal ou en plastique sur la dernière hausse de la ruche. Les mailles de la grille vont être colmatées par les ouvrières à l'aide de propolis. Il suffit alors de prélever la grille et de congeler la grille, la propolis congelée est en effet cassante et facile à désolidariser de la grille (**Jean-Prost, 2005**). Ainsi la quantité récoltée peut aller de 100 à 300 g en moyenne par ruche et par an.

Il n'y a pas de précautions particulières à prendre pour la conservation de la propolis. Néanmoins, on évitera de l'exposer à l'humidité, la lumière et la chaleur. Bien que la durée de stockage ne semble pas altérer ses propriétés, il est conseillé de la consommer dans l'année de la récolte (**Apimondia, 2001**).

1.2. Composition de la propolis

La composition de la propolis est très complexe avec presque 150 constituants différents. Toutefois, elle peut fortement varier d'un type à un autre (**Darrigol, 1979 ; Donadieu, 1993 ; Alphandery, 2002**). Elle varie selon l'origine botanique et géographique des plantes visitées par les abeilles (**kumazawa et al., 2004 ; Teixeira et al., 2008**)

1.2.1. La résine

La résine est un constituant majeur de la propolis représentant 55% de l'ensemble de ces composants (Figure 1). Elle est constituée de flavonoïdes (flavones, flavonols, flavonones et flavononols), et d'acide phénolique (acides caféique, cinnamique, férulique, isoférolique et p-caumarique) et d'esters (**Pietta, 2002 ; Ravazzi, 2003 ; Shimizu et al., 2004**)

1.2.2. La cire et les huiles essentielles

Après les résines les constituants principaux de la propolis sont la cire et les huiles essentielles (**Kumazawa et al., 2003 ; Mohammadzadeh et al., 2006**). Les lipides qui constituent la propolis sont principalement des terpénoïdes (farsénol par exemple) et les lipides issus de la cire (**Apimondia, 2001 ; Donadieu, 2008**).

1.2.3. Le pollen

Le pollen représente 5% de sa composition totale. Il est constitué de protéine et d'acides aminés. Ces derniers représentent 1% dont l'arginine et la proline occupent 45.8% d'acides aminés totaux (**Ravazzi, 2003**)

1.2.4. La matière minérale

La propolis est constituée de 5% de matières minérales. Elle est représentée principalement par le fer et le zinc. Les autres éléments minéraux présents dans la propolis sont l'aluminium, l'argent, le calcium, le cuivre, le magnésium, le potassium et le sodium (**Donadieu, 2006**).

1.2.5. Les vitamines

Les vitamines identifiées dans la propolis sont les vitamines A, C, E, et les vitamines du groupe B en particulier B3 (**Marcucci, 1995**).

1.2.6. Autres substances

En plus des composants précédents, la propolis est extrêmement riche en acides aromatiques et aliphatiques et en esters d'acides. Les acides et surtout leurs esters jouent un rôle primordial dans le rôle thérapeutique de la propolis. La propolis contient également de l'acide acétyl salicylique (Donadiou, 2008).

En plus des substances déjà énumérées, la propolis peut contenir des acides organiques (acides benzoïque et gallique), des aldéhydes aromatiques (vanilline et l'isovanilline), des coumarines (escultétole et le scopolétole), des glucides (glucose, fructose et mélizitose),...(Meda ,2005 ; Navrotescu et al., 2006).

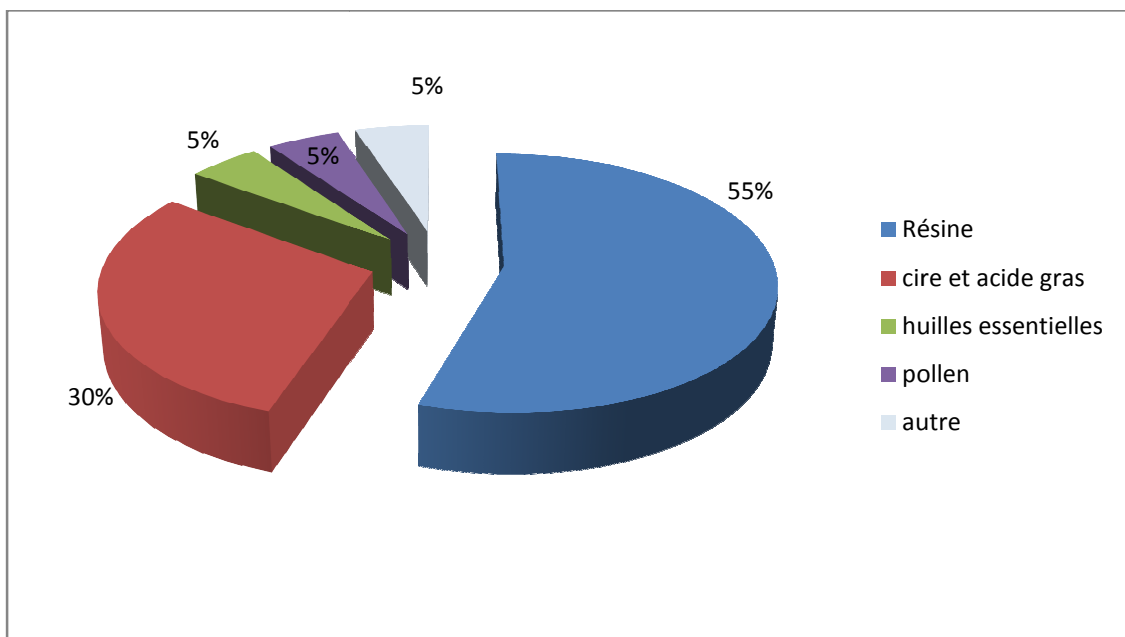


Figure 1 : Composition de la propolis (Clémen,2011).

1.3Analyse macroscopique

L'analyse macroscopique de la propolis permet de déterminer :

- ✓ La consistance : la propolis est molle au-dessus de 30°C. Elle est dure et cassante endessous de 15°C
- ✓ L'odeur : agréable, résineuse
- ✓ Le goût : amer, âcre
- ✓ La couleur : en fonction de l'origine : brun-jaune, brun-vert ou rouge (Bogdanov,2013).

2. Le Venin

Le venin est toute substance toxique produite par des animaux et destinée à tuer ou paralyser leurs proies. Il est secrété par les abeilles, reines et ouvrières, grâce à une glande de leur abdomen. Il est stocké dans des réservoirs à la base de l'abdomen relié à un dard à la structure très élaborée. La reine s'en sert pour se débarrasser de ses rivales ; les ouvrières l'utilisent pour défendre la ruche contre des agresseurs, des gourmands ou des envahisseurs, comme les souris. Le dard de l'abeille ouvrière a des barbes et s'arrache après la piqûre, lorsque l'abeille s'envole, causant sa mort ; celui de la reine, lisse, ne s'accroche pas (**Ballot-Flurin, 2010**).

Les principaux composants du venin sont des molécules retrouvées chez la majorité des êtres vivants. On distingue essentiellement des enzymes (phospholipase A2, hyaluronidase), des peptides (mellitine, apamine, peptide mastocyte cell degranulating (MCD)) ainsi que des neuromédiateurs (histamine, catécholamines et sérotonine) (**Ferreira Junior, 2010**).

3. Le miel

Selon le **Codex Alimentaire (2001)**, le miel est défini comme étant « la substance naturelle sucrée produite par les abeilles *Apis mellifera* à partir du nectar de plantes ou des sécrétions provenant de parties vivantes de plantes ou des excréments d'insectes laissée sur les parties vivantes de plantes, que les abeilles butinent, transforment en les combinant avec des substances spécifiques qu'elles secrètent elles-mêmes, déposent, déshydratent, emmagasinent et laissent affiner et murir dans les rayons de la ruche ».

La composition du miel est variable et dépend de l'origine botanique des plantes butinées ou des miellats ingérés par les abeilles. Les glucides sont les principaux constituants et représentent à eux seuls environ 95% de la matière sèche du miel. Le miel contient également de nombreux autres composants : protéines, enzymes, acides aminés, vitamines, minéraux, polyphénols...etc (**Bogdanov, 2008 ;Boukraâ, 2009**).

4. Le pollen

Le grain de pollen est la cellule male des fleurs, il sert à féconder la partie femelle de la fleur. Il provient de la poudre fine présente sur les étamines récoltée par les abeilles qui mélangent cette poudre avec du nectar et leurs sécrétion salivaires riches en enzymes et

lactobacilles, elle forme ainsi des pelotes colorées. C'est une source importante de protéine pour les abeilles (**Ballot-Flurin,2010**).Le pollen est l'un des produits les plus riches qui soient, ce qui permet de le classer dans les compléments alimentaires.

D'après plusieurs études (**Bonvehi,1997 ;Szczésna,2007 ; Yang, 2013**), le pollen est principalement composé de glucides (27%) ; de protéines (23,7%), d'eau (18,5%) ; de substance cellulosique (18%) ; de lipides (4,8%) ; de micro-éléments(3%) et de minéraux (5%).

5. La Cire

La cire d'abeille est une matière grasse allant du jaune au brun, élaborée à partir du nectar, transformée au niveau des glandes cirières des abeilles, en la mélangeant avec leur salive et leurs enzymes (**Auby, 1994**). Elle sert à confectionner des alvéoles, à operculer les cellules, à celer les fissures et protéger la ruche contre les objets étrangers (**Jean-Prost et Le Conte, 2005**).

La cire d'abeille est un matériau très complexe, constitué de plus de 300substances différentes. Les composants majoritaires de la cire sont les lipides. Cependant, d'autres constituants sont présents tels que les flavones, les alcools, les acides aromatiques et les composant volatiles (Tableau I) (**Jean-Prost et Le Conte, 2005 ; Bogdanov et al., 2006**).

Tableau I : composition de la cire (**Bonaduce et Colombini, 2004**)

Composé	Teneur (%)
Hydrocarbones	14
Monoesters	35
Disertes	14
Triesters	3
Hydroxy monoesters	4
Hydroxy polyesters	8
Esters acides	1
Polyestersacides	2
Acides gras libres	12
Alcools libres	1
Non identifiés	6

La cire est dotée d'agents antioxydants (polyphénols, flavonoïdes) et de facteurs antibactériens. Selon **Anilakumar et al.,(2007)**, les polyphénols de la cire d'abeille possèdent des propriétés hepato-protectives.

6. La gelée royale

C'est une substance blanchâtre à consistance gélatineuses, acide et légèrement sucré, produite par les abeilles nourrices. Elle consiste la nourriture exclusive de toutes les larves de 0 à 3 jours et de la reine pendant toute la durée de son existence. Elle est le lait maternel des abeilles (**Lintermans, 2011**).

La gelée royale est principalement composée d'eau(66%), des sucres(14,5%),des protéines (13%), des acides gras(4,5%),de minéraux et des oligo-éléments(1,5%),elle comporte également de nombreuses vitamines, notamment (B1, B2, B12 et C), un facteur antibiotique actif sur les *Proteus* et *Escherichia coli* (plus connu sous le nom de colibacille) et quelques grains de pollen(**Donadieu, 2010**).

II. Activités biologiques des produits de la ruche

1. La propolis

La propolis possède de nombreuses propriétés thérapeutiques. L'ensemble des recherches effectuées à ce jour ont démontré plusieurs propriétés biologiques de ce produit. Ces propriétés sont en rapport avec la composition chimique. On distingue :

1.1. Effets antibactériens

C'est vers les années 1950 qu'ont été découvertes les propriétés antibactériennes de la propolis. Les essais montrent que les différentes propolis ont un spectre antibactérien très large, avec une forte activité sur les GRAM positif, tels que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Paenibacillusalvei*, *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*ou encore sur les GRAM négatifs comme les *salmonelles*, *protéus mirabilis* ou *Helicobacter pylori*, responsable d'ulcère gastroduodéal. En revanche, on note une faible activité de la propolis sur *E. Coli* et les *Pseudomonas* (**Lavie, 1960 ; Ghedira, 2009**).

La propolis possède un spectre bactérien large (**Anauate,2002 ;Al-Waili, 2012**) cette activité est due à de nombreuses molécules : l'acide cinnamique, ses constituants aromatiques et phénoliques, ses acides diterpéniques et ses flavonoïdes.

La propolis agirait en inhibant la croissance bactérienne en bloquant la division cellulaire et en détruisant la paroi bactérienne, et ceci principalement sur les bactéries a gram+.

1.2 Effets anti-oxydants

Des extraits enrichis en flavonoïdes et en polyphénols issus de la propolis présentent des propriétés anti-oxydantes par inhibition de la lipoperoxydation de l'acide linoléique (Shigenori, 2004 ; Choi et al., 2006). Plusieurs études *in vitro* ont montré le pouvoir antioxydant de la propolis (Bonvehi,1972 ; Sobocanec, 2004 ; Nakajima,2009).

La diminution du stress oxydant est due à la présence de polyphénols, de flavonoïdes ainsi que d'acide caféique et d'artépilline C. L'activité antioxydante de la propolis correspond à 70% de celle de la vitamine C (Nakajima, 2009).

1.3 Effets antifongique

La propolis a des effets antimycosiques, contre les germes appartenant au genre *Candida* (Oliveira, 2006)et contre les levures. La propolis s'est montrée efficace dans l'infection à *Giardia lamblia* (oxyurose) comme la métronidazole (Abdel-Fattah,2007).

1.4 Effets antiviraux

Grace à la présence des flavonoïdes, la propolis est efficace contre le *poliovirus*, les virus de type *Herpes* (par des esters de l'acide cafeique) et l'adénovirus et présente aussi une relative efficacité dans le cas des gripes, de l'hépatite B ainsi que le zona.

1.5 Action cicatrisante et régénératrice :

La propolis serait bénéfique dans les cas de tissus abimés par exemple au niveau osseux ou dentaire en favorisant la régénération, d'après certaines études effectuée sur l'animal (Donadieu, 1993).

1.6. Effets anticancéreux :

La teinture de propolis a un effet cytotoxique qui permet d'inhiber les cellules tumorales HeLa avec une CI50 de 7,45 mg/ml. La propolis verte du Brésil a fait l'objet de plusieurs recherches, pour ses propriétés anticancéreuses (Banskotaetal., 2002).

1.7. Effets anesthésiants :

La propolis est un puissant anesthésique (Metzner et Schneidewind 1997 ;Burdock, 1998), son utilisation topique engendre une diminution de la sensibilité cutanée. Il a été démontré que cet effet est dû en particulier à la pinocembrine, l'acide caféique ainsi qu'aux esters (Paint et Metzner, 1979). Les études ont démontré que cette résine est 52 fois plus puissante que la cocaïne dans les tests sur les cornées de lapin (Ghisalberti, 1979).

2. Le Venin

Plusieurs études (**Lubke, 1997 ; Lazarev, 2005 ;Klinghardt,2013**) ont montré l'efficacité de la mellitine comme antibiotique. Le mécanisme est commun, la mellitine aurait une action cytotoxique par la formation de pores au niveau des membranes plasmiques. On peut citer une efficacité sur *Borrelia burgdoferi*, responsable de la maladie de Lyme (**Klinghardt, 2013**). In vitro, la population et la motilité du spirochète diminuent considérablement après administration de mellitine dans le milieu. Des études in vivo sur des souris ont montré une activité contre *Chlamydia trachomatis* et *Mycoplasma hominis* (responsables d'infections uro-génitales) (**Lazarev, 2005**).

3. Le miel

Les scientifiques ont découverts des sources naturelles alternatives sans effets de résistance telles que le miel, dont l'activité antibactérienne a été signalée pour la première fois en 1892 sur certaines bactéries telles que *Salmonella typhy*, *Salmonella paratyphy*, et *Staphylococcus aureus* (**Cortopassi-Laurino et Gelli., 1991**). Il présente une activité envers 60 espèces bactériens y compris les aérobies et les anaérobies, aussi bien les Gram+ que les Gram- (**Taormina et al., 2001**).

D'après (**Lochhead, 1931**), c'est l'acidité du miel et la présence d'une quantité importante de sucre qui confèreraient au miel sa valeur antiseptique. Le miel du fait de son osmolarité conséquente et de sa forte teneur en sucre crée un appauvrissement de l'eau disponible pour les bactéries mettant en péril leur vie (**Lavoine, 2012**).

4. Le pollen

Plusieurs études ont démontré l'activité antimicrobienne du pollen (**Fatrcová-Šramková, 2013 ;Pascoal,2014**), Les espèces suivantes ont été testées : *Listeria monocytogenes* (CCM 4699), *Pseudomonas aéruiginosa* (CCM 1960, ATCC 15442, ESA 22), *Staphylococcus aureus* (CCM 3953, ATCC 6538, ESA 159), *Salmonella enterica* (CCM 4420), *Escherichia coli* (ATCC 25922, ESA37), *Candida glabrata* (ATCC 66032, ESA 123). Les aromatoigrammes de pollen ont été comparés avec un antibiogramme de gentamicine. Dans le cas des *Candida*, le contrôle a été fait avec du fluconazole.

Le pollen est efficace sur toutes les espèces testées, mais de manière variable. Les deux études s'accordent pour dire que le pollen est le plus efficace sur les *Staphylococcus*

aureus. L'action sur les autres espèces est équivalente hormis pour *Escherichia coli* qui présente le plus de résistance.

5. La cire

La cire est le produit de la ruche qui a le moins d'application thérapeutique. Il est cependant le produit le plus utilisé dans l'industrie pharmaceutique comme excipient pour les formulations galéniques.

6. La gelée royale

Des études ont démontré les propriétés bactériostatiques et bactéricides de la gelée royale et notamment contre les colibacilles que sont *Proteus* et *Escherichia coli* et contre le bacille de Koch à l'origine de la tuberculose (**Boukraa,2008**).

Ainsi, deux substances ont été identifiées : l'acide hydroxytrans décénoïque et une protéine appartenant à la famille des gammaglobulines seraient à l'origine de cet effet antibactérien. Toutefois, d'autres substances sont impliquées comme la royalisine, d'origine protéique (**Fujiwara, 1990**).

En complément de cette action contre ces micro-organismes, la gelée royale participe à la régénération de la flore intestinale, comme le pollen et la propolis. Ceci est évidemment intéressant dans les traitements antibiotiques qui agressent cette flore. La gelée royale pourrait donc prendre le relais d'un tel traitement pour aider à la récupération, surtout chez le sujet âgé (**Association Européenne d'apithérapie**).

Matériels et méthodes

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire de microbiologie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia. Cette étude consiste à évaluer l'activité antibactérienne de la propolis vis-à-vis de plusieurs souches bactériennes.

I. Origine des échantillons

Les échantillons de propolis étudiés dans ce travail ont été récoltés durant le mois de Mars 2018, dans la région d'Akbou willaya de Bejaia. Les différents échantillons ont été conservés dans des flacons en verre à l'abri de la lumière dans un réfrigérateur.

II. Extraction des polyphénols

L'extraction des polyphénols a été réalisée par macération. Deux grammes de poudre de propolis ont été mélangés avec un volume de 200 ml d'éthanol à 100%, 80% et 50%. Le mélange a été laissé sous agitation pendant 4 heures (**Farnesiet al., 2009**). Ces solvants d'éthanol permettent l'extraction d'un maximum de composés biologiquement actifs (**Cunha et al. 2004 ; Medana et al., 2008**) et l'obtention d'extraits de propolis sans cire et riches en polyphénols (**Gomez-Caravaca et al., 2006**). Après 18h à 24h d'incubation, le mélange a été filtré en utilisant le papier « wattman ».

L'extrait ainsi obtenu, a été évaporé dans une haute chimique pendant 24h, puis séché à l'étuve jusqu'à obtention d'une masse constante. La récupération des extraits secs a été réalisée avec du DMSO, puis conservé à l'abri de la lumière à 4°C.

III. Evaluation de l'activité antibactérienne

1. Souches microbiennes testées

Cinq souches bactériennes (Tableau II) ont été mises à notre disposition par le laboratoire LMA de l'université Abderrahmane Mira de Bejaia. Ces souches regroupent des bactéries Gram+ et Gram-.

Tableau II : Souches bactérienne testées.

bactérie	Souches testées
Gram (-)	<i>Escherichia coli</i> 25922 <i>Acinetobacterbaumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588 <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ViM P510
Gram(+)	<i>SARM RMA34</i> <i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633

2. Aromatogramme

La méthode utiliser pour évaluer l'activité antibactérienne des extraits de la propolis est la méthode des disques en papier. Cette méthode consiste à déposer à la surface d'un milieu géloséensemencé, des disques chargés de substance à tester puis porté à l'incubation (Belaiche, 1979).

2.1. Préparation des souches bactériennes

Les souches testées doivent être pures et obtenues d'une culture bactérienne jeune de 24h car elles doivent avoir le même état physiologique au moment où elles entrent en contact avec l'agent antimicrobien, donc qu'elles aient toutes la même sensibilité vis-à-vis de la substance testées. La concentration de germes est d'environ 10^8 UFC/ml (UFC : unité formant colonies) (Leclerc et al., 1983).

Les souches bactériennes ont été repiquées, en prélevant 3 à 5 colonies qui seront dissociées dans un tube à essai contenant 5ml de bouillon nutritif, puis incubées à 37°C/24h. L'isolement de ces bactéries a été effectué par la méthode des stries sur la gélose Muller Hunton.

2.2. Préparation des suspensions bactériennes

À partir d'une culture de 24 heures, 3 à 5 colonies bien isolées ont été prélevées dans 5ml d'eau physiologique suivi d'une agitation à l'aide d'un vortex.

2.3. Ensemencement

L'ensemencement est réalisé selon la technique du (NCCLS, 2002). Le milieu de Mueller-Hinton est coulé dans des boîtes de pétri (4 mm d'épaisseur). Les boîtes sont refroidies et séchées à température ambiante puis sont ensemencées à partir des suspensions bactériennes à l'aide d'écouvillons stériles. L'écouvillon est imbibé de la suspension bactérienne puis essoré contre la paroi interne du tube à essai. L'ensemencement se fait par des stries serrées, de haut en bas et l'opération est répétée trois fois, en tournant la boîte de 60° à chaque fois. L'écouvillon est par la suite passé sur toute la périphérie de la gélose.

Dans chaque boîte, 6 disques de papier absorbant Wattman de 6 mm de diamètre stérilisés à l'autoclave (121°C pendant 20 minutes) ont été déposés. 5 disques recevront 5µl chacun des différentes concentrations des extraits de propolis (5, 15, 25, 50 et 60 mg/ml) et un disque pour le contrôle négatif qui recevra 5µl de DMSO. Un disque d'antibiotiques (gentamycine) est déposé au centre de la boîte.

Les boîtes sont ensuite mises dans le réfrigérateur à 4°C /2h pour une bonne adhésion des disques sur la gélose et diffusion des extraits. L'incubation a été effectuée à l'étuve à 37°C pendant 24 heures pour toutes les bactéries. La lecture des résultats se fait par la mesure du diamètre des zones d'inhibitions autour des disques (karabay et al., 2007).

3. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique

Une substance est dite bactéricide quand elle tue le ou les germes concernés et dite bactériostatique quand elle inhibe la croissance de ces germes (Belaiche, 1979). L'activité bactéricide ou bactériostatique est déterminée en découpant un carré de la gélose à partir des zones d'inhibition obtenues (Lewus et al., 1992). Le carré prélevé est re-suspendu dans 5 ml de bouillon nutritif. La lecture des résultats est effectuée après 24h puis 48h

d'incubation à 37°C. Un témoin négatif (tube contenant du bouillon nutritif seul) et un témoin positif (tube contenant du bouillon nutritif et un carré de la gélose) sont pris pour interpréter les résultats.

4. Etude de la synergie entre extraits et antibiotiques

Pour mettre en évidence la présence ou l'absence de l'effet synergique des extraits de la propolis, des disques d'antibiotiques sont imprégnés avec 5 µl de chaque extrait de concentration de 60 mg/ml. Les antibiotiques testés sur les trois souches (*SARM RMA34*, *Bacillus subtilis ATCC 6633* et *Acinetobacter baumannii VEB-1 ATCC A131107588*) dans ce travail sont : la Gentamicine, la Rifampicine, Erythromycine, Clindamycine, Vancomycine, Oxacilline et l'Amikacine.

5. Détermination de la concentration minimale inhibitrice

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) de façon générale est la plus faible concentration d'antimicrobien capable d'inhiber toute croissance visible à l'œil nu après un temps d'incubation de 18 à 24 heures (**Moroh et al., 2008**). La CMI est déterminée en utilisant la méthode de dilution en milieu solide gélosé (Mueller Hinton) sur les souches présentant une sensibilité vis-à-vis des différents extraits testés. Il s'agit de *SARM RMA34*, *Bacillus subtilis ATCC 6633* et *Acinetobacter baumannii VEB-1 ATCC A131107588*.

Pour *SARM RMA34*, *Bacillus subtilis ATCC 6633*, les extraits éthanliques 80% et 50% concentrés à 5mg/ml, ont subi une série de dilution de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16 donnant des concentrations de 2.5 mg/ml, 1.25 mg/ml, 0.625 mg/ml, et 0.312 mg/ml, respectivement.

Pour *Acinetobacter baumannii VEB-1 ATCC A131107588*, les extraits éthanliques 80% et 50% concentrés à 15mg/ml, ont subi également une série de dilution de 1/2, 1/4, 1/8 et 1/16 donnant des concentrations de 7.5mg/ml, 3.75mg/ml, 1.875mg/ml et 0.937mg/ml, respectivement.

Après ensemencement des boîtes à l'aide d'écouvillons, 5µl de chaque dilution des extraits précédents sont répartis dans des disques de 6 mm de diamètre. Après diffusion de 2heures à 4 °C, les boîtes ont été incubées à 37 °C pendant 18 à 24 heures.

Résultats et discussion

I. Taux d'extraction

Pour chaque extraction, le rendement en extrait sec de la propolis a été déterminé selon la formule :

$$TE(\%) = [(P1-P0)/E] \times 100$$

P0 : poids du récipient vide (g).

P1 : poids du récipient après évaporation du solvant (g).

E : poids de l'échantillon initial (g).

L'extraction a été effectuée en utilisant l'éthanol à différentes polarités pour l'extraction des composés phénoliques. L'éthanol entre dans la composition de plusieurs préparations thérapeutiques (**Brehon et al., 2000**). Il s'évapore facilement et solubilise les composants actifs de la propolis (**Krell, 1996**). Son efficacité dans l'étude de l'activité antibactérienne est confirmée (**Drago et al., 2000 ; Rhajaoui et al., 2001 ; Park et al., 2002**).

L'analyse des résultats montre que le rendement d'extraction le plus important est observé avec l'éthanol 50% avec un pourcentage de 65,5%, suivi par l'éthanol 80% (55%) et l'éthanol 100% (44,1%). Le fort taux d'extraction obtenu avec le solvant aqueux (50%), pourrait être dû à la présence de composés modérément polaires et de composés glycosylés.

Une étude sur l'extraction avec l'eau a indiqué des rendements de l'ordre 7,7% ; 3,2% ; 9,6% respectivement, pour la propolis de Chine, du Pérou et de Brésil (**Arjun H, 2000**) ; un taux d'extraction de 14,3 à 46,2% et de 26,6 à 75,8% respectivement, pour l'hexane et l'éthanol 70% (**Tosi ; 2006**). Une autre étude a rapporté des taux d'extraction par l'éthanol et l'eau respectivement, de 35% et 7% (**Najafi ; 2007**).

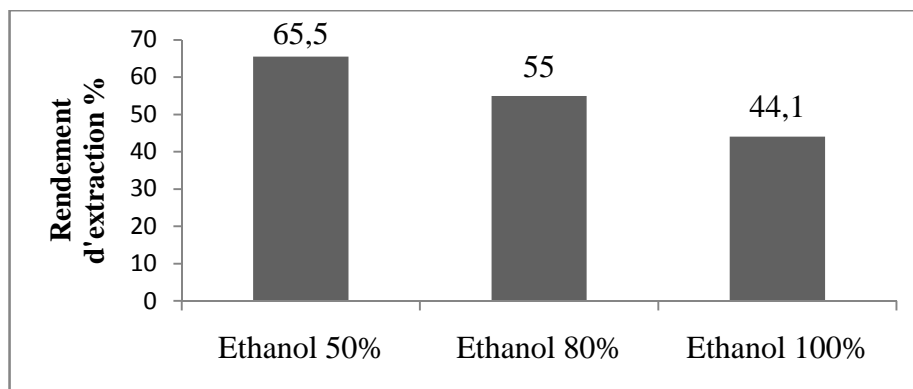


Figure 2 : Rendement d'extraction de la propolis

L'extraction des composés phénoliques à partir de la matière végétale dépend de leur structure chimique, de la méthode d'extraction, de la granulométrie et du temps de macération (**Boulekbache, 2005**), l'état du matériel végétal (sec ou frais) et les conditions thermiques de l'extraction peuvent influencer significativement le taux et la nature des composés extraits (**Boukerouis, 2008**). L'étape de dissolution interne dépend de nombreux facteurs. En effet, les composés phénoliques à extraire sont le plus souvent combinés à d'autres substances (protéines, polysaccharides, terpènes, chlorophylle, lipides, composés inorganiques....), c'est pourquoi un solvant ne sera pas nécessairement choisit en fonction de la plus grande solubilité du composé à extraire (**Mompon et al., 1998**).

II. Evaluation de l'activité antibactérienne

1. Aromatogramme

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis (Tableau IV et Figure 3), testée vis-à-vis de cinq souches bactériennes (*Escherichia coli* 25922, *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCCC A131107588, *Pseudomonas aeruginosa* VIM P510, SARM RMA34, *Bacillus subtilis* ATCC 6633), montrent que les extraits éthanoliques de la propolis ne présentent aucune activité antimicrobienne sur les deux souches à Gram négatif à savoir : *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* VIM P510. Alors que **Marcucci et al., 2000** et **de Trusheva et al., 2010**, ont rapporté une activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis sur des souches similaires.

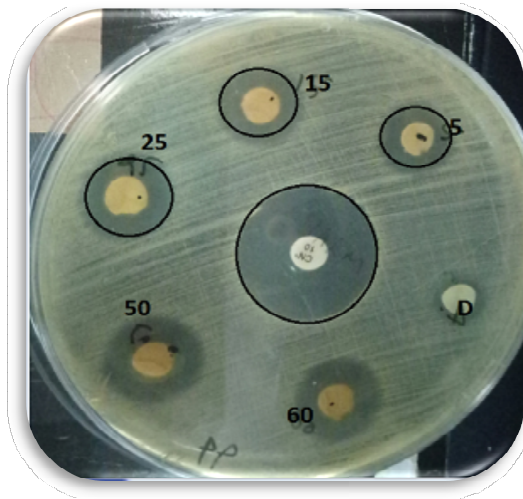
Un effet antibactérien plus ou moins important, a été constaté vis-à-vis les bactéries à Gram positif (*SARM RMA34* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633). Nos résultats

sont en accord avec ceux de plusieurs auteurs qui ont montré que les bactéries Gram positif sont plus sensibles à l'effet de la propolis (Tegoset *al.*, 2002; Donadiou, 2008), qui présente une faible activité contre *Acinetobater baumannii VEB-1 ATCC A131107588* dans la présente étude. La faible sensibilité des bactéries Gram négatif à l'égard de l'extrait éthanolique de la propolis serait due à leur membrane externe qui empêcherait le passage de la propolis (Tegoset *al.*, 2002), ou encore au fait que la propolis contient beaucoup de constituants dérivés des plantes qui sont sécrétés à l'origine pour protéger les plantes contre les bactéries pathogènes Gram positif, la plupart du temps (Tegoset *al.*, 2002 ; Kim et Chung, 2011).

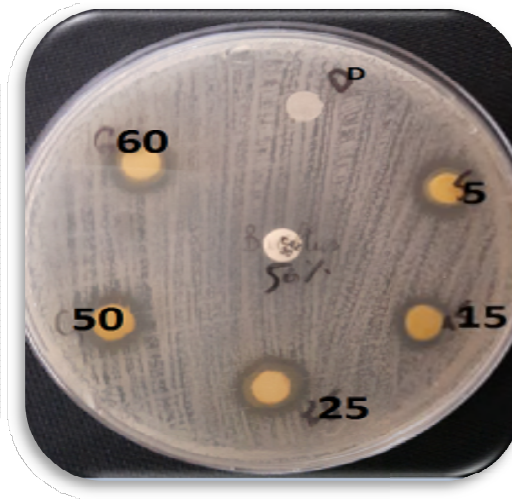
Tableau 4: Résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis.

Extrait Ethanolique	Concentration testée (mg/ml)	Zone d'inhibition (mm)				
		<i>Escherichia coli</i> 25922	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633	<i>P.aeruginosa</i> ViM P510	SARM RMA34	<i>A.baumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588
100%	5	-	17±0	-	12,5±0,70	8±0
	15	-	18,5±0,70	-	14,5±0,70	8,5±0,70
	25	-	19±0	-	14,5±0,70	9,5±0,70
	50	-	20,5±0,70	-	14,5±0,70	11,5±0,70
	60	-	20±0	-	14,5±0,70	11±1,41
80%	5	-	9±1,41	-	9±1,41	-
	15	-	11,5±2,12	-	11±2,12	9±0
	25	-	11,5±0,70	-	11,5±0,70	-
	50	-	10±1,41	-	13,5±0,70	-
	60	-	14±1,41	-	14,5±0,35	8±0
50%	5	-	9±1,41	-	7,5±0	8±1,41
	15	-	10,5±0,70	-	8,5±0,70	9±1,41
	25	-	12±0	-	10,5±0,70	8±0
	50	-	12,5±0,70	-	9,5±3,53	9±0
	60	-	12±0	-	11±2,82	8,5±0,70

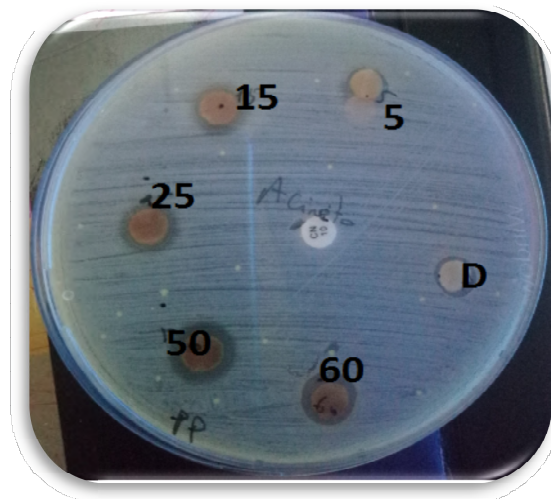
(-) absence de zone d'inhibition



SARM RMA34



Bacillus subtilis ATCC 6633



Acinetobacter baumannii VEB-1
ATCC A131107588

Figure 3 :Activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis.

L'activité antibactérienne la plus importante a été enregistrée avec l'extrait éthanolique 100% concentré à 50mg/ml contre *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec une zone d'inhibition de 20.5mm. Alors que la plus faible activité a été enregistrée avec l'extrait éthanolique 50% à une concentration de 5mg/ml contre *SARM RMA34* avec une zone d'inhibition de 7,5mm.L'augmentation de la concentration des extraits éthanoliques

engendre une augmentation de son effet antibactérienne vis-à-vis *Bacillus subtilis* ATCC 6633 qui se traduit par une zone d'inhibition plus importante.

Pour *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588, les extraits éthanoliques ont montré une faible activité antibactérienne avec des zones d'inhibition qui varient entre 11.5 et 8mm.

En effet, Ces différences dans les effets antibactériens dépendent de la souche bactérienne étudiée, de l'origine de la propolis, mais également du solvant utilisé (**Uguret Arslan, 2004**). Ces activités antibactériennes seraient imputables à l'acide cinnamique, aux molécules aromatiques, aux acides diterpéniques, aux composés phénoliques et aux nombreux flavonoïdes qui composent la propolis et en font le plus actif des produits de la ruche (**Bankova et al., 1996 ; Boukraâ et Sulaiman, 2009 ; Ramanauskienè et Inkèniènè, 2011**). La composition chimique de la propolis varie selon l'origine botanique (**Bankova et al., 2000 ; Negri et al., 2000 ; Popova et al., 2002**), l'espèce d'abeille, le temps de la récolte et la zone géographique (**Ghisalberti, 1979 ; Bankova et al., 2000 ; Park et al., 2002 ; Bankova et al., 2008 ; Kumazawa et al., 2008 ; Vera et al., 2011 ; Isla et al., 2012a ; 2012b ; Solórzano et al., 2012 ; Danert et al., 2014**). Dans cette étude, tous les échantillons de propolis ont été prélevés, durant la même période, au sein d'un même rucher et au niveau des colonies d'abeilles locales. Cependant, le mécanisme d'action est encore mal compris. Certains chercheurs pensent que l'inhibition de la croissance bactérienne serait due à la destruction de leur paroi empêchant ainsi leur division cellulaire (**Domerego et al. 2009**).

2. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique

Ces deux termes désignent l'effet des antibiotiques sur les bactéries. Un antibiotique a un effet bactéricide lorsqu'il agit en détruisant le micro-organisme. Il a un effet bactériostatique, lorsqu'il agit en inhibant sa division.

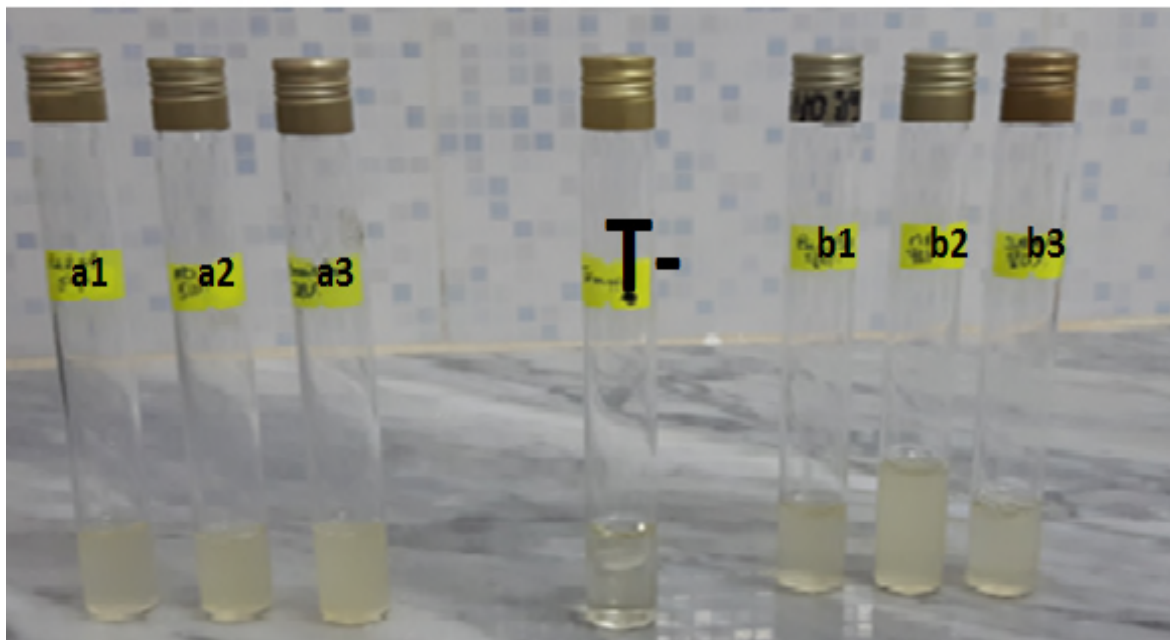
Nous avons testé cette activité seulement sur les extraits qui présentent une bonne activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées. La lecture est faite après 24h et 48h d'incubation. Les résultats de l'étude de l'activité bactéricide ou bactériostatique montrent que tous les extraits éthanoliques de la propolis (100%, 80%, et 50%) présentent un effet bactériostatique contre les souches bactériennes testées. Seul l'extrait éthanolique de la propolis 100% présente un effet bactéricide contre *A. baumannii* VEB-1 ATCC A131107588.

Le potentiel antibactérien (bactériostatique) de la propolis serait dû à la présence de flavonoïdes et de composés aromatiques (galangine, pinocambrine...)(Campos,2003 ; Al-Waili, 2005 ; Attia 2011).

Tableau V : Effets bactéricide et bactériostatique

Souche Extrait Éthanolique	SARM RMA 34	<i>A.bumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588	<i>Bacillus subtilis</i> ATCC 6633
50%	+	+	+
80%	+	+	+
100%	+	-	+

(+) : effets bactériostatique, (-) : effets bactéricide.



(T-) : témoin négatif,(a: EEP50% ; b :EEP80%), (1 :*Bacillus subtilis* ATCC 6633;2 :*A.bumannii* VEB-1 ATCC A131107588. 3 :SARM RMA 34)

Figure 4 :Effets bactéricide et bactériostatique

3. Résultat de la synergie entre extrait et antibiotiques

La synergie a été définie comme un phénomène dans lequel deux composés différents sont combinés pour améliorer leur activité individuelle. Si la combinaison entraîne un effet détérioré, on parlera alors d'antagonisme. L'effet moins synergique mais non antagoniste est appelé addition ou indifférence (Rani et al., 2009).

Afin de pouvoir optimiser et améliorer l'effet antimicrobien d'un extrait, des associations ont été effectuées avec des antibiotiques (Tableaux VI, VII, VIII), l'effet synergique peut fournir une thérapie efficace contre les bactéries résistantes. L'extrait de la propolis a été combiné avec la gentamicine, l'amikacine, la rifampicine, l'érythromycine, la clindamycine, vancomycine et l'oxacilline (Figure 5, 6, 7) afin de déterminer d'une manière quantitative la capacité éventuelle des composés phénoliques d'augmenter l'effet antibactérien pour l'EEP étudié.

Tableau VI : Résultats des synergies Extraits/ATBs sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633

Extrait Ethanologique	Diametre de la zone d'inhibition	Antibiotique	Zones d'inhibition (mm)		
			ATB seul	ATB +EEP	Différence
50%	12	Oxacilline	19,5 ± 0,70	22±5,65	+2,5
		Gentamicine	20± 0	29± 0	+9
		Amikacine	19 ±1,41	27,5±0,70	+8,5
		Rifampicine	27 ±4,24	29,5±3,08	+2,5
		Erythromycine	30± 0	32±2,82	+2
		Clindamycine	18± 2,82	20±0	+2
		Vancomycine	16,5± 0,70	19,5±2,12	+3
80%	14	Oxacilline	19,5 ± 0,70	18,5±0,70	-1
		Gentamicine	20± 0	28±1,41	+8
		Amikacine	19 ±1,41	28,5±2,12	+9,5
		Rifampicine	27 ±4,24	29,5±0,70	+2,5
		Erythromycine	30± 0	34,5±0,70	+4,5
		Clindamycine	18± 2,82	20±0	+2
		Vancomycine	16,5± 0,70	18±0	+1,5

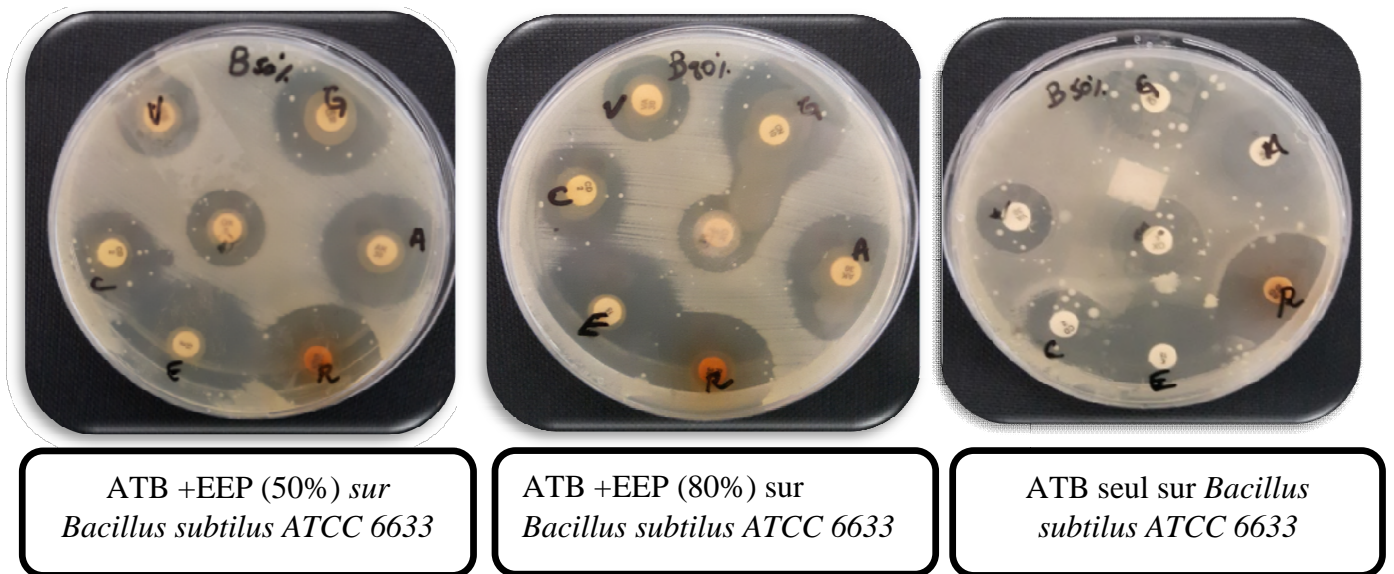


Figure 5 : Résultats des synergies sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633.

Les résultats des synergies réalisées entre l'extrait éthanolique 50% avec les deux antibiotiques gentamycine, amikacine testée sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 révèlent une augmentation significative de la zone d'inhibition avec 9 et 8,5 mm de diamètre, respectivement. Par contre les associations de cet extrait avec les autres antibiotiques cités dans le tableau IV ont marqué une légère augmentation des zones d'inhibition.

La meilleure récupération (9.5 mm) a été obtenue sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633, en associant l'amikacine avec l'extrait éthanolique 80%, suivi de l'association de l'extrait éthanolique 50% avec la gentamycine avec 9 mm de diamètre.

Les résultats de la combinaison entre l'extrait éthanolique de la propolis 80% avec la gentamicine et avec l'amikacine montrent une amélioration de l'activité antibactérienne traduite par une valeur de 8 et 9.5 mm de diamètre, respectivement. Cependant l'EEP 80% a diminué faiblement l'effet antibactérien de l'oxacilline (-1 mm). Cette diminution serait probablement due à une interaction et un désaccord de principe actif de ce dernier et les composés phénoliques qui présentent l'activité antibactérienne.

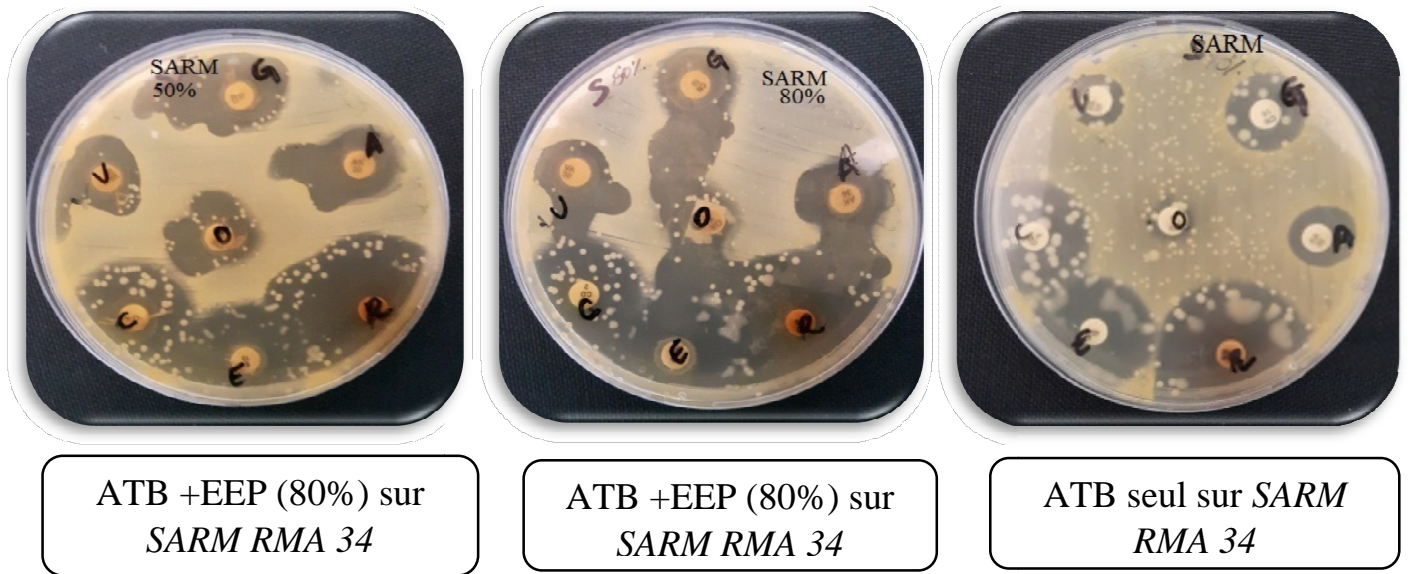


Figure 6 : Résultats des synergies sur *SARM RMA 34*

Tableau VII: Résultats des synergies Extraits/ATBs sur *SARM RMA 34*.

Extrait Ethanolique	Diamètre de la zone d'inhibition d'EEP	Antibiotique	Zones d'inhibition (mm)		
			ATB seul	ATB +EEP	Différence
50%	11	Oxacilline	13,5±4,94	17,5±3,35	+4
		Gentamicine	18,5±2,12	18,5±2,12	0
		Amikacine	15,5±2,12	20±0	+4,5
		Rifampicine	34±2,82	37±4,24	+3
		Erythromycine	28±2,82	40±14,14	+12
		Clindamycine	27±4,24	30±0	+3
		Vancomycine	12±0	16±1,41	+4
80%	14,5	Oxacilline	13,5±4,94	12,5±0,70	-2
		Gentamicine	18,5±2,12	16±1,41	-2,5
		Amikacine	15,5±2,12	16,5±2,12	+1
		Rifampicine	34±2,82	45±7,07	+11
		Erythromycine	28±2,82	35±7,07	+7
		Clindamycine	27±4,24	35±7,07	+8
		Vancomycine	12±0	14,5±0,70	0

Les résultats de la combinaison entre l'EEP (50%) avec la majorité des antibiotiques montrent une amélioration de la zone d'inhibition ; rifampicine (3mm), oxacilline (4 mm) ; vancomycine (4 mm), amikacine (4.5mm) et érythromycine (12 mm). Cette amélioration peut être due à la présence d'une synergie entre le principe actif de l'antibiotique et les flavonoïdes.

L'extrait éthanolique de la propolis (80%) induit la vancomycine, l'érythromycine, la clindamycine et la rifampicine à augmenter leur efficacité qui se traduit par un gain allant de 2,5 mm (avec la vancomycine), jusqu'à 11 mm (avec la rifampicine), alors que des rétrécissements de 2,5 et 2 mm ont été obtenus une fois combinés à la gentamycine, et l'oxacilline, respectivement.

Les zones d'inhibitions obtenues avec l'amikacine, la rifampicine ainsi que l'érythromycine contre la souche *A.baumannii* VEB-ATTCA 131107588 étaient de 15, 16.5 et 22 mm, respectivement. Le reste des antibiotiques ne présentaient aucune activité (Figure 6). Cette absence d'activité serait due à la difficulté des antibiotiques à pénétrer *A.baumannii* VEB-ATTCA 131107588 à cause de leur paroi.

Tableau VIII: Résultats des synergies Extraits/ATBs sur *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588

Extrait Ethanolique	Diamètre de la zone d'inhibition	Antibiotique	Zones d'inhibition (mm)		
			ATB seul	ATB +EEP	Différence
50%	8,5	Oxacilline	-	-	-
		Gentamicine	-	9,5±0,70	+1
		Amikacine	15±0	10±0	-5
		Rifampicine	16±5,65	17,5±0,70	+1,5
		Erythromycine	22±0	12±0	- 10
		Clindamycine	-	9,5±0,70	+1
		Vancomycine	-	-	-
80%	8	Oxacilline	-	11,5±0,70	+3,5
		Gentamicine	-	11±1,41	+3
		Amikacine	15±0	15,5±0,70	+0,5
		Rifampicine	16±5,65	15±0	-1
		Erythromycine	22±0	15±1,41	-7
		Clindamycine	-	10,5±0,70	+2,5
		Vancomycine	-	11±0	+3

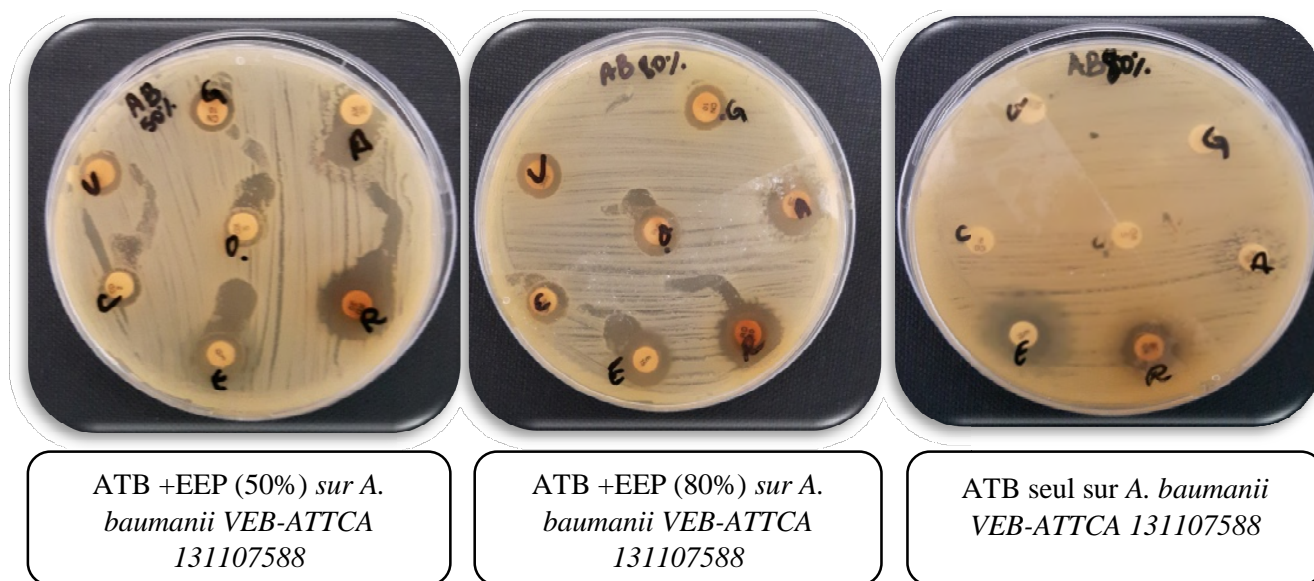


Figure 7 : Résultats des synergies sur *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588

Les résultats des synergies réalisées entre les extraits éthanoliques de la propolis 50% avec les sept antibiotiques testés sur *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588, révèlent une légère amélioration de l'effet antibactérien avec quelque antibiotique seulement, tels que la gentamycine et la clindamycine par un gain de 1mm de diamètre et la rifampicine avec 1,5 mm. D'autre part cet extrait a réduit l'activité d'amikacine par une valeur de 5 mm et celle de l'érythromycine avec 10 mm de diamètre. Cette diminution peut être due à la présence d'autres composés, que les phénols qui peuvent influencer sur les principes actifs des antibiotiques.

Les synergies réalisées entre l'extrait éthanolique de la propolis 80% avec l'antibiotique oxacilline et l'antibiotique vancomycine présentent une activité antibactérienne de 3 à 3,5 mm (Tableau VIII). Par contre l'association de l'EEP 50% avec ces deux antibiotiques ne présente aucun effet antibactérien contre *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588. L'effet synergique peut être dû à la formation d'un complexe plus efficace dans l'inhibition d'une espèce particulière de microorganismes, soit par inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ou en provoquant la lyse ou la mort de ces microorganismes (Chanda et Rakholiya, 2011).

D'autre part, l'EEP 80% induit un effet antagoniste face aux deux antibiotiques qui sont la rifampicine (-1mm) ainsi que l'érythromycine (-7mm).

Les combinaisons synergiques représentent une grande source inexploitée de nouveaux produits pharmaceutiques avec des mécanismes d'action nouveaux et multiples qui peuvent surmonter la résistance microbienne (Ncube et al., 2008).

4. Détermination de la concentration minimale inhibitrice de la propolis

La CMI visuelle est identifiée comme étant la plus petite concentration de la propolis qui inhibe la croissance de la bactérie testée. Les données relatives à la concentration minimale inhibitrice (CMI) de l'activité antimicrobienne des EEP de propolis à l'égard de chaque souche bactériennes sont résumées dans le **tableau IX**.

Tableau IX: Concentration minimale inhibitrice de la propolis.

Souche EEP%	CMI(mg/ml)		
	<i>A. baumannii</i> <i>VEB-ATTCA</i> <i>131107588</i>	<i>SARM RMA 34</i>	<i>Bacillus subtilus</i> <i>ATCC 6633</i>
80%	≤1.857	≤5	≤5
50%	/	≤5	≤1.25

EEP : extraits éthanoliques de propolis.

La meilleure activité inhibitrice est représentée par la plus faible CMI. Le meilleur effet inhibiteur a été observé contre la souche *Bacillus subtilus ATCC 6633* exercé par l'extrait éthanolique de propolis 50% avec d'une CMI de 1.25mg/ml. Suivie par l'extrait éthanolique 80% avec une CMI de 1.857mg/ml sur *A. baumannii VEB-ATTCA 131107588*

Une CMI de 5 mg/ml a été obtenue avec les extraits éthanoliques de propolis 50%et 80%sur le *SARM RMA34*, et avec l'extrait éthanolique 80% sur *Bacillus subtilus ATCC 6633*. Ce qui suggère que *SARM RMA 34* est plus résistante aux extraits de la propolis.

Ces différences des résultats seraient également dues aux souches testées (résistance) et à la présence en concentration plus importantes du principe actif dans l'extrait éthanolique 50% de la propolis.

Conclusion et perspectives

L'homme a tout simplement copié les médicaments qu'utilise le petit insecte pour maintenir sa société en bonne santé. Ainsi, les produits de la ruche telle que le miel, pollen, gelée royale, venin et propolis peuvent être utilisés dans de nombreux domaines thérapeutiques. En effet les propriétés de ces produits sont très larges.

La propolis est l'un des produits complexes de la ruche. Il faut retenir qu'elle est riche en composés phénoliques et flavonoïdes. Grâce à cette composition particulière et d'une grande complexité elle possède des propriétés antibactériennes, antioxydante, antifongique, antivirale, anticancéreuse, anesthésiante et une action cicatrisante et génératrice.

Cette étude de l'activité antibactérienne nous a permis de conclure que :

- Le meilleur rendement d'extraction des composés phénoliques est obtenu avec l'éthanol 50%, avec un pourcentage de 65,5%. Cette extraction dépend de quelques facteurs tels que : la structure chimique de la propolis, le solvant utilisé, le temps de macération, l'état de la propolis (sec ou frais) et les conditions thermiques de l'extraction.
- L'extrait éthanolique de la propolis ne possède aucun effet contre *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* VIM P510 et une légère activité sur *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588
- L'extrait éthanolique de propolis est plus actif sur *SARM RMA34* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec des CMI de 1.25mg/ml exercé sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633.
- Les extraits éthanoliques de propolis 100%, 80% et 50% inhibent la croissance (effet bactériostatique) des souches *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588, *SARM RMA34* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633. Sauf que l'extrait à 100% possède un effet bactéricide vis-à-vis *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588.
- On outre, on a fait une étude de la synergie entre les divers extraits éthanoliques de la propolis et une série d'antibiotiques. Les résultats de cette manipulation ont montré un effet synergique par une amélioration allant jusqu'à 12 mm est mise en évidence par l'extrait éthanolique de la propolis 50% en combinaison avec l'Erythromycine sur la souche *SARM RMA 34*. Donc certains antibiotiques tels que l'Erythromycine sont déconseillés de les associer avec la propolis sur certaines souches.

Il serait aussi possible d'envisager une meilleure valorisation industrielle des produits de la ruche, notamment en Algérie, visant l'utilisation de ressources naturelles, telle que la propolis dans le domaine de l'agro-alimentaire, de la pharmacie et de la cosmétique.

Enfin, n'oublions pas que ces produits, si précieux, ne peuvent être synthétisés artificiellement par l'Homme. Seule l'abeille, véritable alchimiste de la nature, est capable de les produire. C'est pourquoi, il est impératif de préserver la survie de cet insecte. Comment, sans notre aide, pourrait-il en effet survivre face à la menace des pesticides, des parasites, virus et prédateurs, ou du changement climatique ?

Il serait judicieux de compléter cette études en :

- Créant une banque de données numérisées des grains de propolis Algériens ;
- Variant les solvants d'extraction pour atteindre plus de composant phénolique ;
- Evaluant l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des différentes maladies ;
- Etudiant d'autre propriétés de la propolis algériens (effets antiviral, antifongique, anti-inflammatoire...), ainsi qu'en identifiant les composés impliqués dans ces activités ;
- Etudiant l'interaction avec une plus large gamme d'antibiotiques ;
- Combinant les extraits de la propolis avec d'autres produits de la ruche, mais également avec d'autres substances d'origines naturelles ;

Références Bibliographiques

Références bibliographique

Abdel-Fattah NS, Nada OH (2007) Effect of propolis versus metronidazole and their combined use in treatment of acute experimental giardiasis. *J Egypt Soc Parasitol* 37(Suppl. 2): 691-710.

Alphandery R. *La route du miel – Le Grand Livre des Abeilles et de l'Apiculture*, Paris, Nathan, 2002, 288p.

Al-Waili NS. (2005a). Mixture of honey, beeswax and olive oil inhibits growth of *Staphylococcus aureus* and *Candida albicans* *Arch. Med. Res.P* :10-13.

Al-Waili, N., Al-Ghamdi, A., Ansari, M. J., Al-Attal, Y. & Salom, K. (2012). Synergistic effects of honey and propolis toward drug multi-resistant *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Candida albicans* isolates in single and polymicrobial cultures. *Int J Med Sci* 9, 793–800.

Anauate Netto, C. et al. (2013). Effects of typhoid propolis on mutants streptococci and lactobacilli: a randomized clinical trial. *Braz Dent Sci* 16, 31–36.

Anilakumar, K.R., Krishna, K.R., Chandramohan, G., Khanum, F. & Bawa, A.S. (2007).

Apimondia - standing commission of apitherapy (2001) *Traité d'Apithérapie*, La médecine par les abeilles [cédérom] v.1.01 PC-Mac Produit par Api-Ar International SA R Brussels. 2001 ISBN : 2- 9600270-0-0.

Arjun H Banskota Yasuhiro Tazuka . (2000). cytotoxic, hepatoprotective and free radical scavenging effects of propolis from Brazil, Peru, the Netherlands and China *Journal of Ethnopharmacology* P: 239-246.

ASSOCIATION EUROPEENNE D'APITHERAPIE, *La médecine par les abeilles - Traité d'apithérapie*, CD-ROM d'Apithérapie .

Attia YA., Al-hanoun A., El-Din AE., Bovera F., Shewika YE. (2011b) Effect of bee pollen levels on productive, reproductive and blood traits of NZW rabbits *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. P :294-303.

Aupy, G., Paccalin, J. and Lostalot, J.D. (1994). Miel et abeilles. *Diététique et Médecine* ,4 :161-173.

Références bibliographique

Ballot-Flurin C. (2010) ; les bienfaits de l'apithérapie. Edition : Groupe Eyrolles/ Diffusion Geodif.p31

Bankova V., Marcucci MC., Simova S., Nikolova N., Kujumgiev A., Popov S. (1996) Antibacterial diterpenic acids from Brazilian propolis Z. Naturforsch C. 51(5-6):277-80.

Bankova V.S., De Castro S.L., Marcucci M.C. (2000). Propolis: recent advances and plant origin. *Apidologie*, 31: 3-15.

Banskota AH, Nagaoka T, Sumioka LY, et al. (2002) Antiproliferative activity of the Netherlands propolis and its active principles in cancer cell lines. *J Ethnopharmacol* 80(1): 67-73.

Bankova, V. (2005). Recent trends and important developments in propolis research. *E CAM*, 2(1): 29-32
Bees wax polyphénols as suppressor of CC1-induced oxidative stress in rats. *Indian J Physiol Pharmacol*, 51(4): 361-367.

Belaiche P. (1979). Les techniques de laboratoire et l'aromatogramme. In : traité de la phytothérapie et l'aromathérapie, 121-132.

Bogdanov S, Jurendic T, Sieber R, Gallmann P. (2008). Honey for nutrition and health: a review. *J Am Coll Nutr*; 27(6):677-89.

Bogdanov, Stefan. Bee-Hexagon - The Products. Bee-Hexagon [en ligne]. [Consulté le 17 juillet 2013]. Disponible à l'adresse : <http://www.beehexagon.net/en/theproducts.htm>

Bonaduce, I. & Colombini, M.P. (2004). Characterisation of beeswax in works of art by gas-mass spectrometry and pyrolysis-gas chromatography-mass spectrometry procedures. *Journal of chromatography A*, 1028:297-306.

Bonvehi, J. et ESCOLÀ JORDÀ, R., (1997) Nutrient Composition and Microbiological Quality of Honeybee-Collected Pollen in Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. pp. 725-732.

Bonvehi, Josep Serra et GUTIÉRREZ, (2011). Arrate Lacalle. Antioxidant Activity and Total Phenolics of Propolis from the Basque Country (Northeastern Spain). *Journal of the American Oil Chemists' Society*. Vol. 88, n° 9, pp. 1387-1395.

Références bibliographique

Boukerouis D. (2008). Caractérisation de l'activité antioxydante des extraits de Pistacialentiscus et Fraxinusangustifolia. Mémoire de Magister. université de Béjaia.

Boukraâ L, Sulaiman SA, (2009). Rediscovering the antibiotics of the hive. Recent Pat Antinfect Drug Discov; 4(3):206-13.

Boukraa L., Sulaiman S.A. (2009). Honey use in burn management: Potentials and limitations. ForschendeKomplementarmedizin, 17 (2): 74-80.

Boukraâ L., Sulaiman SA. (2009) Rdiscovering the antibiotics of the hive Recent Pat. Antiinfect. Drug Discov. 4(3):206-13.

Boulekbache L. (2005). Activités biologiques et caractérisation des polyphénols extraits d'une plante médicinale : Eucalyptus globulus. Mémoire de Magister, Université de Bejaia

Brehon, S., Giraud, C., Certain, A (2000). L'alcool dans les médicaments ; analyses des risques et de l'information des spécialités administrées par voie orale ou injectable. Journal de Pharmacie Clinique 1(19), 32 Pharmacothérapie.

Campos MG., Webby RF., Markham KR., Mitchell KA. Da Cunha AP. (2003) Age-induced diminution of free radical scavenging capacity in bee pollens and the contribution of constituent flavonoids J. Agric. Food Chem. 51(3):742-745.

Challem, J (1995). Medical Journal Document Value of Bee Propolis, Honey and RoyalJelly. The nutrition reporter.

Cho S H, Kang SE, Cho J , Kim A, Park S, Hong Y et Ahn D. (2007). The antioxidant properties of brown seaweed (Sargassumsiliquastrum) extracts. Journal of Medecinal Food. 10suppl 3: 479-485.

Choi YM, Noh DO, Cho SY, et al. (2006) Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. LWT 39: 756-61.

Clément, H., Conte, Y. L., Barbancon, J.-M., Vaissière, B. & Collectif. Le traité rusticae la culture. (Rustica éditions, 2011).

Cortopassi-Laurino, M. et Gelli, D.S. (1991). Analyse pollinique, propriétés physico-chimiques et action antibactérienne des miels d'abeilles africanisées Apis mellifera et de Méliponinés du Brésil. Apidologie, p : 22, 61-73.

Références bibliographique

Cunha I.B.S., Sawaya ACHF., Caetano F.M., Shimizu M.T., Marcucci M.C., Drezza F.T., Povia G.S., Carvalho P.O. (2004). Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *J BrazChem Soc.*, 15(6):964-970.

Danert F.C., Zampini C., Ordoñez R., Maldonado L., Bedascarrasbure E., Isla M.I. (2014). Nutritional and functional properties of aqueous and hydroalcoholic extracts from argentineanpropolis. *Natural Product Communications*, p : 9, 167-170.

Darrigol J-L. *Le miel pour votre santé*, Saint Jean De Braye, Editions Dangles, 1979, 140p.

Delopouille, AS. Propolis. [en ligne]. [Consulté le 2 juin 2014]. Disponible à

l'adresse : <http://www.pharmaciedelepouille.com/propolis.htm>.

Domerego R., Imbert G., Blanchard C. (2009) *Les remèdes de la ruche* Editions Alpens, Monaco, 95p

Donadieu Y. *La propolis thérapeutique naturelle*, 4° Edition, Paris, Maloinedit., 1993, 61p.

Donadieu. Et Raynal.(2006). *Composition moyenne de la propolis*.

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

Donadieu Y. (2008). « *Ma pharmacie naturelle* »/Mai 2010/AFFSSA lien : <http://www.afssa.fr/index.htm> /Revue phytothérapie article 2008 Dr Descottes).

Drago, L., Mombelli, B. D. E., Vacchi, E., Fassina, M. C, Tocalli, L., Gismondo, M. R (2000). In vitro antimicrobial activity of propolis dry extract. *J. Chemother* 12 (5), 390.5

Farnesi A.P., Aquino-Ferreira R., De Jong D., Bastos J.K., Soares A.E.E. (2009). Effects of stingless bee and honey beepropolis on four species of bacteria. *Genetics Molecular Research*, 8:635-640.

FATRCOVÁ-ŠRAMKOVÁ, Katarina, NŮŽKOVÁ, Janka, KAČÁNIOVÁ, Miroslava, MÁRIÁSSYOVÁ, Magda, ROVNÁ, Katarina et STRIČÍK, Michal.(2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of environmental science and health. Part. B, Pesticides, food contaminants, and agricultural wastes.* pp. 133-138.

Références bibliographique

FERREIRA JUNIOR, Rui S, SCIANI, Juliana M, MARQUES-PORTO, Rafael, JUNIOR, (2010). Airton Lourenço, ORSI, Ricardo de O, BARRAVIERA, Benedito et PIMENTA, Daniel C. Africanized honey bee (*Apis mellifera*) venom profiling: Seasonal variation of melittin and phospholipase A (2) levels. *Toxicon: Official Journal of the International Society on Toxinology*.

Fujiwara S. et al. A., (1990). potent antibacterial protein in royal jelly. Purification and determination of the primary structure of royalisin, *J BiolChem*,

Ghedira K., Goetz P., Lejeune R. Propolis. *Phytothérapie Springer*, April 2009, Volume 7, p 100-105.

Ghisalberti, E. L (1979). Propolis a review. *Bee Wold* 60, 59-84.

Gómez-Caravaca A.M., Gómez-Romero M., Arráez-Román D., Segura-Carretero A., Fernández-Gutiérrez A. (2006). Advances in the analysis of phenolic compounds in products derived from bees. *J. Pharmac. Bio. Anal.*, 41:1220-34.

Isla M.I., Dantur Y., Zampini I.C., Salas A., Danert C., Arias M., Ordoñez R.M., Maldonado L., Bedascarrabure E., Nieva Moreno M.I. (2012a). Effect of seasonality on antimicrobial activity of San Juan (Argentina) propolis. Development of topical functionalized formulation. *Natural ProductN Communications*, p : 1315-1318.

Isla M.I., Nieva Moreno M.I., Zampini I.C., Solórzano E., Danert F., Vera N., Sayago J.E., Bedascarrabure E., Maldonado L., Ordoñez R.M. (2012b). Argentine propolis: Its flavonoid and chalcone content and its relation with the functional properties. In: Farooqui T, Farooqui A (eds.) *Beneficial effects of propolis on human health and chronic diseases*, 8: 161-169.

Jean-Prost, P. & Le Conte, Y. (2005). Pollen, cire, venin, propolis, hydromel, etc. In : *Apiculture : connaitre l'abeille, Conduire le rucher*. Ed. Tec et doc, Lavoisier .p : 425-455.

Karabay-Yavasoglu NU, Sukatar A, Ozdemir G et Horzum Z. (2007). Antimicrobial Activity of volatile components and various extracts of the red aglaJaniarubens. *Phytotherapie research*. P:153-156.

Kim Y.H., Chung H.J. (2011). The effect of Korean propolis against foodborne pathogens and transmission electron microscopic examination. *New biotechnology*, 28:713-718.

Références bibliographique

Klinghard. The Treatment of Lyme Disease with Bee Venom. [en ligne]. [Consulté le 21 octobre 2013]. Disponible à l'adresse : <http://www.klinghardtacademy.com/Protocols/The-Treatment-of-Lyme-Disease-with-Bee-Venom.html>.

Krell, R (1996). Value Added products from beekeeping. FAO Agricultural services. Bulletin n0 124.

Kumazawa, S., Hamasaka, T. et Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry*, 84: 329-339.

Kumazawa S., Nakamura J., Murase M., Miyagawa M., Ahn M.R., Fukumoto S. (2008). Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95: 781-786.

Lavie P. (1960). Thèse du professeur Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*Apis Mellifica* L.) 1960.

Lavie, P (1975). La propolis. Edition: Apimondia. Bucharest.

Lavoine N, Desloges I, Dufresne L et Bras J. (2012). Microfibrillated cellulose – Its barrier properties and applications in cellulosic materials: A review. *Carbohydr. Polym.* 90, 735–764.

Lazarev. V N, SHKARUPETA, M M, TITOVA, G A, KOSTRJKOVA, E S, AKOPIAN, T A et GOVORUN, V M. (2005). Effect of induced expression of an antimicrobial peptide melittin on *Chlamydia trachomatis* and *Mycoplasma hominis* infections in vivo. *Biochemical and Biophysical Research Communications.*, pp. 946-950.

Lewus, CB., Sun. S et Montville, TJ. (1992), Production of an Amylase-Sensitive Bacteriocin by Atypical *Leuconostoc parmesenteroides* Strain. New Jersey. *Applied and Environmental Microbiology*, p.143-149.

Leclerc H., Izard D., Husson O., Watre P. et Jakubezak. (1983). Agents antimicrobiens. In: *Microbiologie générale*, 267-320.

Lintermans R., (2011). Société royale d'apiculture de Bruxelles et ses environs (SRAB) a. s. b. l p : 4

Références bibliographique

- Lubke, L L et GARON, C F. (1997). The antimicrobial agent melittin exhibits powerful in vitro inhibitory effects on the Lyme disease spirochete. *Clinical Infectious Diseases: An Official Publication of the Infectious Diseases Society of America.*, pp. S48-51.
- Marcucci, M.C. (1999). Propolis : Chemical composition, biological properties and therapeutic activité. *Apidologie*, 26 : 83-99.
- Marcucci MC. Et al. (2001). Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmacological activities *J. Ethnopharmacol.* p :105-112.
- Meda, A. (2005). Utilisations thérapeutiques des produits de la ruche, étude phytochimique et activité biologique des miels du Burkina Faso. Thèse de doctorat, Université de Ouagadougou, Burkina Faso, 139.
- Medana C., Carbone F., Aigotti R., Appendino G., Baiocchi C. (2008). Selective analysis of phenolic compounds in propolis by HPLCMS/MS. *Phytochem Anal*, 19(1):32–39.
- Mohammadzadeh, S., Sharriatpanahi, M., Hamedi, M., Amanzadeh, Y., Ebrahimi, S.E.S. & Ostad, SN. (2007). Antioxidant power of Iranian propolis extract. *Food Chemistry*, 103: 729-733.
- Moroh, j.-l. A., Bahi, C., Dje, K., Loukou, Y. G., (2008) Guede-Guina, F. Study of the antibacterial activity of *Morindamorindoides* (Baker) *milne-redheat* (rubiaceae) acetatic extract (ACE) on in-vitro growth of *Escherichia coli* strains. *Bulletin de la Société Royale des Sciences de Liège*,; Vol. 77, p. 44 - 61.
- Najahi.; Fatmehvahdy.; Seyyedini.; Jomehzadeh. (2007). Effet of the water extracts of propolis on stimulation and inhibition of different cells *cytotechnologie* (2007) 54: 49-56
- Nakajima, Yoshimi, TSURUMA, Kazuhiro, SHIMAZAWA, Masamitsu, MISHIMA, Satoshi et HARA, Hideaki. Comparison of bee products based on assays of antioxidant capacities. *BMC Complementary and Alternative Medicine*. 2009. Vol. 9, pp. 4. DOI 10.1186/1472-6882-9-4. PMID: 19243635.
- National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2002). Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically, 5th edn. Approved Standard M7-A5. Wayne, PA: NCCLS. NCCLS 2002.

Références bibliographique

- Navrotescu, M.T. & Toma, O.C. (2005). Influence de la propolis sur la mitose dans le méristème de *Secale Cereale* L. *Genetică și Biologie Moleculară*, 5 : 51-52.
- Negri G., Marcucci M.C., Salatino A., Salatino M.L.F. (2000). Hydrocarbons and monoesters of propolis waxes from Brazil, *Apidologie*, 29:305-314.
- Oliveira AC, Shinobu CS, Longhini R, et al. (2006) Antifungal activity of propolis extract against yeasts isolated from onychomycosis lesions. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 101(5): 493-7.
- Paint et Metzner. (1979). On the anaesthetic action of propolis and some of its constitution.
- Park Y.K, Alencar S.M., Aguiar C.L. (2002). Botanical origin and chemical composition of Brazilian propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50: 2502-2506.
- Pascoal, Ananias, RODRIGUES, Sandra, TEIXEIRA, Alfredo, FEÁS, Xesus et ESTEVINHO, (2014). Leticia M. Biological activities of commercial bee pollens: antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*. pp. 233-239.
- Pieta, P.G., Gardana, C. & Pietta, A.M. (2002). Analytical methods for quality control of propolis. *Fitoterapia*, 73(1): 7-20.
- Popova M., Bankova V., Naydensky C.H. (2002). Comparative study of the biological activity of propolis from different geographic origin: a statistical approach. *Macedonian Pharm. Bull.*, 50:9-14.
- Ramanauskienė K., Inkėniene AM. (2011). Propolis oil extract: quality analysis and evaluation of its antimicrobial activity *Nat. Prod. Res.* Jun 30.
- Rani, A., Jain, S., Dureja, P., Kumar, R., Kumar, A. (2009). Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of environmentally safe potent antimicrobial agents. *World Applied Sciences Journal, (Special Issue for Environment)*:59-63.
- Ravazzi, G. (2003). Le miel: Abeilles et apiculture. Ed. VECCHI : 91-107
- Ravazzi, G. (2003). Les autres produits de la ruche. In : Abeilles et apiculture. Ed. VECCHI : 111-121

Références bibliographique

- Rhajaoui, M., Oumzil, H., Faid, M., Lyagoubi, M., Elyachioui, M (2001). Antibacterial activity of a Moroccan propolis extracts. *Sciences letters* 3 (3), 201-207.
- Shigenori K, Hamasaka T, Nakayama T (2004) Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. *Food Chemistry* 84: 329-39.
- Shimizu, A., Ashida, H., Mastuura, Y. & Kanazawa, (2004). Antioxidative bioavailability of artemisinin C in Brazilian propolis. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 424: 181-188.
- Solórzano E., Vera N., Cuello S., Ordoñez R., Zampini C., Maldonado L., Bedascarrasbure E., Isla M.I. (2012). Chalcones in bioactive Argentine propolis collected in arid environments. *Natural Product Communications*, p: 879-882.
- Sobocanec, Sandra, SVERKO, Visnja, BALOG, Tihomir, SARIĆ, Ana, RUSAK, Gordana, LIKIĆ, Sasa, KUSIĆ, Borka, KATALINIĆ, Visnja, RADIĆ, Sasa et MAROTTI, Tatjana. (2006). Oxidant/antioxidant properties of Croatian native propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. (18 octobre 2006). Vol. 54, n° 21, pp. 8018-8026.
- Szczésna, Teresa. (2007). Apitherapy News: Study on the Sugar Composition of Honeybee-Collected Pollen. *Journal of Apicultural Science*. pp. 15-22.
- Taormina, S. k., Niemira B.A., Beuchat, L.R. (2001). Inhibitory activity of honey against foodborne pathogens as influenced by the presence of hydrogen peroxide and level of antioxidant power. *Int J Food Microbiol*; 69: 217-225.
- Teixeira, E. W., Massag, D., Negri, G., Salatino, A. et Stringheta, P. C. (2008). Seasonal variation, chemical composition and antioxidant activity of Brazilian propolis samples. *Oxford Journals*, 177: 1-9
- Tegos G., Stermitz F.R., Lomovskaya O., Lewis K. (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrob Agents Chem.*, 46: 3133-3141.
- Tosi Enzo A.; Ciappini, Maria C. Cazzoli, Ampolio F. ; Tapiz, Luis M. (2006). Physico-chemical characteristics of propolis collected in Santa F (Argentina) *APIACTA* 41 (2006) page 110-120.

Références bibliographique

Trucheva B., Todorov I., Ninova M., Najdenski H., Daneshmand A., Bankova V. (2010). Antibacterial mono- and sesquiterpene esters of benzoic acids from Iranian propolis. *Chemistry Central journal*, 4:8.

Ugur A., Arslan T. (2004). An in vitro study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Med Food*, 7: 90-4.

Vera N., Solorzano E., Ordoñez R., Maldonado L., Bedascarrasbure E., Isla M. (2011). Chemical composition of Argentinean propolis collected in extreme regions and its relation with antimicrobial and antioxidant activities. *Nat. Prod. Commun.*, 6:823-827.

Yang, Kai, WU, Dan, YE, Xingqian, LIU, Donghong, CHEN, Jianchu et SUN, Peilong. (2013). Characterization of chemical composition of bee pollen in China. *Journal of agricultural and food chemistry*. pp. 708-718.

Résumé

Dans le présent travail, nous avons extrait des composés phénoliques de propolis en utilisant comme solvants d'extraction l'éthanol à 100% , 80% et 50% par macération. L'analyse des résultats montre que le rendement d'extraction le plus important est observé avec l'éthanol 50% avec un pourcentage de 65,5%. D'après les chromatogrammes réalisés, aucune activité antimicrobienne sur les deux souches à gram négatif à savoir : *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* ViM P510 n'a été observée. Une faible activité contre *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588. Par contre un effet antibactérien plus ou moins important, a été constaté sur les bactéries à Gram positif (*SARM RMA34* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633). La plus forte zone d'inhibition de 20.5 mm est obtenue avec l'extrait éthanolique de propolis 100% à la concentration de 50 mg/ml contre *Bacillus subtilis* ATCC 6633. L'extrait éthanolique à 50% est plus actif sur *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec une CMI égale à 1.25 mg/ml. Tous les extraits possèdent un effet bactériostatique sur *SARM RMA34*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588. On outre, on a fait une étude de la synergie entre les divers extraits éthanoliques de la propolis et une série d'antibiotiques. Les résultats de cette manipulation ont montré un effet synergique par une amélioration allant jusqu'à 12 mm est mise en évidence par l'extrait éthanolique de la propolis 50% en combinaison avec Erythromycine sur la souche *SARM RMA 34*. Alors qu'un effet contraire est obtenu avec l'extrait éthanolique de la propolis 50%, un antagonisme qui se traduit par le rétrécissement du diamètre d'inhibition de 10 mm associé à l'Erythromycine sur *A. baumannii* VEB- ATTCA 131107588.

Mots clés : composés phénoliques, propolis, bactéries pathogènes , activité antibactérienne.

Abstract

In the present work, phenolic compounds were extracted from propolis using 100% ethanol, 80% and 50% ethanol as the extraction solvent by maceration. Analysis of the results shows that the highest extraction yield is observed with 50% ethanol with a percentage of 65.5%. According to the chromatograms carried out, no antimicrobial activity on the two gram-negative strains namely: *Escherichia coli* 25922 and *Pseudomonas aeruginosa* ViM P510 was observed. Low activity against *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588. On the other hand, a more or less important antibacterial effect was observed on Gram-positive bacteria (*MRSA RMA34* and *Bacillus subtilis* ATCC 6633). The highest inhibition zone of 20.5 mm is obtained with the 100% propolis ethanol extract at a concentration of 50 mg / ml against *Bacillus subtilis* ATCC 6633. The 50% ethanolic extract is more active on *Bacillus subtilis* ATCC 6633 with a MIC equal to 1.25 mg / ml. All extracts have a bacteriostatic effect on *MRSA RMA34*, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 and *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588. In addition, a study was made of the synergy between the various ethanolic extracts of propolis and a series of antibiotics. The results of this manipulation showed a synergistic effect by an improvement of up to 12 mm is evidenced by the ethanol extract of 50% propolis in combination with Erythromycin on the strain *SARM RMA 34*. While a contrary effect is obtained with ethanol extract of propolis 50%, an antagonism which results in the narrowing of the inhibition diameter of 10 mm associated with Erythromycin on *A. baumannii* VEB-ATTCA 131107588.

Key words: phenolic compounds, propolis, pathogenic bacteria, antibacterial activity.

ملخص

في هذا العمل ، تم استخراج الفينولات من دنج باستخدام الإيثانول بنسبة 100 % ، 80 % و 50 % من الإيثانول مثل مذيب الاستخلاص عن طريق النقع. يظهر تحليل النتائج أن أعلى إنتاجية محسوبة تمت ملاحظتها بنسبة 65.5%. وفقاً من تجربة الأغواتوغرام ، لم يلاحظ أي نشاط مضاد للميكروبات على سلالتين غرام سلبية وهما: *Escherichia coli* 25922 و *Pseudomonas aeruginosa* ViM P510. انخفاض النشاط ضد *Acinetobacter baumannii* VEB 1-ATCC A131107588. من ناحية أخرى ، لوحظ تأثير مضاد للجراثيم أكثر أو أقل على البكتيريا موجبة الجرام (*MRSA RMA 34* و *Bacillus subtilis* ATCC 6633). يتم الحصول على أعلى منطقة تثبيط تبلغ 20.5 ملم باستخدام مستخرج الإيثانول 100% من البروبوليس بتركيز 50 ملجم / مل ضد العسوية الرفيعة *Bacillus subtilis* ATCC 6633. هو أكثر نشاطاً في العسوية الرفيعة *Bacillus subtilis* ATCC 6633 مع MIC من 1.25 ملجم / مل. جميع المستخلصات لها تأثير جراثيم على *MRSA RMA 34* و *Bacillus subtilis* ATCC 6633 و *Acinetobacter baumannii* VEB 1-ATCC A131107588. بالإضافة إلى ذلك ، تم إجراء دراسة عن التآزر بين مختلف المستخلصات الإيثانولية للدنج وسلسلة من المضادات الحيوية. أظهرت نتائج هذا التلاعب تأثيراً تآزرياً بتحسين يصل إلى 12 ملم ، ويتضح ذلك من مستخلص الإيثانول من دنج 50% بالاشتراك مع الاريتروميسين على السلالة *SARM RMA 34*. في حين يتم الحصول على تأثير معاكس مع مستخلص الإيثانول من دنج 50 % ، وهو التناقض الذي يؤدي إلى تضيق قطر تثبيط 10 ملم المرتبطة الاريتروميسين على *A. baumannii* VEB -ATTCA 131107588.

الكلمات الرئيسية : المركبات الفينولية ، دنج ، البكتيريا المسببة للأمراض ، والنشاط المضاد للبكتيريا