

**Ministère de l'enseignement Supérieur et de la recherche Scientifique**

Université Mouloud MAMMARI de Tizi-Ouzou

Faculté des Sciences Biologiques et des Sciences Agronomiques

Département de Biochimie et Microbiologie



*Mémoire de fin d'études*

**En vue d'obtention d'un diplôme de Master académique**

Filière : Biotechnologies

Spécialité : Biotechnologie microbienne

**Thème**

***Caractérisation de la teneur en polyphénols, activité antioxydante et antimicrobienne de la propolis d'origine algérienne***

**Réalisé par :**

M. OULD BOUALI Aziz

**Présenté devant le jury :**

**Président :** Mme OUALI-ABDOUNE S

MAA (UMMTO)

**Examineur :** Mr HARGAZ H

MAA (UMMTO)

**Promoteur :** Mr OULHADJ A

Professeur (UMMTO)

**Année universitaire : 2024/2025**

## **Remerciements**

*Je tiens à exprimer mes remerciements les plus sincères et les plus profonds à mon promoteur, le Pr Ouelhadj Akli, pour la confiance qu'il m'a témoignée tout au long de ce projet. Sa bienveillance constante et ses précieux conseils ont été d'une aide inestimable et ont grandement contribué à la réalisation de ce travail.*

*Je désire également adresser mes plus vifs remerciements aux membres du jury qui ont accepté de consacrer leur temps à l'évaluation de ce travail. Leur présence honore ce projet. Leurs remarques constructives et leurs suggestions avisées seront précieuses pour l'enrichissement de ce travail.*

*Enfin, je souhaite exprimer ma gratitude la plus profonde à toutes les personnes qui, de près ou de loin, m'ont accompagné tout au long de ce parcours. Leur aide précieuse, leur soutien indéfectible et leurs encouragements constants ont été d'un secours inestimable durant les moments exigeants de cette réalisation. Que chacune de ces personnes trouve ici l'expression de ma reconnaissance la plus chaleureuse et la plus sincère.*

## Dédicaces

*Je dédie ce modeste travail :*

*À mes chers parents,*

*Pour leur amour, leurs sacrifices et leurs prières qui m'ont guidé et soutenu tout au long de mon parcours. Rien de tout cela n'aurait été possible sans votre confiance et vos encouragements.*

*À mon frère Anis et ma sœur Nawel,*

*Pour leur affection, leur compréhension et leur présence réconfortante dans les moments difficiles. Vous êtes pour moi une véritable source de motivation.*

*À mes chers amis,*

*Pour leur soutien constant, leurs encouragements et les bons moments partagés qui ont rendu ce parcours plus léger et plus agréable.*

*À ma copine,*

*Pour son amour, sa patience et son encouragement indéfectible, même dans les moments de doute. Merci d'avoir cru en moi et d'avoir été à mes côtés.*

*À mes chers enseignants,*

*Pour leurs efforts, leur patience et le savoir qu'ils m'ont transmis tout au long de ma formation. Vous avez contribué à forger la personne et le futur professionnel que je deviens aujourd'hui.*

## Liste des abréviations

**CAPE** : Caffeic Acid Phenethyl Ester (ester phényléthylique de l'acide caféique).

**DL<sub>50</sub>** : La dose létale médiane.

**DO** : Densité optique.

**DPPH** : 2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle.

**GC/MS** : Chromatographie en phase gazeuse / spectrométrie de masse.

**CLSI** : Institue des normes cliniques et de laboratoire.

**HPLC** : Chromatographie liquide à haute performance.

**IL** : Interleukine.

**INOS** : Inductible Nitric Oxide Synthase.

**MAPK** : Protéine Kinase activée par les mitogènes.

**MH** : Muller Hinton.

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

**NOAEL** : No Observed Effect Level (Niveau sans effet indésirable observé)

**Th 1**: Lymphocytes T helper de type 1.

**Th 2**: Lymphocytes T helper de type 2.

## Liste des tableaux

<b>Tableau I</b> : Type de propolis.....	05
<b>Tableau II</b> : Souches bactériennes utilisées.....	23
<b>Tableau III</b> : Contenus des disques en papiers Wattman.....	25
<b>Tableau IV</b> : Echelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne.....	25
<b>Tableau V</b> : Teneur en polyphénols des trois échantillons de propolis étudiés en mg GAE/kg PF.....	26
<b>Tableau VI</b> : Teneur en flavonoïdes des trois échantillons de propolis étudiés en mg GAE/kg PF.....	28
<b>Tableau VII</b> : Résultats de l'activité anti-radicalaire des trois échantillons de la propolis étudiés.....	29
<b>Tableau VIII</b> : Diamètre des zones d'inhibition pour le témoin négatif (T-) et les témoins positifs (T+).....	31
<b>Tableau IX</b> : Diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque.....	32

## Liste des figures

<b>Figure 01</b> : Méthode de grattage manuel.....	07
<b>Figure 02</b> : Méthode de grilles en plastique.....	08
<b>Figure 03</b> : Composition de la propolis.....	11
<b>Figure 04</b> : Composition chimique de la propolis algérienne.....	14
<b>Figure 05</b> : Propolis de Tizi Ouzou et son extraction éthanolique.....	18
<b>Figure 06</b> : Propolis de Blida et son extraction éthanolique.....	19
<b>Figure 07</b> : Propolis d'Ain Defla et son extraction éthanolique.....	19
<b>Figure 08</b> : Diagramme du protocole suivi pour l'extraction éthanolique.....	21
<b>Figure 09</b> : Antibiogramme de la souche <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	33
<b>Figure 10</b> : Antibiogramme de la souche <i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC 27853.....	34
<b>Figure 11</b> : Antibiogramme de la souche <i>Bacillus cereus</i> ATCC 14579.....	34
<b>Figure 12</b> : Antibiogramme de souche <i>Escherichia coli</i> ATCC 25922.....	35

## Table des matières

<b>Remerciement</b>	
<b>Dédicaces</b>	
<b>Liste des abréviations</b>	
<b>Liste des figures</b>	
<b>Liste des tableaux</b>	
<b>Introduction .....</b>	<b>01</b>

### **Partie synthèse bibliographique**

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

<b>I.1. Définition et étymologie .....</b>	<b>03</b>
<b>I.2. Historique de la propolis .....</b>	<b>03</b>
<b>I.3. Origine de la propolis .....</b>	<b>03</b>
<b>I.4. Type de propolis .....</b>	<b>04</b>
<b>I.5. Récolte de la propolis .....</b>	<b>06</b>
I.5.1. Récolte par l'abeille .....	06
I.5.1.1. Condition de récolte .....	06
I.5.1.2. Procédé de récolte .....	07
I.5.2. Récolte de la propolis par l'apiculteur .....	07
<b>I.6. Utilisation de la propolis .....</b>	<b>08</b>
I.6.1. Par l'abeille .....	08
I.6.2. Par l'homme .....	09
<b>I.7. Conservation de la propolis .....</b>	<b>09</b>

#### **Chapitre II : Composition chimique de la propolis**

<b>I. Composition chimique de la propolis .....</b>	<b>10</b>
<b>II. Propriétés physique de la propolis .....</b>	<b>11</b>
II.1. Caractéristique organoleptique .....	11
II.2. Consistance .....	12
II.3. Solubilité .....	12
<b>III. Composition de la propolis algérienne .....</b>	<b>12</b>

## **Chapitre III : Activités biologiques de la propolis**

<b>I. Activité antioxydante</b> .....	<b>15</b>
<b>II. Activité antimicrobienne</b> .....	<b>15</b>
<b>III. Activité anti inflammatoire</b> .....	<b>15</b>
<b>IV. Activité anticancéreuse</b> .....	<b>16</b>
<b>V. Activité immunomodulatrice</b> .....	<b>16</b>
<b>VI. Activité antiviral</b> .....	<b>16</b>
<b>VII. Effets indésirables de la propolis</b> .....	<b>16</b>

## **Partie expérimentale**

### **Chapitre I : Matériels et méthodes**

<b>I. Matériels</b> .....	<b>18</b>
<b>I.1.Echantillon</b> .....	<b>18</b>
<b>I.2.Matériels</b> .....	<b>20</b>
<b>II. Méthodes</b> .....	<b>21</b>
<b>II.1. Extraction des composés phénoliques</b> .....	<b>21</b>
<b>II.2. Dosage des polyphénols totaux</b> .....	<b>21</b>
<b>II.3. Dosage des flavonoïdes</b> .....	<b>22</b>
<b>II.4. Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	<b>22</b>
<b>II.5. Analyse statistique</b> .....	<b>23</b>
<b>II.6. Analyse microbiologique</b> .....	<b>23</b>
<b>II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne</b> .....	<b>24</b>
<b>II.8. Préparation de la suspension bactérienne et standardisation</b> .....	<b>24</b>
<b>II.9. Réalisation d'antibiogramme</b> .....	<b>24</b>
<b>II.10. Lecture d'antibiogramme</b> .....	<b>25</b>

### **Chapitre II : Résultats et discussion**

<b>I. Analyses biochimiques de la propolis</b> .....	<b>26</b>
<b>I.1. Dosage des polyphénols</b> .....	<b>26</b>
<b>I.2. Dosage des flavonoïdes</b> .....	<b>27</b>
<b>I.3. Evaluation de l'activité antioxydante</b> .....	<b>29</b>

<b>II. Partie microbiologique</b> .....	<b>31</b>
II.1. Evaluation de l'activité antibactérienne .....	<b>31</b>
<b>Conclusion et perspectives</b> .....	<b>36</b>
<b>Références bibliographiques</b> .....	<b>37</b>
<b>Annexes</b> .....	<b>42</b>

## RÉSUMÉ

Dans cette étude, la teneur en composés phénoliques des trois échantillons de diverses régions d'Algérie, ainsi que leurs activités antioxydante et antibactérienne, ont été étudiées.

L'analyse quantitative des extraits éthanolique a révélé des résultats modérés en polyphénols totaux avec des teneurs de  $13618 \pm 0,13$ ,  $8691 \pm 0,10$  et  $9780 \pm 0,15$  mg EAG/kg PF pour les échantillons de propolis de Tizi Ouzou, Blida et Ain Defla respectivement. Tandis que les teneurs en flavonoïdes ont été de l'ordre de  $15050 \pm 0,23$ ,  $8020 \pm 0,09$  et  $9320 \pm 0,16$  mg EAG/kg PF.

L'évaluation de l'activité antioxydante a montré la forte capacité des extraits phénoliques à inhiber le radical DPPH avec des pourcentages  $86,25 \pm 0,38$  %,  $65,99 \pm 0,41$  % et  $79,23 \pm 0,21$  % pour les extraits de la propolis respectivement.

L'activité antibactérienne des extraits phénoliques vis-à-vis les quatre souches bactériennes de référence a montré une activité sélective dont les inhibitions ont été observées sur les espèces Gram positifs (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), tandis qu'aucune inhibition n'a été détectée pour les Gram négatifs testés (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

**Mots clés :** Propolis, Polyphénols totaux, Flavonoïdes, Activité antioxydante, Activité antibactérienne.

## Abstract

The objective of this work is to evaluate the phenolic compound content of three propolis samples from different regions of Algeria, as well as their antioxidant and antibacterial activities.

Quantitative analysis of ethanolic extracts revealed moderate results in total polyphenols, with values of  $13,618 \pm 0.13$ ,  $8,691 \pm 0.10$ , and  $9,780 \pm 0.15$  mg GAE/kg DW for propolis samples from Tizi Ouzou, Blida, and Ain Defla, respectively. Flavonoid contents were found to be in the range of  $15,050 \pm 0.23$ ,  $8,020 \pm 0.09$ , and  $9,320 \pm 0.16$  mg QE/kg DW, respectively.

The evaluation of antioxidant activity showed the strong ability of phenolic extracts to inhibit the DPPH radical, with percentages of  $86.25 \pm 0.38$  %,  $65.99 \pm 0.41$  %, and  $79.23 \pm 0.21$  % for the respective propolis extracts.

The antibacterial activity of phenolic extracts against four bacterial strains demonstrated moderate activity against Gram-positive species (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*), while no activity was detected against the Gram-negative strains tested (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*).

**Keywords:** Propolis, Total polyphenols, Flavonoids, Antioxidant activity, Antibacterial activity.

# **Introduction**

La propolis, souvent désignée sous le nom de « colle d'abeilles », est une substance résineuse récoltée par *Apis mellifera* à partir des bourgeons, de l'écorce et des exsudats de diverses espèces végétales, puis mélangée à la cire et à des enzymes salivaires. Utilisée par les abeilles pour colmater les fissures de la ruche, renforcer la structure interne, assurer l'isolation thermique et assurer une désinfection naturelle grâce à ses propriétés antimicrobiennes, la propolis joue un rôle essentiel dans la survie et la santé de la colonie (*Bankova et al., 2016*). Cette résine complexe, dont la composition chimique varie en fonction de l'origine botanique et géographique, contient une richesse exceptionnelle en composés phénoliques, flavonoïdes, acides aromatiques et terpènes qui lui confèrent un large spectre d'activités biologiques (*Huang et al., 2014*).

Au cours des dernières décennies, l'intérêt scientifique pour la propolis s'est accru en raison de son potentiel thérapeutique. De nombreuses études ont démontré ses propriétés antioxydantes, antimicrobiennes, anti-inflammatoires, antivirales et même antitumorales (*Sforzin et al. 2017*). Ces activités biologiques sont majoritairement attribuées aux composés phénoliques, en particulier à l'ester phényléthylique de l'acide caféique (CAPE), reconnu pour son rôle immunomodulateur et anti-inflammatoire (*Oršolić et al. 2022*). Dans un contexte où la résistance bactérienne aux antibiotiques et le stress oxydatif lié aux maladies chroniques constituent des problèmes de santé publique majeurs, la propolis apparaît comme une source naturelle prometteuse pour le développement de nouvelles approches thérapeutiques et pharmaceutique.

Sur le plan analytique, l'évaluation de la qualité de la propolis repose souvent sur la quantification des polyphénols totaux par la méthode de Folin-Ciocalteu, l'identification de ses composés bioactifs par chromatographie en phase liquide à haute performance (HPLC) ou chromatographie gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (GC/MS), ainsi que sur l'étude de ses activités biologiques in vitro. Parmi les tests les plus courants, le test du radical libre DPPH est largement utilisé pour évaluer la capacité antioxydante, tandis que les activités antimicrobiennes sont généralement étudiées par la méthode de diffusion sur gélose et la mesure des zones d'inhibition (*Kujumgiev et al., 1999*).

Dans le cadre du présent travail, nous avons étudié des échantillons de propolis collectés dans [Tizi Ouzou, Blida et Ain Defla], afin d'évaluer :

1. La teneur en polyphénols totaux et flavonoïdes.
2. L'activité antioxydante, déterminée par le test DPPH.
3. L'activité antibactérienne.

Ce travail vise ainsi à caractériser la propolis d'origine algérienne dans le but sa valorisation potentiel dans le domaine de santé, cosmétique et de la technologie alimentaire.

# **Synthèse bibliographique**

# **Chapitre I**

## **Généralités sur la propolis**

## **I.1. Définition et étymologie**

La propolis est une substance résineuse récoltée par l'abeille *Apis mellifera* à partir de diverses sources végétales (*Felix Zuhlendri et al.2022*). Ce mélange complexe est utilisé pour assurer la défense et l'intégrité de la ruche. Les abeilles l'emploient notamment pour colmater les cavités dans les parois, réduire l'entrée de la ruche lors des périodes froides, et momifier les intrus indésirables afin d'éviter leur décomposition à l'intérieur du nid. Grâce à ses propriétés physiques et biochimiques, la propolis joue un rôle essentiel dans la protection sanitaire de la colonie. Elle est d'ailleurs communément appelée « colle d'abeille » en raison de sa texture adhésive et de son usage dans la consolidation de la ruche (*Izabela Przybylek et al.2019*). Étymologiquement, le terme « propolis » provient du grec ancien *pro* signifiant « devant » et *polis* signifiant « cité » ou « ville », soulignant ainsi sa fonction de barrière protectrice à l'entrée de la ruche (*Laerte M Santos et al.2019*).

## **I.2. Historique de la propolis**

La propolis, utilisée depuis plus de 3 000 ans, a d'abord servi en Égypte antique pour l'embaumement grâce à ses propriétés antiseptiques (*De Almeida et al. 2002*). Elle a ensuite été reconnue par les Grecs, Romains et Hippocrate pour soigner les plaies. Malgré un déclin au Moyen Âge, elle est restée populaire en médecine traditionnelle, notamment en Europe de l'Est. Redécouverte à la Renaissance, elle a été largement utilisée au XIXe siècle, notamment pendant la guerre des Boers, pour ses vertus désinfectantes et cicatrisantes (*Lavie et al.1975*).

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

**Une origine interne :** Selon des chercheurs allemands, la propolis serait une substance résineuse issue de la première phase de digestion du pollen dans un organe spécifique situé entre le jabot et l'intestin moyen, désigné sous le nom de gésier à pollen. Cette matière est ensuite régurgitée par l'abeille et utilisée au sein de la ruche à des fins de consolidation et de revêtement, jouant le rôle de ciment ou de vernis. L'ensemble des cellules de la ruche, en particulier celles récemment édifiées, est imprégné de cette propolis endogène avant la ponte de la reine. La majeure partie de la propolis produite par les abeilles serait donc d'origine interne. Cette propolis se distingue aisément à l'observation microscopique par la présence de polis et de grains de pollen qu'elle renferme (*Bankova, 2005*)

**Une origine externe :** conditionne en grande partie la composition chimique de la propolis, laquelle varie selon la flore locale, la saison et les conditions géographiques. Par exemple, en zone tempérée, les principales sources végétales identifiées sont le peuplier (*Populus spp.*), le bouleau (*Betula spp.*), le saule (*Salix spp.*) et les conifères (*Pinus spp.*), alors que dans les régions tropicales, des espèces telles que *Baccharis dracunculifolia* (propolis verte du Brésil) ou *Clusia spp.* (Propolis rouge) prédominent (Bankova et al. 2019).

### **En Algérie**

Cette substance est principalement issue des exsudats résineux de diverses plantes méditerranéennes, telles que le peuplier noir (*Populus nigra*), le pin d'Alep (*Pinus halepensis*), le romarin (*Rosmarinus officinalis*), le chêne-liège (*Quercus suber*) et plusieurs espèces de thym et d'armoise (*Thymus spp.*, *Artemisia spp.*) (Bouterfas et al., 2010 ; Ghedadba et al., 2020). La richesse floristique de l'Algérie, notamment dans les zones montagneuses du nord (Kabylie, Aurès), confère à la propolis une composition chimique particulière, riche en flavonoïdes, acides phénoliques et composés volatils bioactifs. Ces caractéristiques varient selon la région de collecte, en raison de la diversité écologique et floristique du territoire (Ghedadba et al. 2020). La propolis algérienne suscite ainsi un intérêt croissant en raison de ses propriétés biologiques remarquables, notamment ses effets antimicrobiens, antioxydants et anti-inflammatoires.

### **I.4. Type de propolis**

La diversité des types de propolis dépend de plusieurs facteurs, notamment la localisation géographique de la colonie apicole, la composition floristique spécifique à cette région, la disponibilité saisonnière des ressources végétales, ainsi que l'espèce d'abeille impliquée dans la collecte des résines (Cardinault et al. 2012) (Tableau I)

**Tableau I :** Type de propolis (*Cardinault et al. 2012*).

Type de propolis	Origine géographique	Origine botanique	Principaux constituants
Peuplier Ambrée à brune	Europe, Amérique du Nord, régions non tropicales de l'Asie, Nouvelle-Zélande	Populus spp. et principalement P. nigra L.	Flavones, flavanones, acides phénols et ses esters et sesquiterpènes
Verte du Brésil	Zone tropicale du Brésil	Baccharis spp. principalement B. dracunculifolia DC	Derivés prénylés de l'acide coumarique Acides diterpéniques Lignanes
Bouleau	Nord de la Russie	Betula verrucosa	Flavones, flavonols, flavonones et sesquiterpènes
Propolis rouge	Cuba, Brésil, Mexique	Dalbergia ecastophyllum	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylées
Propolis rouge	Cuba, Venezuela	Clusia rosea	Isoflavones, isoflavanes, flavonoïdes et benzophénones isoprénylées
Méditerranéenne	Sicile, Grèce, Malte, Crête, Turquie	Famille des Cupressacea	Acides diterpéniques et principalement de type labdane
Pacifique	Zone pacifique (Taïwan, Okinawa, Indonésie)	Macaranga tanarius	Prényl-flavanones

## **I.5. Récolte de la propolis**

### **I.5.1. Récolte par l'abeille**

La récolte de la propolis est assurée par un type d'abeilles spécialisées appelées butineuses résinières, car elles ne participent généralement pas aux autres activités de la ruche (*debuysier, 1984 ; Simone-Finstrom et spivak, 2010*).

#### **I.5.1.1. Condition de récolte**

La récolte de la propolis est influencée par plusieurs facteurs

**L'âge de l'abeille :** l'âge des abeilles joue un rôle crucial dans cette activité. En effet, seules les butineuses âgées entre 15 et 25 jours sont capables de récolter efficacement les résines végétales, âge correspondant à une phase avancée de la vie ouvrière où les tâches extérieures remplacent progressivement les activités intra-ruches (*Debuysier, 1984 ; Seeley, 1982*). Ces abeilles ont acquis l'expérience nécessaire et disposent de la maturité physiologique pour manipuler des substances visqueuses comme la résine.

**La race :** constitue un déterminant génétique important. Certaines sous-espèces d'*Apis mellifera* ont une forte propension à produire et collecter la propolis, comme *Apis mellifera caucasica*, *Apis mellifera mellifera* ou encore *Apis mellifera carnica*, tandis que d'autres, comme *Apis mellifera ligustica* ou *Apis mellifera scutellata*, montrent une activité de propolisation nettement inférieure (*Simone-Finstrom et Spivak, 2010 ; Manrique et al. 2012*). Cette variabilité génétique a été confirmée dans des travaux de sélection visant à favoriser la production de propolis pour ses applications thérapeutiques.

**La saison et le climat :** les conditions climatiques et saisonnières influencent fortement la quantité de propolis collectée. Durant l'automne et à l'approche de l'hiver, les abeilles ont tendance à intensifier la collecte afin de renforcer la protection de la ruche contre les intrusions et le froid. À l'inverse, au printemps et en été, la priorité est souvent donnée au nectar et au pollen (*Ghisalberti, 1979 ; Bastos et al. 2011*). Les températures basses ralentissent aussi la manipulation des résines, qui deviennent plus dures et difficiles à travailler.

**Facteur géographique :** déterminent la nature chimique et la disponibilité des sources végétales de résine. Par exemple, en zone tempérée, les abeilles préfèrent les bourgeons de

peuplier noir (*Populus nigra*), tandis qu'en région tropicale ou méditerranéenne, elles exploitent des espèces locales comme *Baccharis dracunculifolia* au Brésil, *Dalbergia ecastaphyllum* ou encore des espèces de conifères (*Bankova et al. 2000 ; Salatino et al. 2005*).

#### **I.5.1.2. Procédé de récolte**

Le processus débute par la collecte de sources végétales contenant des exsudats résineux, comme les bourgeons de peuplier (*Populus spp.*), de bouleau (*Betula spp.*) ou de conifères. Après avoir repéré la source, l'abeille emploie ses mandibules pour prélever ces résines. À température ambiante, ces résines restent souples, ce qui en facilite la manipulation (*Bankova et al.2000*).

Par la suite, l'abeille transporte la résine vers ses pattes postérieures, appelées corbeilles à pollen, en utilisant ses pattes intermédiaires, de la même manière qu'elle manipule le pollen. Ce geste, assez lent, peut prendre plusieurs minutes par abeille (*Salatino et al. 2011*). Une fois les corbeilles remplies, l'abeille rejoint la ruche. Cependant, contrairement au pollen, elle n'est pas en mesure de décharger la résine elle-même. Ce sont alors d'autres ouvrières à l'intérieur de la ruche qui retirent la résine des pattes de l'abeille et l'étalent sur les zones désirées grâce à leurs mandibules (*Burdock, 1998*).

#### **I.5.2 Récolte de propolis par l'apiculteur**

La propolis est récoltée par l'homme selon deux manières

Traditionnellement, les apiculteurs récupéraient la propolis en grattant manuellement les éléments internes de la ruche (cadre, paroi, couvre-cadre), mais cette méthode est laborieuse, peu hygiénique, et peut introduire des débris de cire et du bois.



**Figure 01 : Méthode de grattage manuel.**

<https://www.bien-etre-au-naturel.fr/propolis-resine-bonne-sante/>

Actuellement, la méthode la plus répandue consiste à utiliser grilles en plastique souple ou rigide, perforées, que l'on place au-dessus des cadres de la ruche.



**Figure 02** : Méthode de grilles en plastique.

<http://vevebm.free.fr/Les%20pros/Apitherapie/propolis/propolis.html>

## **I.6. Utilisation de la propolis**

### **I.6.1. Par l'abeille**

La propolis joue un rôle essentiel dans le maintien de l'équilibre sanitaire et structurel de la colonie d'abeilles. Sa fonction première est le colmatage des fissures et l'isolation de la ruche, permettant de réduire les courants d'air et de maintenir une température interne stable autour de 34-35 °C, indispensable au développement du couvain (*Bankova et al. 2019*). Grâce à ses propriétés antimicrobiennes, elle contribue à la désinfection de l'habitat et à la protection contre de nombreux pathogènes, en réduisant la charge microbienne et en limitant la prolifération de bactéries, champignons et virus (*Cornara et al. 2017 ; Simone-Finstrom et Spivak, 2010*). Lorsqu'un intrus, tel qu'une souris ou un gros insecte, pénètre dans la ruche et ne peut être évacué, les abeilles l'enrobent entièrement de propolis, entraînant une véritable "momification" qui évite la putréfaction et la contamination de la colonie (*Bankova et al. 2019*). Enfin, la propolis renforce la structure interne de la ruche en fixant les rayons de cire aux parois, en lissant les surfaces internes et en créant un environnement hygiénique défavorable à l'adhésion des agents pathogènes (*Ghisalberti, 1979 ; Simone-Finstrom et Spivak, 2010*). Ainsi, la propolis constitue un élément clé de "l'immunité sociale" de l'abeille, en combinant fonctions mécaniques, thermorégulatrices et antimicrobiennes pour protéger la colonie.

## **I.6.2. Par l'homme**

La propolis, grâce à ses multiples propriétés biologiques, trouve des applications variées dans différents domaines. En cosmétique, elle est utilisée pour ses propriétés antibactériennes, cicatrisantes et antioxydantes, intégrée dans des crèmes, lotions et shampooings pour améliorer la santé de la peau et des cheveux (*Wagh, 2013*). En médecine, la propolis est employée pour ses effets antimicrobiens, anti-inflammatoires et immunomodulateurs, favorisant la cicatrisation des plaies, la réduction des inflammations buccales et le traitement de certaines affections dermatologiques (*Sforcin, 2016 ; Banskota et al. 2001*). Dans le domaine de la technologie alimentaire, elle est utilisée comme conservateur naturel ou additif fonctionnel pour ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, permettant d'allonger la durée de conservation des produits et d'améliorer leur valeur nutritionnelle (*Castaldo et Capasso, 2002*). Enfin, en pharmacie, la propolis est incorporée dans des formulations telles que pommades, gélules, sprays oraux ou compléments alimentaires pour exploiter ses effets thérapeutiques tout en offrant une alternative naturelle aux traitements classiques (*Bankova et al. 2019*). Ces applications illustrent la polyvalence de la propolis, faisant d'elle un produit précieux à la fois pour la santé, l'alimentation et le bien-être.

## **I.7. Conservation de la propolis**

La propolis constitue un produit librement conservable, quelle que soit sa forme. Néanmoins, il est recommandé de le maintenir dans des récipients hermétiques, à l'abri de la lumière, de l'humidité et des températures élevées. Afin de préserver l'ensemble de ses propriétés, il est conseillé d'utiliser la propolis dans un état de fraîcheur optimal.

La propolis présente certains intérêts sous forme lyophilisée, car ce procédé de conservation garantit, pendant une durée quasi illimitée, le maintien intégral de ses propriétés ainsi que de sa composition chimique. Une première méthode de lyophilisation, brevetée aux États-Unis, consiste en l'évaporation sous vide à basse température d'une solution hydroalcoolique de propolis.

Une seconde méthode, utilisée en Roumanie, consiste en une préparation préliminaire d'un extrait mou de propolis par dissolution dans de l'alcool éthylique. Cet extrait mou est ensuite solubilisé à l'aide d'un solvant contenant un groupe amino (amines organiques). La solution obtenue est filtrée afin d'éliminer les résidus de cire par précipitation. Par la suite, elle devient miscible avec l'eau, et cette solution aqueuse peut être soumise à la lyophilisation sous vide après congélation. (*philippe, 1994*).

## **I. Composition chimique de la propolis :**

La composition chimique de la propolis est hautement complexe et variable, dépendant notamment du lieu de collecte, des fluctuations saisonnières ainsi que des spécificités de la végétation locale. En effet, la propolis peut contenir jusqu'à trois cents composés différents, ce qui rend impossible l'établissement d'une composition chimique unique et standardisée (Darrigol JL .2017).

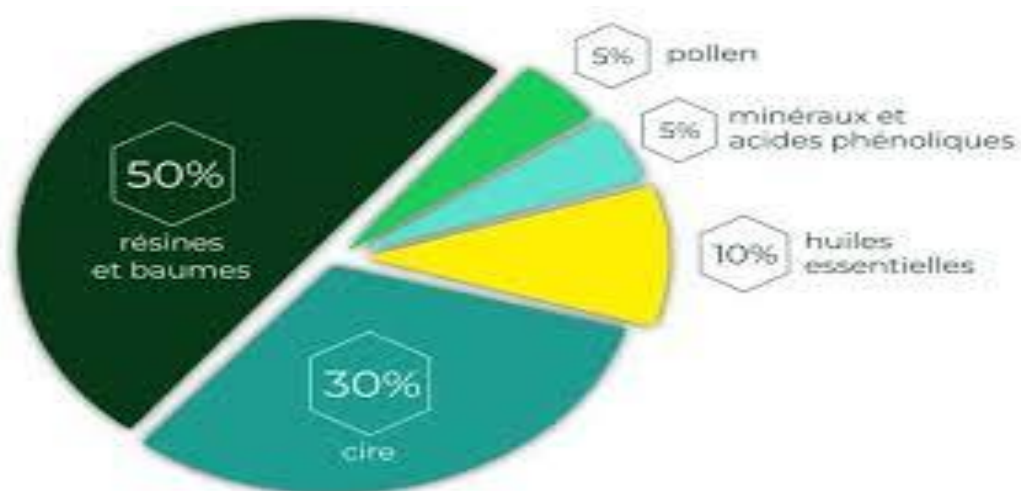
La littérature scientifique converge quant à la composition globale de la propolis avant tout processus de purification, laquelle se répartit approximativement en 50% de résines et baumes, 30% de cire, 10% d'huiles essentielles, ainsi qu'environ 5% de pollen et d'autres substances associées. Plus précisément, la propolis renferme une diversité complexe de composés chimiques, comprenant notamment des acides organiques, des acides phénoliques, des coumarines, des flavonoïdes, des composés terpéniques, des substances volatiles, des vitamines, ainsi que divers constituants tels que des fragments de tissus végétaux, des grains de pollen et d'autres matières organiques. Cette matrice biochimique, intégrant plus de trois cents molécules distinctes, varie toutefois en fonction de l'origine géographique, de la flore locale, de la saisonnalité et des espèces d'abeilles impliquées, ce qui complique l'élaboration d'une composition chimique standardisée et universelle.

Autrefois, les flavonoïdes et les composés phénoliques étaient considérés comme les principaux agents bioactifs de la propolis, indépendamment de son origine géographique.

La propolis contient également divers minéraux essentiels tels que le calcium, le chrome et le zinc. Toutefois, elle peut être sujette à la présence de contaminants, notamment lorsque l'environnement de prélèvement est affecté par la pollution. Dans ces conditions, il est possible de détecter dans la propolis des résidus de molécules chimiques telles que des pesticides, ainsi que des concentrations excessives de métaux lourds ou d'oligo-éléments, notamment le fer, le magnésium ou le plomb.

Ainsi, chaque type de propolis présente une composition propre, ce qui explique la diversité de ses propriétés pharmacologiques et biochimiques. Selon Antonio Salatino, la composition chimique de la propolis demeure relativement constante dans le temps. Cette stabilité remarquable serait attribuable à la forte inertie chimique des composés phénoliques ainsi qu'à celle de la cire produite par les abeilles (Darrigoll JL. 2017).

Parmi les composés fréquemment rapportés dans la littérature pour leurs nombreuses propriétés pharmacologiques, se distinguent notamment (CAPE) et l'artepilline C. La CAPE est généralement identifiée dans les propolis issues des régions tempérées, tandis que l'artepilline C'est caractéristique de la propolis vert. Ces deux molécules sont largement reconnues comme étant les principaux responsables des effets thérapeutiques attribués à la propolis (*Chan GCF et al.2013*).



**Figure 03 :** Composition de la propolis

<https://www.pollenergie.fr/>

## **II. Propriétés physique de la propolis**

### **II.1. Caractéristiques organoleptiques**

La propolis est collectée à partir d'une vaste diversité d'arbres et d'arbustes, chaque région géographique ainsi que chaque colonie apicole manifestant une préférence spécifique pour certaines sources résineuses. Cette variabilité dans l'origine botanique explique en grande partie la diversité observée au niveau de la coloration et du profil aromatique de la propolis. (*Krell ; 1996*). La coloration de la propolis présente une variation considérable, allant du brun-jaune au brun-vert, ainsi que du brun-rouge au rouge foncé, en fonction de son origine botanique et géographique. (*Tossi et al.2006*).La propolis se caractérise par une saveur fréquemment âcre, parfois amère. Son profil olfactif varie en fonction de son origine botanique et géographique ; en général, elle présente un arôme agréable et légèrement douceâtre, associé à des notes rappelant le miel, la cire ainsi que divers composés aromatiques tels que la cannelle ou la vanille. Lorsqu'elle est soumise à combustion, la propolis émet une

odeur d'encens délicate, attribuable à la présence de résines aromatiques spécifiques. (Alin, 1996)

## **II.2. Consistance**

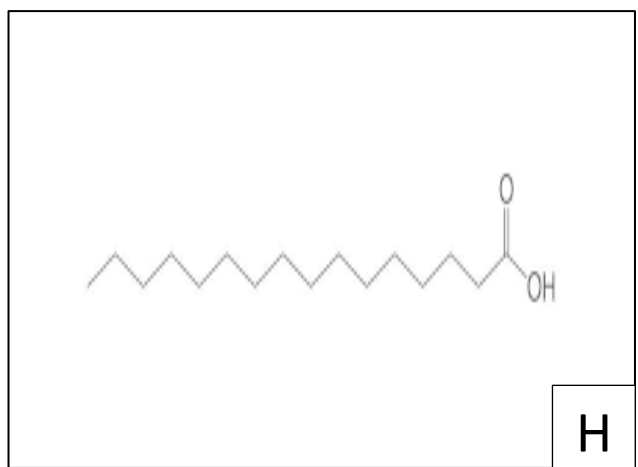
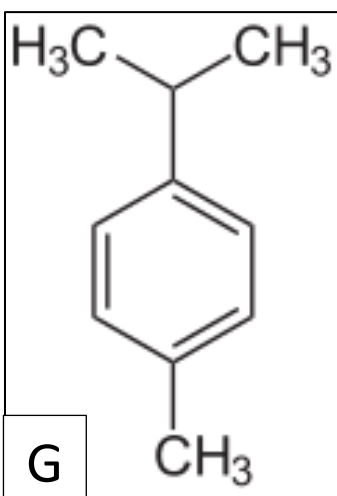
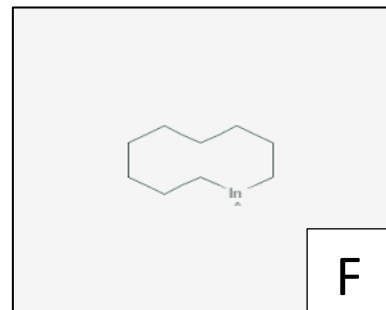
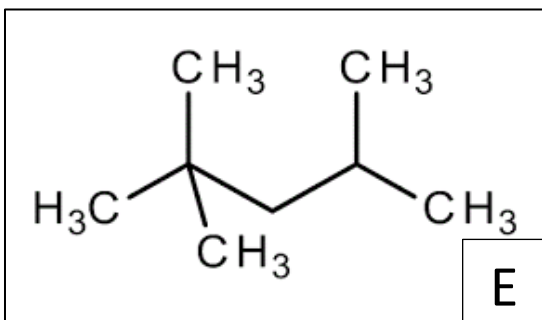
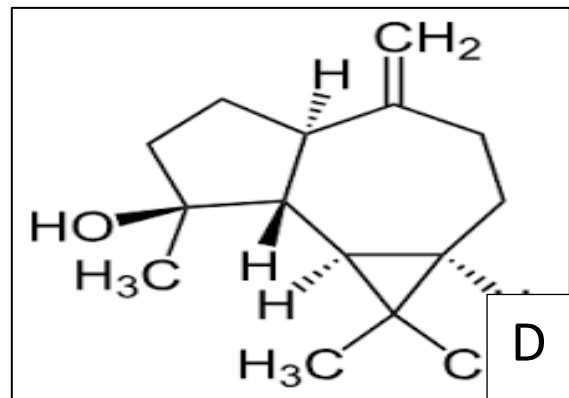
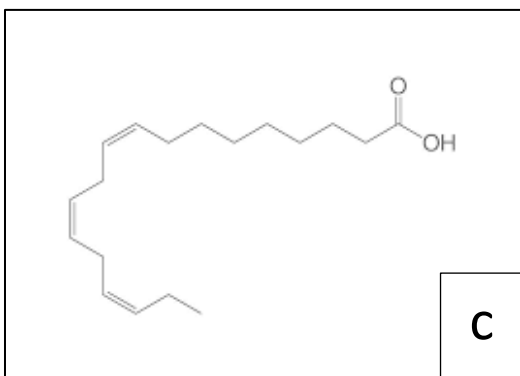
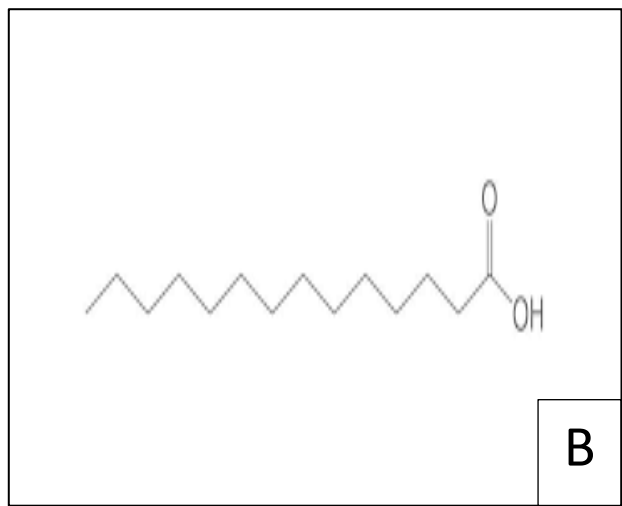
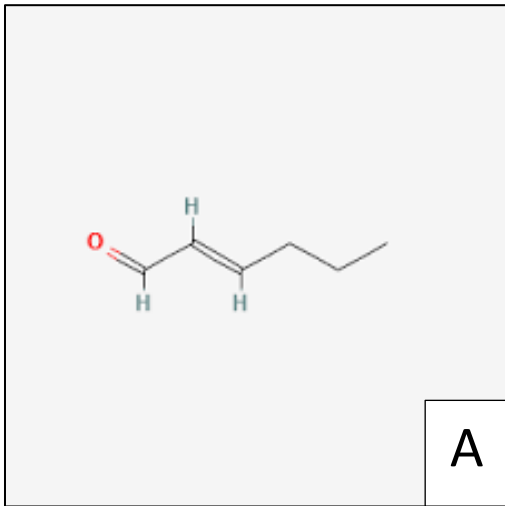
À des températures comprises entre 25 et 45 °C, la propolis se présente sous une forme molle, souple et fortement adhésive. En revanche, à des températures inférieures à 15 °C, particulièrement lorsqu'elle est congelée ou proche du point de congélation, elle devient rigide et fragile. Cette fragilité persiste même lorsque la température est ultérieurement augmentée. Au-delà de 45 °C, la propolis tend à adopter une consistance de plus en plus collante et gommeuse. En général, la transition à l'état liquide intervient entre 60 et 70 °C ; néanmoins, certains échantillons peuvent présenter un point de fusion s'étendant jusqu'à 100 °C. (Krell, 1996)

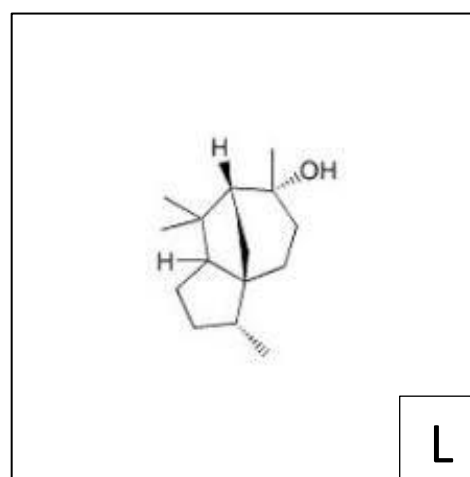
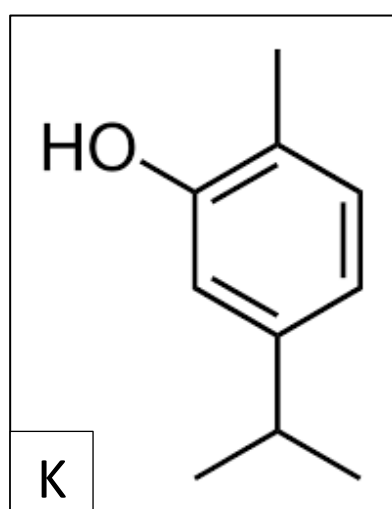
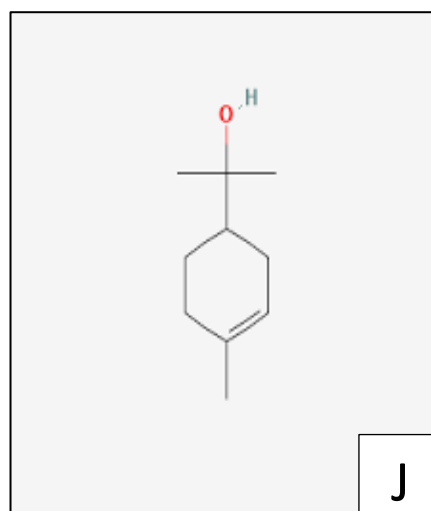
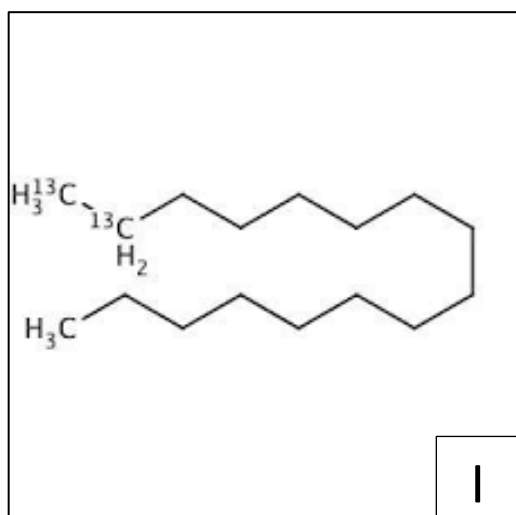
## **II.3. Solubilité**

Les solvants les plus fréquemment employés dans le cadre de l'extraction commerciale de la propolis incluent l'éther d'éthanol (alcool éthylique), le glycol ainsi que l'eau. Pour les analyses chimiques, une diversité étendue de solvants est mobilisée afin de permettre l'extraction ciblée des différentes fractions composées. Par ailleurs, il convient de souligner que de nombreux composés dotés de propriétés bactéricides présentent une solubilité notable dans l'eau ou l'alcool (krell, 1996). Seule une combinaison appropriée de différents solvants permet d'extraire presque l'intégralité des composants de la propolis. La fraction insoluble est constituée de tissus végétaux, de grains de pollen et de cire ainsi que de fragments de soie d'abeille. (Debuyser, 1984 ; Raoul, 1992).

## **III. Composition de la propolis algérienne**

Après l'analyse des échantillons de propolis collecté dans différentes régions d'Algérie, par GC/MS a révélé une composition distincte dominée par le 2-hexéanal, l'acide myristique l'acide linoléique, le spathuléol, l'isooctane, l'undécane, l'hexadécane, le p cymene, l'acide palmitique, le 4-terpénol, le carvacrol et l' $\alpha$ -cédrol. (S.El-Guendouz et al.2019)





**Figure 04** : Composition chimique de la propolis algérienne

- A) 2-hexénal ; B) Acide myristique ; C) Acide linoléique ; D) Spathuléol ; E) Isooctane ; F) Undécane ; G) Hédécane ; H) P cymene ; I) Acide palmitique ; J) 4-terpénol ; K) Carvacrol ; L)  $\alpha$ -cédrol

# **Chapitre III**

## **Activité biologique de la propolis**

## **I. Activité anti oxydante**

La propolis est une source naturelle de composés antioxydants puissants, tels que les flavonoïdes (quercétine, apigénine, chrysin), les acides phénoliques (acide férulique, acide caféïque) et leurs esters (comme le CAPE). Ces substances agissent comme des piègeurs de radicaux libres, inhibent la peroxydation lipidique et protègent les cellules du stress oxydatif (*Banskota et al. 2001 ; Ahn et al. 2007*). Les propriétés anti oxydantes de la propolis sont cruciales dans la prévention de nombreuses maladies dégénératives, y compris le cancer, le diabète, l'athérosclérose et les troubles neurodégénératifs (*Viuda-Martos et al. 2008 ; Bankova et al. 2018*).

## **II. Activité antimicrobienne**

La propolis est bien connue pour ses propriétés antimicrobiennes qui englobent des effets antibactériens, antifongiques et antiviraux. Plusieurs études ont montré que la propolis est plus efficace contre les bactéries à Gram positif, notamment *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus mutans* et *Bacillus subtilis*, en raison de la structure plus perméable de leur paroi cellulaire (*Kujumgiev et al. 1999 ; Sforzin, 2007*). Les flavonoïdes, tels que la galangine et la pinocembrine, sont impliqués dans l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne, la perturbation de la membrane cytoplasmique, et l'inactivation des enzymes cellulaires (*Drago et al. 2007 ; Seidel et al. 2008*). L'effet antifongique a été démontré contre *Candida albicans*, *Trichophyton mentagrophytes* et *Aspergillus Niger*. Ces effets sont liés à la capacité de la propolis à perturber les membranes fongiques riches en ergostérol (*Talas et al. 2014*).

## **III. Activité anti inflammatoire**

L'effet anti-inflammatoire de la propolis est principalement attribué à ses flavonoïdes et au CAPE, qui inhibent l'expression des enzymes inflammatoires comme la COX-2 (cyclooxygénase-2) et l'INOS, ainsi que la production de médiateurs pro-inflammatoires tels que TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  et IL-6 (*Szliszka et al. 2013 ; Orsolíc, 2010*). Le CAPE agit en bloquant la voie de signalisation NF-kB, un facteur de transcription clé impliqué dans la réponse inflammatoire et immunitaire. Cette activité rend la propolis pertinente pour le traitement des maladies inflammatoires chroniques telles que l'arthrite, l'asthme, la colite et la dermatite (*Mirzoeva et Calder, 1996 ; Ansorge et al. 2003*).

#### **IV. Activité anticancéreuse**

La propolis et plusieurs de ses constituants ont démontré une activité anticancéreuse significative dans des modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo*. Le CAPE, la chrysin, l'artépilline C et la galangine exercent des effets cytotoxiques sélectifs sur les cellules tumorales en induisant l'apoptose, en inhibant la prolifération cellulaire, et en altérant les voies de signalisation comme PI3K/Akt, MAPK et NF-KB (Orsolčić *et al.*, 2004 ; Chen *et al.*, 2004). L'inhibition de l'angiogenèse (formation de vaisseaux sanguins tumoraux) et la réduction de l'invasion et des métastases ont également été observées dans des modèles de cancer colorectal, mammaire, hépatique et de prostate (Watanabe *et al.*, 2011 ; Kurek-Górecka *et al.*, 2020).

#### **V. Activité immunomodulatrice**

La propolis possède une capacité à moduler la réponse immunitaire. Elle peut stimuler l'immunité innée en activant les macrophages, les cellules dendritiques et les lymphocytes NK, tout en renforçant la production d'immunoglobulines et de cytokines spécifiques (Sforzin, 2007 ; Missima *et al.*, 2008). Elle est également capable de moduler l'immunité adaptative, contribuant à la régulation de l'équilibre Th1/Th2. Cette propriété immunomodulatrice est particulièrement précieuse dans la prévention des infections et dans la gestion des maladies auto-immunes et inflammatoires (Búfalo *et al.* 2013)

#### **VI. Activité antiviral**

La propolis a démontré une activité antivirale contre plusieurs virus, y compris le virus de l'herpès simplex (HSV-1 et HSV-2), les virus de la grippe (Influenza A et B), le virus de l'hépatite B et récemment contre les coronavirus (Serkedjieva *et al.* 1992 ; Schnitzler *et al.* 2010). Les mécanismes incluent l'inhibition de l'attachement du virus à la cellule hôte, la suppression de la réplication virale, et la stimulation de l'immunité antivirale. L'activité synergique entre flavonoïdes et acides phénoliques explique cette efficacité antivirale naturelle.

#### **VII. Effets indésirables de la propolis**

La toxicité de la propolis est considérée comme très faible. Chez le rat, DL<sub>50</sub> d'un extrait concentré de propolis a été estimée à 15 g/kg de poids corporel. Un rapport de l'Agence française de sécurité sanitaire des aliments (Afssa, 2007-SA-0231) indique que la

dose sans effet indésirable observé (NOAEL) est de 1 400 mg/kg chez l'animal. Par ailleurs, une supplémentation orale de 1,95 g par jour pendant une durée de 30 jours n'a pas engendré d'effets indésirables chez l'être humain.

Il peut exister des cas d'allergies de contact, comprenant des dermatoses et des eczémas, ont été rapportés avec un allergène spécifiquement identifié : le 3,3-diméthylallyl caféate. Cet ester de l'acide caféique, constituant majeur de la propolis, est reconnu comme un puissant sensibilisateur cutané, induisant des réactions allergiques chez certains individus exposés (*Cardinault et al.2012*).

# **Partie expérimentale**

# **Chapitre I**

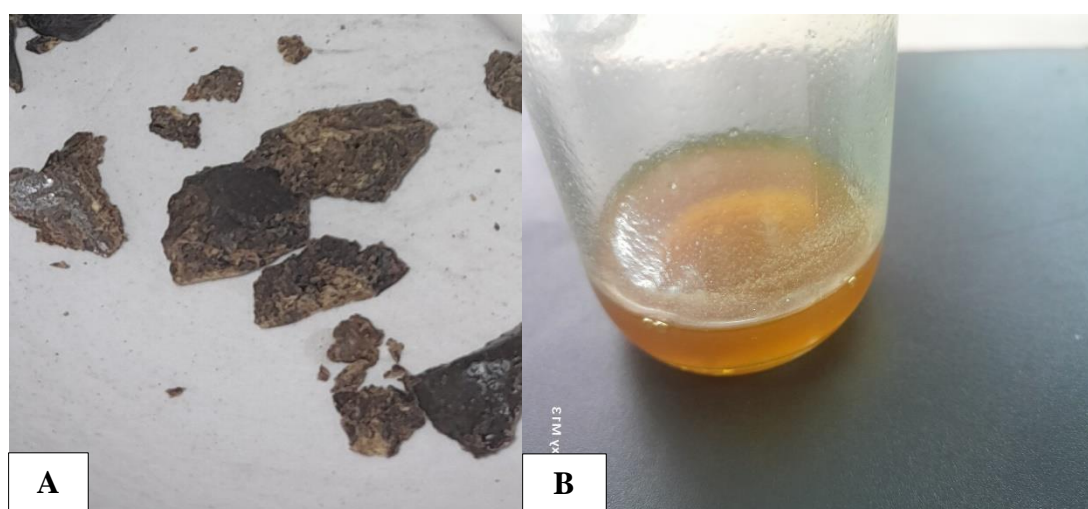
## **Matériel et méthodes**

Notre étude expérimentale a été réalisée au sein des laboratoires pédagogiques d'analyses physico-chimiques et microbiologiques de la Faculté des Sciences Biologiques et Agronomiques de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou (UMMTO), durant la période allant de mars à mai 2025.

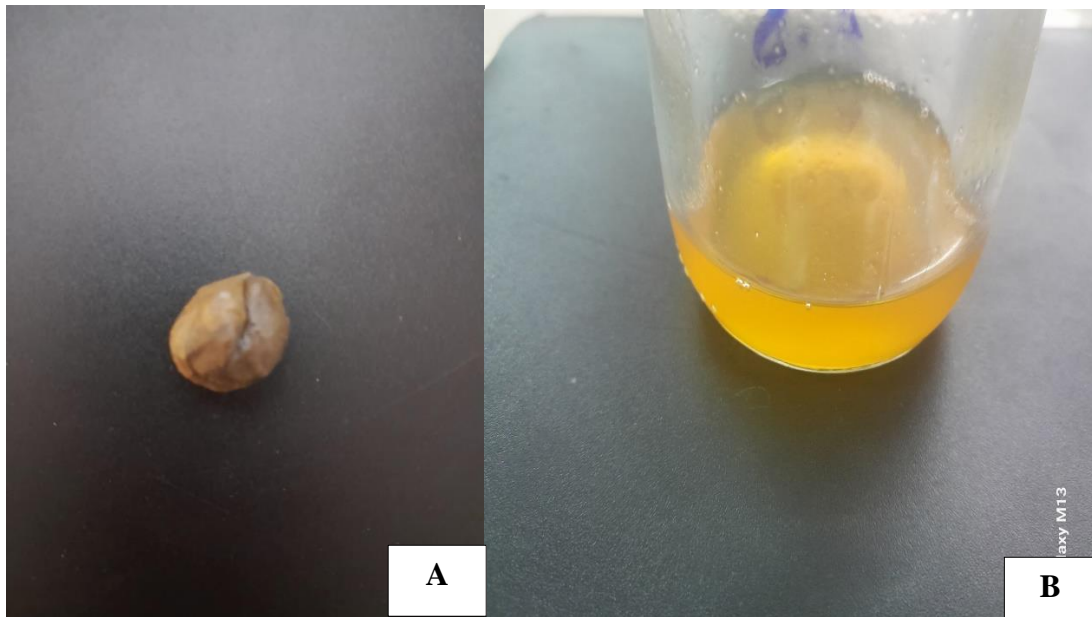
## **I. Matériels**

### **I.1. Echantillons**

Trois échantillons de propolis de différentes régions d'Algérie commercialisés ont été utilisés dans cette étude expérimentale.



**Figure 05 : A :** Echantillon 1 de propolis brute de Tizi Ouzou. **B :** extrait éthanolique d'échantillon 1



**Figure 06 : A :** Echantillon 2 de la propolis brute de Blida .**B :** extrait éthanolique d'échantillon 2



**Figure 07 : A :** Echantillon 3 de la propolis brute d'Ain Defla. **B :** extrait éthanolique de l'échantillon 3.

## **I.2.Matériel**

### **a/Appareillages**

- Agitateur magnétique.
- Spectrophotomètre UV-VIS.
- Centrifugeuse.
- Balance de précision.
- Bain marie.
- Agitateur vortex.
- Hotte chimique.
- Autoclave.
- Etuve microbiologique.
- Réfrigérateur.

### **b/Milieus de culture et réactifs**

#### **Réactifs**

- Eau distillé.
- Ethanol 96%.
- Folin-ciocalteu.
- Carbonate de sodium.
- Trichlorure d'aluminium.
- DPPH.
- Acide gallique.
- Quercétine.
- Disque d'antibiotique (Gentamicine ; Ampicilline ; Tétracycline).

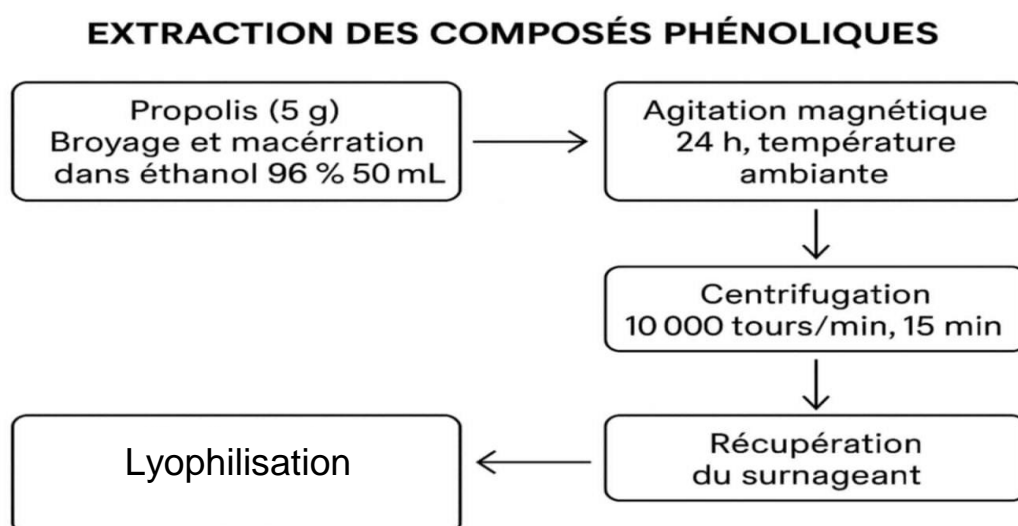
#### **Milieus de culture**

- Gélose MH.
- Gélose nutritive.

## II.Méthodes

### II.1.Extraction des composés phénoliques

La méthode décrite par *SHAHIN et al. (2011)*, a été utilisé pour l'extraction des composés phénoliques de la propolis avec quelques modifications. Une quantité de 5 g de la propolis a été broyé et macéré dans un volume de 50 ml d'éthanol 96 %, puis soumis à une agitation magnétique pendant 24 heures à température ambiante. Le mélange est ensuite séparé par centrifugation à 10000 Tours pendant 15 minutes puis obtenu puis récupérer le surnageant. Les extraits d'éthanol obtenus à la fin ont été stockés à 4°C jusqu'à l'utilisation ultérieure.



**Figure 08 :** Diagramme du protocole suivi pour l'extraction éthanolique.

### II.2. Dosage des polyphénols totaux

Le réactif de Folin-Ciocalteu est un mélange oxydant composé principalement de phosphomolybdate et de phosphotungstate. Il est largement utilisé pour estimer la teneur totale en composés phénoliques dans divers échantillons, notamment les aliments, les extraits végétaux et les matrices biologiques. La réaction repose sur le transfert d'électrons des groupes hydroxyles phénoliques vers les ions métalliques du réactif, entraînant une réduction qui produit une coloration bleue (*MARIA PEREZ et al. 2023*).

Le protocole utilisé est basé sur celui décrit par *SINGLETON et al. (1965)* en y apportant quelques modifications. Un volume de 1mL de Folin-Ciocaldeu (dilué à 1/10 avec l'eau distillé) a été ajouté à 0,1mL d'extrait dilué de propolis ( $10^{-2}$ ), puis laisser reposer 3min. Ensuite, 1,5mL de carbonate de sodium à 7,5%, ont été ajoutés au mélange. Enfin, 2,4mL d'eau distillé ont été ajoutés. Après incubation en obscurité pendant 90 min à température ambiante, l'absorbance a été mesurée à 765 nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS contre un blanc qui contient 0,1 ml d'éthanol, 1mL de Folin-Ciocalteu, 1,5mL de carbonate de sodium et 2,4 ml d'eau distillé. Deux essais ont été effectués pour chaque échantillon et les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique (GAE) par Kg de poids frais (mg GAE /Kg PF), en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax$ ) d'acide gallique de référence.

### **II.3. Dosage des flavonoïdes**

1ml d'extrait dilué (à une concentration de  $10^{-2}$ ) a été mélangé avec 1ml de trichlorure d'aluminium et 2 ml d'éthanol. Le mélange a ensuite été incubé pendant 30 minutes à température ambiante. Après incubation, l'absorbance a été mesurée à l'aide d'un spectrophotomètre UV-Vis à une longueur d'onde de 425nm. Un blanc a été préparé en utilisant 1ml de trichlorure d'aluminium et 3ml d'éthanol (*Chang et al. 2002*). Deux essais ont été effectués pour chaque échantillon. Les résultats ont été exprimés en milligrammes équivalent de quercétine (QE) par kilogramme de produit frais (mg QE/kg PF), en se basant sur une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax$ ) établie à partir de la quercétine de référence.

### **II.4. Evaluation de l'activité antioxydante**

Pour étudier l'activité antioxydant nous avons opté pour la méthode qui utilise DPPH qui est un radical libre relativement stable de couleur violet. Il se réduit en diphényl-picryl-hydrazine de couleur jaune en présence d'un antioxydant. Ce qui contribue à la diminution de l'absorbance du radical libre (*SANCHEZ-MORENO, 2002*).

Selon le protocole décrit par *MASOURI et al, 2005* avec quelque modification volume de 0,1ml de chaque extrait (dilué  $10^{-2}$ ) a été ajouté à 3,9ml de la solution éthanolique de DPPH (0,0024g/100ml).Après une incubation de 30min en obscurité et à température ambiante l'absorbance a été mesurée à 517nm à l'aide d'un spectrophotomètre UV-VIS ,et le contrôle qui a été préparé de la même façon sauf que l'extrait est remplacé par solvant

(éthanol ).Deux essais ont été effectués pour chaque échantillon, et l'activité anti radicalaire est estimée selon l'équation ci –dessous

$$\text{Activité anti radicalaire(\%)} = \{(\text{ABS contrôle} - \text{ABS échantillon}) / \text{ABS contrôle}\} \times 100$$

**ABS** : Absorbance.

**Nb** : En utilisant l'éthanol comme blanc.

## II.5. Analyse statistique

Les résultats sont présentés sous forme de moyenne  $\pm$  écart-type. Afin d'évaluer les différences entre les échantillons de propolis étudiés. Une analyse statistique a été réalisée à l'aide de logiciel R 4.3.2 comme suit :

Comparaison entre les échantillons 2 à 2 par le test de Student pour les analyses biochimiques de la propolis (dosage des polyphénols et flavonoïdes et l'activité antioxydante).

## II.6. Analyse microbiologique

L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de propolis a été menée sur quatre souches bactériennes de référence. Les tests ont été réalisés au sein du laboratoire pédagogique de microbiologie de l'Université Mouloud Mammeri de Tizi-Ouzou.

**Tableau II** : Souches bactériennes utilisées

<b>Espèce bactérienne</b>	<b>Gram</b>	<b>Référence</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	Gram positif	ATCC 25923
<i>Bacillus cereus</i>	Gram positif	ATCC 14579
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Gram négatif	ATCC 27853
<i>Escherichia coli</i>	Gram négatif	ATCC 25922

## **II.7. Evaluation de l'activité antibactérienne**

L'activité antibactérienne des extraits de propolis a été évaluée par la méthode de diffusion de disque sur le milieu gélose Muller Hinton décrit par *BESSAIBIS et al. (2009)*. Il s'agit de mesurer les zones d'inhibition qui peuvent apparaître sous l'effet des extraits éthanoliques sur les quatre souches bactériennes de références testées.

## **II.8. Préparation de la suspension bactérienne et standardisation**

Pour préparer une suspension bactérienne standardisée, une colonie fraîchement cultivée est prélevée à l'aide d'une anse stérile et transférée dans un tube contenant une solution saline stérile (NaCl 0,9 %) ou une solution de bouillon physiologique. Le mélange est ensuite homogénéisé par agitation douce ou vortex afin d'obtenir une suspension uniforme. La densité bactérienne est ajustée visuellement ou à l'aide d'un spectrophotomètre pour correspondre à une turbidité équivalente au standard de McFarland (correspond à  $10^8$  UFC/ml). Cette étape est cruciale pour garantir la reproductibilité des tests de sensibilité aux antibiotiques.

## **II.9. Réalisation d'antibiogramme**

La réalisation d'un antibiogramme commence par l'ensemencement d'une gélose Mueller-Hinton à l'aide d'un écouvillon stérile trempé dans une suspension bactérienne standardisée. Après avoir essoré l'écouvillon sur la paroi du tube pour éliminer l'excès de liquide, on répartit la suspension sur toute la surface de la gélose en effectuant des passages successifs : verticalement, horizontalement, puis en tournant la boîte d'un quart de tour, afin d'obtenir une culture homogène.

Le témoin : trois disques d'antibiotiques Gentamicine(CN), Ampicilline(AMP) et tétracycline(TE) (témoins positifs) et un disque imbibé avec 15µl de l'éthanol (témoin négatif) ont été déposés délicatement sur la gélose pré-inoculée à l'aide d'une pince stérile.

Les échantillons : trois disques du papier Wattman ont été déposés délicatement sur la gélose à l'aide d'une pince stérile, ensuite les disques ont été imbibés avec 15µl de l'extrait de propolis.

L'ensemble des boîtes ont été incubé immédiatement pendant 24 heures à 37°C.

**Tableau III :** Contenus des disques en papiers Wattman.

Numéro de disque	Echantillon
1	Extrait de propolis de Tizi Ouzou
2	Extrait de propolis de Blida
3	Extrait de propolis d'Ain Defla

## II.10. Lecture d'antibiogramme

La lecture d'un antibiogramme consiste à observer les zones d'inhibition autour des disques d'antibiotiques pour les témoins positifs et les disques de papier Wattman pour le témoin négatif et les extraits éthanolique.

Le diamètre de chaque zone d'inhibition est mesuré en millimètres en se référant à l'échelle de l'estimation de l'activité antibactérienne donné *Ponce et al.(2003)* présenté dans le tableau IV.

**Tableau IV :** Echelle de l'estimation de l'activité antimicrobienne (*Ponce et al.2003*)

Activité antimicrobienne	Degré de sensibilité	Diamètre de la zone d'inhibition
Extrêmement sensible	+++	> 20mm
Très sensible	++	15 à 19 mm
Sensible	+	8 à 14 mm
Non sensible	/	< 8mm

# **Chapitre II**

## **Résultats et Discussion**

## I. Analyses biochimiques de la propolis

### I.1. Dosage des polyphénols

Le dosage des polyphénols dans les extraits de propolis a été réalisé par la méthode du Folin-Ciocalteu de *Singleton et al.* (1965). Les résultats ont été exprimés en mg équivalent d'acide gallique (GAE) par kg de poids frais (mg GAE/kg PF) (Tableau V) en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire ( $y = ax$ ) d'acide gallique de référence (Annexe IV).

**Tableau V :** Teneur en polyphénols des trois échantillons de propolis étudiés en mg GAE/kg PF

		<b>Essai</b>	<b>DO</b>	<b>Moyenne</b>	<b>Teneur ±Ecart-type</b>
<b>Polyphénols totaux</b>  (mg GAE /kg PF (Poids frais))	<b>Echantillon 1</b>	<b>Essai 1</b>	0,461	0,464	13618± 0,13
		<b>Essai 2</b>	0,467		
	<b>Echantillon 2</b>	<b>Essai 1</b>	0,299	0,2965	8691±0,10
		<b>Essai 2</b>	0,294		
	<b>Echantillon 3</b>	<b>Essai 1</b>	0,330	0,3335	9780±0,15
		<b>Essai 2</b>	0,337		

L'analyse statistique des résultats obtenus pour le taux des polyphénols totaux montre que la différence existante entre les trois échantillons de propolis étudiés est statistiquement significative (p-value <0,05) (Annexe I).

L'analyse des polyphénols totaux dans les extraits éthanoliques (96 %) de propolis étudiés a révélé des valeurs comprises entre 8,69 et 13,62 mg équivalents acide gallique (EAG)/g de propolis brute, avec une moyenne d'environ 10,70 mg EAG/g et un écart-type global relativement faible (< 0,15 mg/g), traduisant une bonne répétabilité de la méthode. Rapportées à la propolis brute, ces teneurs correspondent à environ 10 700 mg EAG/kg PF.

Ces résultats indiquent une teneur modérée en polyphénols. La comparaison avec les travaux antérieurs montre que nos résultats se situent en deçà de ceux obtenus avec des extraits éthanoliques à 70–80 %, qui sont le choix le plus fréquent dans les études sur la propolis. *Soltani et al. (2021)* ont rapporté une teneur comprise entre 155 et 165 mg EAG/g pour une propolis de la région de Sétif, tandis que *Mouhoubi-Tafinine et al. (2016)* ont observé des valeurs variant entre 120 et 250 mg EAG/g selon l'origine géographique et la saison de collecte. Ces écarts importants peuvent être attribués à plusieurs facteurs : l'origine botanique et géographique de la propolis, la période de récolte, mais aussi les conditions expérimentales, notamment la nature du solvant d'extraction et les dilutions.

En effet, l'éthanol 70–80 % est généralement considéré comme le solvant optimal pour l'extraction des composés phénoliques grâce à sa polarité intermédiaire, qui permet d'extraire à la fois les composés hydrophiles et lipophiles (*Kumazawa et al., 2004; Bankova 2005*). L'utilisation d'éthanol à 96 %, comme dans notre étude, privilégie l'extraction de certains composés moins polaires mais peut limiter la solubilisation des polyphénols plus hydrophiles.

Il est toutefois important de noter que nos résultats demeurent supérieurs à ceux obtenus avec des extraits aqueux de propolis, qui varient généralement entre 3 et 6 mg EAG/g (*Djebli et al. 2021*). Cela confirme que même en utilisant de l'éthanol 96 %, la propolis étudiée conserve une teneur significative en polyphénols, traduisant la richesse chimique de ce produit de la ruche et son potentiel biologique.

## **I.2. Dosage des flavonoïdes**

La teneur en flavonoïde a été également estimée selon la méthode de trichlorure d'aluminium. Les résultats ont été exprimés en mg équivalent de la quercétine par kg de poids frais (mg QE/kg PF) (Tableau VI) en utilisant une courbe d'étalonnage linéaire ( $y=ax$ ) de la quercétine de référence (Annexe II).

**Tableau VI : Teneur en flavonoïdes des trois échantillons de propolis étudiés en mg GAE/kg PF**

		Essai	DO	Moyenne	Teneur ±Ecart-type
Flavonoïdes (mg QE/kg PF)	Echantillon 1	Essai 1	0,342	0,3445	15050±0,23
		Essai 2	0,347		
	Echantillon 2	Essai 1	0,186	0,1845	8020±0,09
		Essai 2	0,183		
	Echantillon 3	Essai 1	0,212	0,2145	9320±0,16
		Essai 2	0,217		

L'analyse statistique des résultats obtenus pour les flavonoïdes montre que la différence existante entre les trois échantillons de propolis de tables étudiés est statistiquement significative (p-value <0,05).

L'analyse des flavonoïdes totaux dans les extraits éthanoliques (96 %) de propolis étudiés a révélé des valeurs comprises entre 8,02 et 15,05 mg équivalents quercétine (EQ)/g de propolis brute, avec une moyenne de 10,79 mg EAG/g

Toutefois, nos résultats se situent dans une gamme modérée par rapport à certaines données de la littérature. (*Djehim et al. 2020*) ont rapporté des valeurs autour de 55,8 mg EQ/g d'extrait sec pour une propolis de la région de Sétif, tandis que (*Bendjedid et al. 2023*) ont observé des teneurs exceptionnellement élevées atteignant 1 870 mg EQ/g dans une propolis d'Annaba.

Il est important de souligner que nos valeurs demeurent supérieures à celles rapportées pour les extraits aqueux de propolis algérienne, généralement comprises entre 3,0 et 5,3 mg EQ/g (*Djebli et al. 2021*). Cela confirme que même avec un solvant fortement polaire comme l'éthanol 96 %, la propolis étudiée conserve une teneur significative en flavonoïdes et représente une source intéressante de biomolécules bioactives.

### I.3. Evaluation de l'activité antioxydante

L'activité antioxydante a été évaluée par la mesure du pouvoir de piégeage du radical DPPH par la méthode décrite par *Mansouri et al 2005*. les pourcentages d'inhibition du radical libre DPPH ont été calculés en utilisant la formule ci-dessus et les résultats obtenus sont montrés dans le tableau VII :

$$\text{Activité anti radicalaire (\%)} = [(AB-AA)] \times 100$$

Avec

**AB** : absorbance du contrôle (**DO=0,691**).

**AA** : absorbance de l'échantillon.

**Tableau VII** : Résultats de l'activité anti-radicalaire des trois échantillons de la propolis étudiés.

	Echantillon 1			Echantillon 2			Echantillon 3		
	DO	Activité anti-radicalaire%	Moyenne ±Ecart type	DO	Activité anti-radicalaire%	Moyenne ±Ecart type	DO	Activité anti-radicalaire%	Moyenne ±Ecart type
<b>Essai1</b>	0,093	86,54	86,25±0,38	0,237	65,70	65,99±0,41	0,142	79,45	79,23±0,21
<b>Essai2</b>	0,097	85,96		0,233	66,28		0,145	79,01	

L'analyse statistique des résultats de tableau ci-dessus montre une différence significative (p-value < 0,05) entre les trois échantillons de la propolis (Annexe III).

L'évaluation de l'activité antioxydant par la méthode du DPPH des extraits éthanoliques (96 %) de propolis a révélé des pourcentages d'inhibition allant de 65,99 ± 0,41 % (Échantillon 2) à 86,25 ± 0,38 % (Échantillon 1), avec une valeur intermédiaire de 79,23 ± 0,21 % pour l'échantillon 3. Ces résultats indiquent que l'échantillon 1 possède le pouvoir antioxydant le plus élevé, tandis que l'échantillon 2 est significativement moins actif. L'écart-type relativement faible pour chaque échantillon traduit une bonne reproductibilité des mesures.

Ces niveaux d'activité sont comparables à ceux rapportés pour des propolis algériennes dans la littérature. Par exemple, *Djeghim et al. (2020)* ont rapporté une inhibition de 83,2 % pour

une propolis de Sétif, tandis que *Bendjedid et al. (2023)* ont observé des activités supérieures à 90 % pour certaines propolis de l'Est algérien. Les valeurs légèrement plus faibles observées dans notre étude pourraient être attribuées à l'utilisation de l'éthanol 96 %, dont la polarité est plus faible que celle de l'éthanol 70–80 % classiquement recommandé pour maximiser l'extraction des composés phénoliques et flavonoïdiques (*Kumazawa et al., 2004 ; Bankova., 2005*).

Les différences observées entre les trois échantillons reflètent probablement l'influence de l'origine botanique et géographique de la propolis, qui conditionne fortement sa composition chimique et son activité biologique (*Bankova et al. 2019*). La forte activité de l'échantillon 1 pourrait indiquer une richesse particulière en composés antioxydants tels que les flavonoïdes et les acides phénoliques, comme le suggèrent également les teneurs plus élevées en polyphénols et flavonoïdes obtenues pour cet échantillon.

L'analyse globale des résultats obtenus dans ce travail montre une corrélation positive entre la teneur en composés phénoliques (polyphénols et flavonoïdes) et l'activité antioxydante mesurée par la méthode du DPPH. Les échantillons qui présentent les concentrations les plus élevées en polyphénols et flavonoïdes sont également ceux qui affichent les pourcentages d'inhibition les plus élevés. Cette observation est cohérente avec de nombreuses études ayant démontré que les composés phénoliques, en particulier les flavonoïdes, jouent un rôle central dans l'activité antioxydante de la propolis (*Kumazawa et al. 2004 ; Silva et al. 2006*).

La propolis est en effet connue pour être une source majeure de métabolites secondaires bioactifs, notamment les flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters. Ces molécules agissent comme piègeurs de radicaux libres, réduisant ainsi le stress oxydatif (*Bankova, 2005*). La concordance entre la richesse en polyphénols et la capacité antioxydante observée dans notre étude confirme que l'efficacité de la propolis dépend largement de sa composition phénolique.

Cependant, il convient de noter que l'activité antioxydante ne dépend pas uniquement de la teneur totale en polyphénols. D'autres composés, tels que les acides aromatiques, les terpènes ou encore certaines fractions lipophiles, peuvent contribuer de manière significative au pouvoir antioxydant global (*Popova et al. 2013*). De plus, la structure chimique des flavonoïdes (nombre et position des groupements hydroxyles) influence fortement leur activité radicalaire, ce qui pourrait expliquer certaines variations entre les échantillons présentant des teneurs similaires mais des activités légèrement différentes.

La comparaison avec les données de la littérature met également en évidence l'impact des conditions d'extraction. L'utilisation d'éthanol 96 % dans notre étude a permis d'obtenir des extraits relativement riches en composés résineux et certains flavonoïdes peu polaires, mais pourrait avoir limité l'extraction de certains polyphénols plus polaires, ce qui peut expliquer des valeurs modérées par rapport aux extraits obtenus avec de l'éthanol 70–80 % (Galeotti et al., 2018). Malgré cela, l'activité antioxydante demeure élevée, ce qui suggère que la fraction extraite est riche en molécules particulièrement actives biologiquement.

## II. Partie microbiologique

### II.1. Evaluation de l'activité antibactérienne

Les trois échantillons d'extraits (Tableau III) ont été testés sur quatre souches bactériennes de référence en utilisant la méthode de diffusion de disques sur le milieu Muller Hinton décrite par BESSAIBIS et al. (2009). Les diamètres des zones d'inhibition obtenus pour chaque échantillons d'extrait sont représenté dans le tableau IX, tandis que ceux des témoins sont représenté dans le tableau VIII.

Les résultats de tableau VIII montrent que l'éthanol n'exerce aucune activité inhibitrice sur les bactéries testées. En ce qui concerne les témoins positifs, les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont conformes aux diamètres critique des normes CLSI (Institute des normes cliniques et de laboratoire) (2024).

**Tableau VIII** : Diamètre des zones d'inhibition pour le témoin négatif (T-) et les témoins positifs (T+).

Souche bactérienne	T- (éthanol)	T+		
		Ampicilline(AMP)	Tétracycline(TE)	Gentamicine(CN)
<i>S.aureus ATCC 25923</i>	-	26 mm	22 mm	19,5 mm
<i>E.coli ATCC 25922</i>	-	12 mm	17 mm	16 mm
<i>P.aeruginosa ATCC 27853</i>	-	-	13 mm	13 mm
<i>B.cereus ATCC 14579</i>	-	8 mm	22 mm	15 mm

**NB.** (-) signifie pas de zone d'inhibition.

**NB.** Les diamètres des disques d'antibiotique sont inclus.

**Tableau IX** : Diamètre des zones d'inhibition autour de chaque disque

		Diamètre de la zone d'inhibition (mm)		Moyenne $\pm$ écart-type	Interprétation
		1 <sup>ère</sup> boîte	2 <sup>ème</sup> boîte		
<i>S.aureus</i>	ECH 1	13	15	14 $\pm$ 1,41	Sensible
	ECH 2	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 3	18	17	17,5 $\pm$ 2,12	Très sensible
<i>E.coli</i>	ECH 1	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 2	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 3	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
<i>B.cereus</i>	ECH 1	14	13	13,5 $\pm$ 0,71	Sensible
	ECH 2	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 3	19	18	18,5 $\pm$ 0,71	Très sensible
<i>P.aeruginosa</i>	ECH 1	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 2	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible
	ECH 3	6	6	6 $\pm$ 0	Non sensible

**NB.** Les diamètres des disques de papier Wattman sont incluse dans mesures.

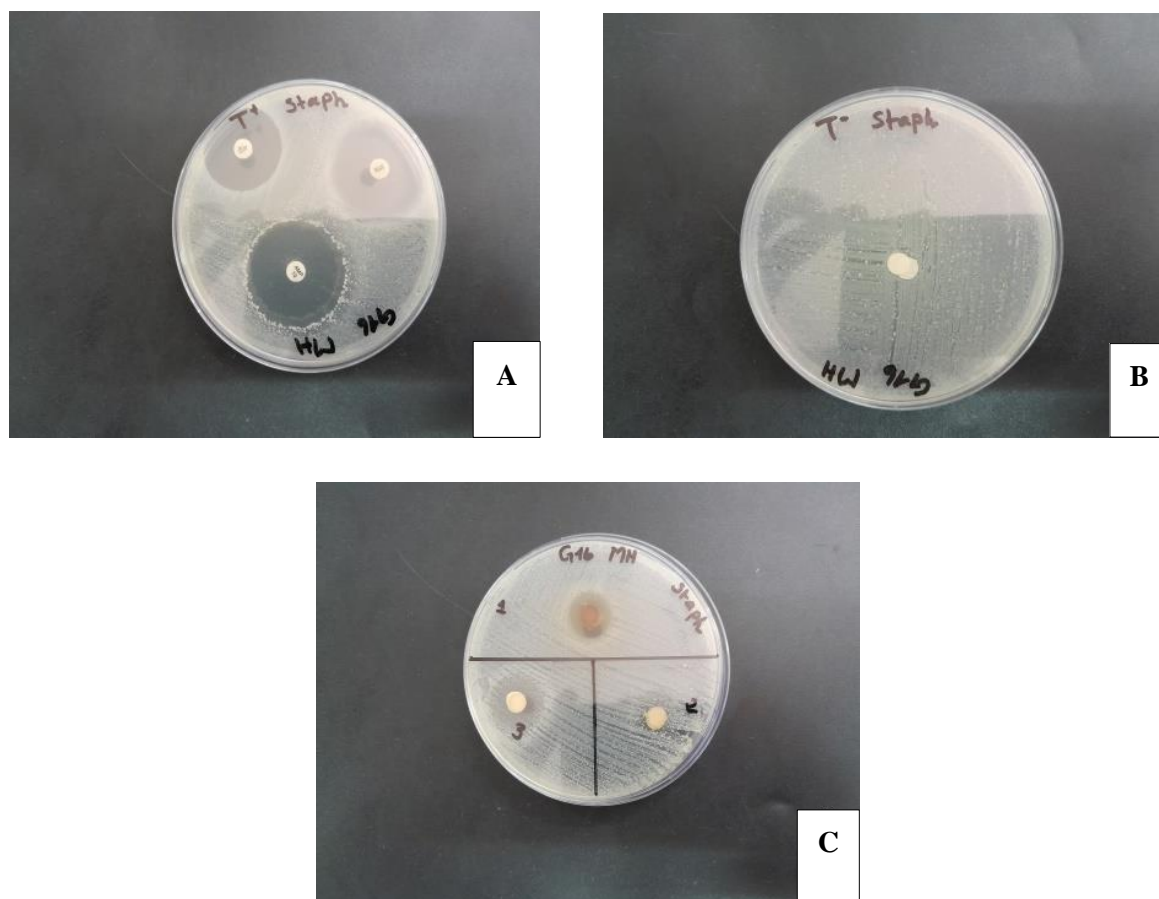
Les résultats de tableau montrent que *B.cereus* ATCC 14579 est la souche la plus sensible aux effets des extraits de propolis, suivie par *S.aureus* ATCC 25923, alors qu'*E.coli* ATCC 25922 et *Ps.aeruginosa* ATCC 27853 sont résistantes.

L'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis par diffusion sur disque a montré une activité sélective ; des inhibitions ont été observées sur espèces Gram-positives (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*), tandis qu'aucune inhibition n'a été détectée pour les Gram-négatifs testés (*Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*). Ce profil est cohérent avec de nombreuses études antérieures qui rapportent une meilleure sensibilité des bactéries Gram-positives aux extraits de propolis, attribuée à la différence de structure membranaire et à la présence, chez les Gram-négatifs, d'une membrane externe limitant la pénétration des composés phénoliques et flavonoïdes (*Bankova, 2005 ; Popova et al. 2013*).

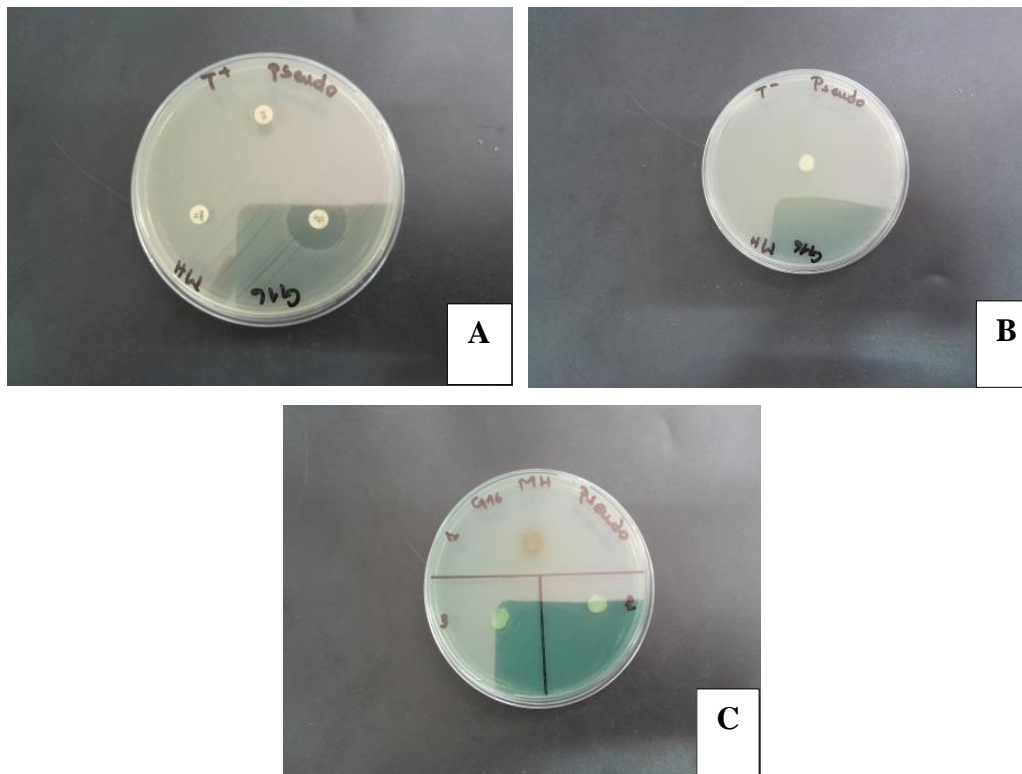
Les amplitudes des zones d'inhibition observées (par exemple *B.cereus* ECH 3 : 18,5 mm ; *S. aureus* ECH 3 : 16,5 mm) indiquent une activité antibactérienne significative pour ces souches et confirment le potentiel thérapeutique de certains extraits de propolis. Les

différences entre échantillons (absence d'activité pour ECH 2) peuvent s'expliquer par la variabilité botanique et chimique de la propolis (différentes résines collectées par les abeilles) (Bankova et al. 2019).

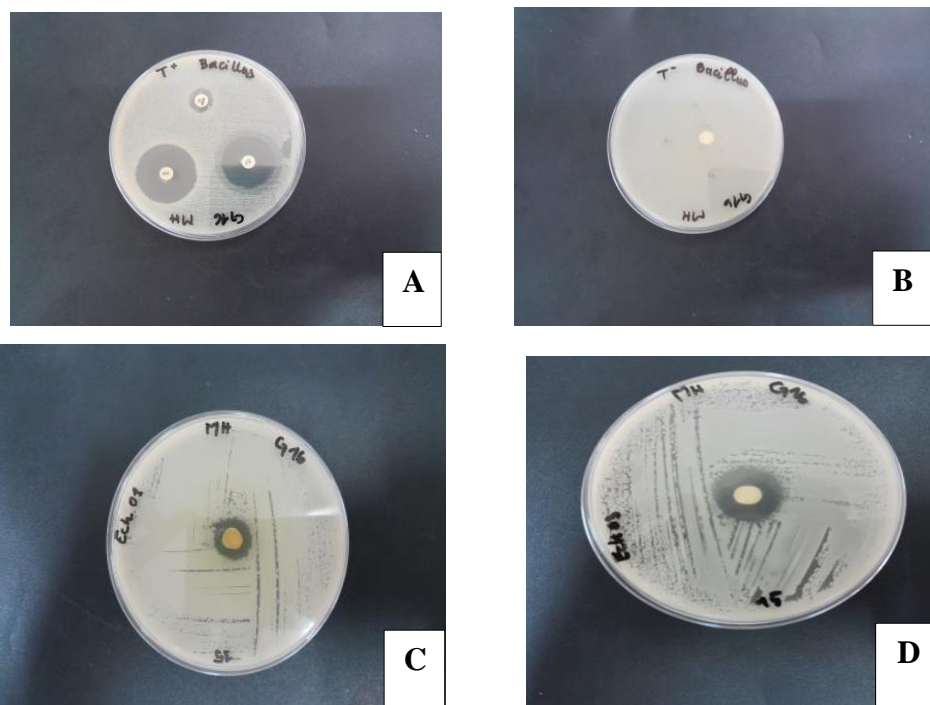
L'absence d'activité vis-à-vis certaines souches bactériennes, pourrait s'expliquer par la résistance développée par ces souches contre les molécules bioactives des extraits utilisés ou bien la concentration insuffisante de ces molécules (Galeotti et al.2018).



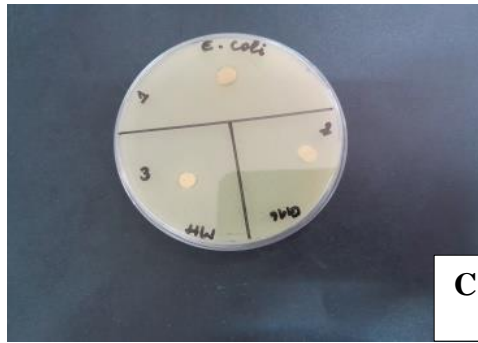
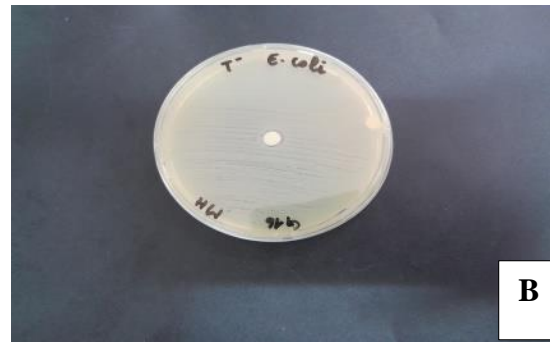
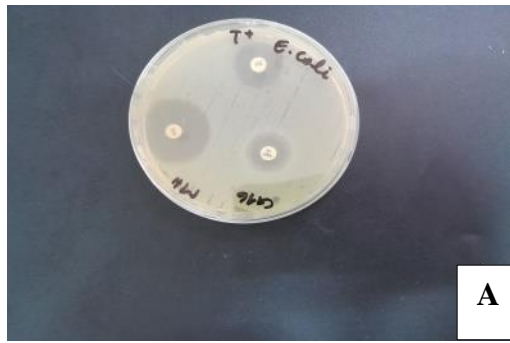
**Figure 09** : Antibiogramme de la souche *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sur gélose Muller Hinton. **A** : boîte de témoin(+). **B** : boîte de témoin (-). **C** : boîte des échantillons.



**Figure 10 :** Antibiogramme de la souche *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 sur gélose Muller Hinton. **A :** boîte témoin (+). **B :** boîte témoin (-). **C :** boîte des échantillons.



**Figure 11:** Antibiogramme de la souche *Bacillus cereus* ATCC 14579 sur gélose Muller Hinton. **A :** boîte de témoin (+). **B :** boîte de témoin (-). **C :** boîte d'échantillon 1. **D :** boîte d'échantillon 2



**Figure 12** : Antibiogramme de souche *Escherichia coli* ATCC 25922 sur gélose Muller Hinton.  
**A** : boîte de témoin (+). **B** : boîte de témoin (-). **C** : boîte des échantillons.

## **Conclusion et perspectives**

Les résultats obtenus ont montré que les teneurs en polyphénols totaux et en flavonoïdes variaient d'un échantillon à l'autre, traduisant la diversité chimique de la propolis liée à son origine botanique et géographique.

L'activité antioxydante mesurée par la méthode DPPH a révélé une relation avec la teneur en polyphénols et flavonoïdes, ceci montre le rôle majeur de ces composés dans la neutralisation des radicaux libres et la prévention du stress oxydatif.

L'évaluation de l'activité antibactérienne a montré une efficacité variable selon les souches testées (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* et *Pseudomonas aeruginosa*) et selon les échantillons. Les extraits se sont révélés plus actifs contre les bactéries Gram positives (notamment *Bacillus cereus* et *S. aureus*) que contre les Gram négatives, ce qui est en accord avec la littérature (*Silva et al. 2017 ; Sforcin, 2016*).

Ces résultats confirment l'intérêt de la propolis en tant que source naturelle de molécules bioactives, avec un potentiel d'application dans les domaines pharmaceutique, agroalimentaire et cosmétique.

Au vu des résultats obtenus, plusieurs perspectives peuvent être envisagées :

Approfondissement de l'étude chimique : identifier et quantifier individuellement les flavonoïdes et autres métabolites secondaires par HPLC afin de mieux comprendre les composés responsables des activités biologiques observées.

Optimisation des procédés d'extraction : comparer différents solvants et conditions d'extraction pour améliorer le rendement en composés bioactifs.

Élargissement du spectre biologique : tester l'effet de la propolis sur d'autres souches bactériennes, y compris des souches multi résistantes, et évaluer d'autres propriétés biologiques (anti-inflammatoire, antifongique, cicatrisante).

Études in vivo et formulation : valider les résultats par des modèles in vivo et envisager l'incorporation des extraits dans des formulations pharmaceutiques ou nutraceutiques.

Ainsi, ce travail constitue une base solide pour de futures recherches visant à mieux exploiter le potentiel thérapeutique de la propolis et à contribuer à la valorisation des ressources naturelles locales.

# **Références bibliographiques**

**-A-**

**Ahn, M.-R., Kunimasa, K., Ohta, T., Kumazawa, S., et Nakayama, T. (2007).** Activité antioxydante et constituants de la propolis collectés dans diverses régions de Corée. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* , 55(20), 8603–8609.

**-B-**

**Banskota, AH, Tezuka, Y., Kadota, S. (2001).** Progrès récents dans la recherche pharmacologique sur la propolis. *Phytotherapy Research* , 15(7), 561–571.

**Bankova, V. (2005).** Diversité chimique de la propolis et problème de standardisation. *Journal of Ethnopharmacology* , 100(1-2), 114–117.

**Bankova, V. (2005).** Diversité chimique de la propolis et problème de standardisation. *Journal of Ethnopharmacology* , 100(1-2), 114–117

**Bankova, V., Popova, M., Trusheva, B. (2016).** Propolis : diversité chimique et activité biologique. *Journal of Apicultural Research* , 55(5), 523–535

**Bankova, V., Popova, M. et Trusheva, B. (2019).** Composés volatils de la propolis : diversité chimique et activité biologique : revue. *Chemistry Central Journal* , 13(1), 25.

**Bendjedid, S., A.S.Ayad, J.A.Doiron, T.Daas, G.Smaghe, M.Alburaki, M.Touaibia. (2023).** Algerian propolis from distinct geographical locations: chemical composition and biological activities. *Chemistry & Biodiversity*, 20(1), e202301758

**Bouterfas, K., Ghedadba, N., L.Hambaba, A.Ayachi, M.Didi Oueld El Hadj . (2010).** Origine botanique et composition chimique de la propolis algérienne

**Búfalo, M.C , A.P.Bordon-Graciani, B.J.Conti, M.deAssisGolim.(2013).** Effets immunomodulateurs de la propolis : une revue. *Food Chemistry* , 138(2-3), 1349–1359.

**Burdock, GA (1998).** Revue des propriétés biologiques et de la toxicité de la propolis d'abeille (propolis). *Food and Chemical Toxicology* , 36(4), 347–363

**-C-**

**Castaldo, S. et Capasso, F. (2002).** La propolis, un remède ancien utilisé dans la médecine moderne. *Fitoterapia* , 73, S1–S6.

**Chan, GCF, Cheung, KW et Sze, DM-Y. (2013).** Propriétés immunomodulatrices et anticancéreuses de la propolis. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology* , 46(3), 270–277

**Chang, C., Yang, M., Wen, H., & Chern, J. (2002).** Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis*, 10(3), 178–182.

**Cornara, L., Biagi, M., Xiao, J., et Burlando, B. (2017).** Propriétés thérapeutiques et bienfaits de la propolis pour la santé. *Recherche sur les produits naturels* , 31(6), 656–672

**-D-**

**De Almeida, L.F. et Menezes, C.M. (2002).** Utilisation historique de la propolis dans l'Égypte antique. *Journal of Apicultural Research*, 41(3), pp. 123-130.

**Debusyer, J. (1984).** Le comportement de collecte de résine pour la production de propolis par les abeilles. *Apidologie* , 15(3), 231–234.

**Djeghim, H., El kamsa Soltani., K.Mokhnache, N.Charef. (2020).** Phytochemical profile and biological activities of Algerian propolis from Serdj El Ghoul (Sétif). *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 10(4), 3797–3803.

**Drago, L., M.De Vecchi, E.Mombelli, M.C.Fassina, L.Tocalli, M.R.Gismondo . (2007).** Activité antimicrobienne in vitro de la propolis et synergie avec les médicaments antimicrobiens. *Phytotherapy Research* , 21(6), 570–573.

**Djebli, N., E.k.Soltani, K.Zaim, K.Mokhnache, N.Haichour, S.Mezaache-Aichour., (2021).** Polyphenol contents, antioxidant and antibacterial activities of aqueous Algerian propolis extracts. *Research Journal of Pharmacy and Technology*, 14(7): 3845-3852.

**-G-**

**Galeotti, F., F.Lanzilotta; L.Marchica. G.Mandrioli, E.Baldi (2018).** Bioactive constituents in propolis: role of caffeic acid phenethyl ester and artepillin C in the modulation of inflammation and cancer. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(7), 1967.

**Ghedadba, N.. (2020).** Biodiversité floristique et composés bioactifs dans la propolis algérienne.

**Ghisalberti, EL (1979).** Propolis : une revue. *Bee World* , 60(2), 59–84

**-H-**

**Huang, S., Zhang, C.P., Wang, K., Li, G.Q., & Hu, F.L. (2014).** Recent advances in the chemical composition of propolis. *Molecules*, 19(12), 19610–19632

**-I-**

**Isabela Przybyłek, SA (2019).** Propriétés anti-inflammatoires de la propolis. *Molécules*, 24(11), 2047

**-K-**

**Kujungiev,A. .I.Tsvetkova ; Y .Serkedjieva, V.Bankova, R.Christov, S.Popov. (1999).** Activité antibactérienne, antifongique et antivirale de la propolis de différentes origines géographiques. *Journal of Ethnopharmacology* , 64(3), 235–240.

**Kumazawa, S., Hamasaka, T., Nakayama, T. (2004).** Activité antioxydante de la propolis d'origines géographiques diverses. *Food Chemistry* , 84(3), 329–339.

**-L-**

**Lavie, P. et Hegazi, A.G. (1975).** Propolis et ses usages médicaux pendant la guerre des Boers. *South African Medical Journal*, 49(12), pp. 1123-1127.

**-M-**

**Mansouri, A., G.Embarek, E.Kokkalou, P.Kefalas. (2005).** Évaluation de l'activité antioxydante par dosage DPPH. *Food Chemistry* , 89(2), 217–222.

**Mirzoeva, OK, et Calder, PC (1996).** Effet inhibiteur de la propolis et de ses composants sur le métabolisme de l'acide arachidonique. *Biochemical Pharmacology* , 52(2), 203–210.

**Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., Tamendjari, A. (2016).** Antioxidant activity of some Algerian honey and propolis: influence of solvent. *Industrial Crops and Products*, 88: 85-90.

**-O-**

**Oršolić, N., D.Odeh, I.Mikolić, M.Šikić. (2022).** Effets immunomodulateurs et anti-inflammatoires de l'ester phénéthylique de l'acide caféique (CAPE). *Journal of Immunology Research* , 2022, article n° 123456

**-P-**

**Ponce, AG, R.Fritz, C.Delalle, S.I.Roura (2003).** Méthodologie d'évaluation de l'activité antimicrobienne par diffusion sur disque. *Journal of Microbiological Methods* , 54(1), 79-85.

**Popova, M, V.Bankova, I.Dimitrova , H.Najdenski, M.L.Popovska. (2013).** Composition chimique et activité biologique de la propolis. *Molécules* , 18(11), 13713-13755

**-S-**

**Salatino, A., C.C.Fernandes-Silva, A.Abbud Righi, M.L.F.Salatino. (2005).** Origines botaniques et composition chimique de la propolis. *Apidologie* , 36(2), 101-111.

**Sanchez-Moreno, C. (2002).** Revue : Méthodes utilisées pour évaluer l'activité antioxydante des aliments. *Food Science and Technology International* , 8(3), 121-137.

**Seidel, V., P.P.Taylor, A.R.M.Coates, Y.Hu. (2008).** Effets des flavonoïdes sur les enzymes et les membranes bactériennes. *Biochemical Pharmacology* , 75(7), 1286-1297.

**Silva, BA, et al. (2006).** Composés phénoliques et activité antioxydante dans les produits de la ruche. *Food Chemistry* , 101(3), 870-875.

**Simone-Finstrom, M., et Spivak, M. (2010).** Propolis et immunité sociale chez les abeilles. *Current Opinion in Immunology* , 22(3), 385-391.

**Sforcin, JM (2007).** Propriétés biologiques et potentiel thérapeutique de la propolis. *Food Chemistry and Toxicology* , 44(4), 687-698

**Sforcin, JM (2016).** Propolis et système immunitaire : une revue. *Journal of Ethnopharmacology* , 198, 240-247.

**Soltani, T. et coll. (2021).** Teneur élevée en polyphénols dans la propolis de Sétif, Algérie

**Szliszka, E., T.kowalczyk, Z.P.Czuba. (2013).** Propriétés anti-inflammatoires de l'ester phénéthylique de l'acide caféique. *International Immunopharmacology* , 15(1), 140–146.

**-T-**

**Talas, ZS, M.Özfidanci, I.H.Özercan. (2014).** Propriétés antifongiques de la propolis contre les isolats cliniques. *Mycopathologia* , 177(3-4), 125–133.

**Tossi, A., E.Ré, M.E.Ortega, A.F.Cazzoli. (2006).** Caractéristiques sensorielles des échantillons de propolis. *Journal of Food Science* , 71(4), S273–S279.

**-V-**

**Viuda-Martos, M., Ruiz-Navajas, Y., Fernandez-Lopez, J., et Perez-Alvarez, JA (2008).** Propriétés fonctionnelles de la propolis comme antioxydant naturel. *Journal of Food Science* , 73(9), R117-R124

**-W-**

**Wagh, VD (2013).** La propolis : un remède naturel aux immenses bienfaits médicaux. *Journal of Complementary and Integrative Medicine* , 10(1), article 69

**Watanabe, M., M.Amarante, B.J.Conti, J.M.Sforcin. (2011).** Effets antiangiogéniques et antitumoraux des composants de la propolis. *Cancer Letters* , 312(1), 29–38

**-Z-**

**Zuhlendri, F., R.Lesmana, S.Tandean, A.Christoper, A.A.Abdulah. (2022).** Définition et origine botanique de la propolis. *Journal de recherche apicole* , 61(1), 1-12.

# **Annexes**

## Test de Student pour la teneur en polyphénols totaux :

```
> Echantillon1=c(0.461,0.467)
> Echantillon2=c(0.299,0.294)
> Echantillon3=c(0.330,0.337)
> #Echantillon1,2,3 représentent respectivement la densité optique de dosage des polyphénols totaux des échantillons de Tizi Ouzou ,Blida ,Ain Defla
> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon2:
> t.test(Echantillon1,Echantillon2)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon1 and Echantillon2
t = 42.892, df = 1.937, p-value = 0.0006609
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.150163 0.184937
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.4640 0.2965

> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon1,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon1 and Echantillon3
t = 28.309, df = 1.9543, p-value = 0.001409
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.1102145 0.1507855
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.4640 0.3335

> #Comparaison entre l'échantillon2 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon2,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon2 and Echantillon3
t = -8.6023, df = 1.8096, p-value = 0.01779
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.05750292 -0.01649708
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.2965 0.3335
```

## Test de Student pour la teneur en flavonoïde :

```
> Echantillon1=c(0.342,0.347)
> Echantillon2=c(0.186,0.193)
> Echantillon3=c(0.212,0.217)
> #Echantillon1,2,3 représentent respectivement la densité optique de dosage des flavonoïdes des échantillons de Tizi Ouzou,Blida,Ain Defla
> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon2
> t.test(Echantillon1,Echantillon2)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon1 and Echantillon2
t = 54.88, df = 1.6374, p-value = 0.001145
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.1443786 0.1756214
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.3445 0.1845

> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon1,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon1 and Echantillon3
t = 36.77, df = 2, p-value = 0.0007388
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.1147978 0.1452122
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.3445 0.2145

> #Comparaison entre l'échantillon2 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon2,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon2 and Echantillon3
t = -10.29, df = 1.6374, p-value = 0.01759
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.04562139 -0.01437861
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.1845 0.2145
```

## Test Student pour l'activité antioxydante :

```
> Echantillon1=c(0.093,0.097)
> Echantillon2=c(0.237,0.233)
> Echantillon3=c(0.142,0.145)
> #Echantillon1,2,3 représentent respectivement la densité optique de l'activité antioxydante des échantillon de Tizi Ouzou, Blida ,Ain Defla
> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon2:
> t.test(Echantillon1,Echantillon2)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon1 and Echantillon2
t = -49.497, df = 2, p-value = 0.0004079
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.1521697 -0.1278303
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.095    0.235

> #Comparaison entre l'échantillon1 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon1,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

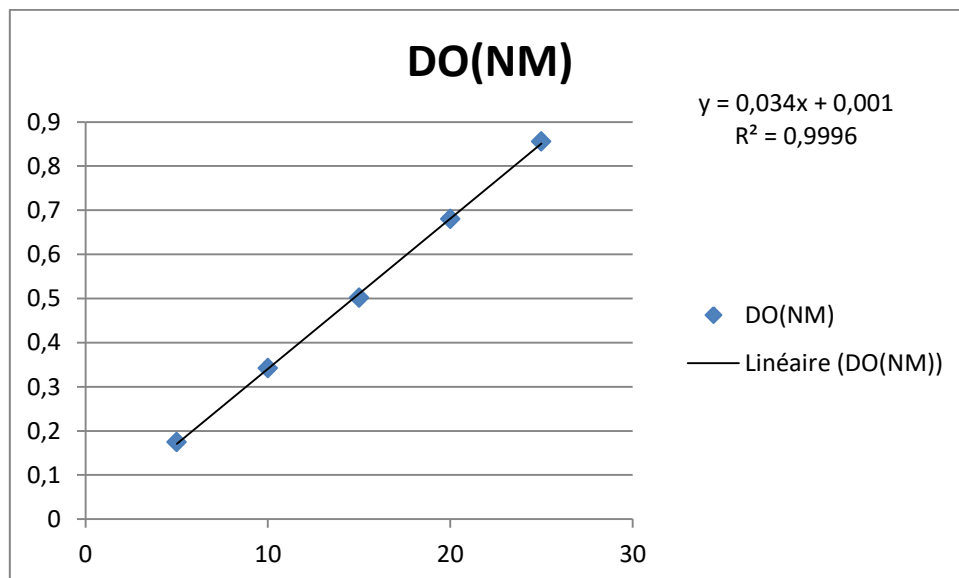
data: Echantillon1 and Echantillon3
t = -19.4, df = 1.8546, p-value = 0.003719
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 -0.06010661 -0.03689339
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.0950    0.1435

> #Comparaison entre l'échantillon2 et l'échantillon3:
> t.test(Echantillon2,Echantillon3)

Welch Two Sample t-test

data: Echantillon2 and Echantillon3
t = 36.6, df = 1.8546, p-value = 0.001149
alternative hypothesis: true difference in means is not equal to 0
95 percent confidence interval:
 0.07989339 0.10310661
sample estimates:
mean of x mean of y
 0.2350    0.1435
```

## Courbe d'étalonnage d'acide gallique :



**Courbe d'étalonnage de quercetine :**

