République Algérienne Démocratique et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique
Université de Echahid Echeikh Larbi Tebessi –Tebessa-
Faculté des Sciences Exactes et Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Biologie Appliquée
Domaine des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire

Présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master
En : Sciences biologiques
Option : Microbiologie appliquée

Par :
Melle. ABIDI Nihad & Mme. MESNADI Sabrine

Intitulée :

Evaluation de l'activité antibactérienne et anti-oxydante de la mixture des extraits de la propolis sur des bactéries isolés de la pathologie humaine

Devant le jury :

M. Rouabhi Rachid	Professeur	Université de Tébessa	Président
M. Gasmi Salim	MCA	Université de Tébessa	Examinateur
Mme. Bouguerra Nadia	MCB	Université de Tébessa	Rapporteuse
M. Djabri Belgacem	Professeur	Université de Tébessa	Co-Rapporteur

Date de soutenance :12/06/2025



" Une substance issue de la ruche, au service de la santé humaine. "

Résumé

La résistance des bactéries aux antibiotiques conventionnelles constitue un problème de santé publique. Par conséquent, le recours à des stratégies antimicrobiennes alternatives sont devenu obligatoire. Dans ce sens, notre travail porte sur l'évaluation de l'activité antioxydante et antibactérienne des extraits (acétonique, éthanolique et mixture) de la propolis (OKBOR) de la région de Bouandas (wilaya de Sétif) sur des souches bactériennes isolées de pathologies humaines.

Les extraits de la propolis ont été obtenus par macération, filtration**,** et évaporation (Rota- vap). L'évaluation du rendement de l'extraction de la propolis était meilleure en utilisant le solvant acétonique que celui éthanolique avec des valeurs enregistrées de 35.4 % et de 45.9 % respectivement. L'activité antibactérienne a été réalisée par la méthode des puits en gélose, en testant une série de concentrations décroissantes (10 ,5, 2,5 et 1,25 mg/ml) sur des isolats bactériens cliniques : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie.* L'extrait acétonique a montré une activité antibactérienne fortement inhibitrice, notamment contre *S. aureus* (30 mm), une activité modérée contre *Escherichia coli* (19 mm) et *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm). En revanche, l'extrait éthanolique a montré une activité légèrement inhibitrice contre *Klebsiella pneumonie* (14 mm), reflétant une résistance relative de cette souche. La mixture des deux extraits a présenté une activité proche de celle de l'extrait acétonique, suggérant un effet synergique modéré. L'activité antioxydante de ces extraits a été évaluée par la méthode de piégeage des radicaux libres DPPH. Les extraits ont montré une activité relativement faible comparativement à la vitamine C, avec une IC_{50} de (7180,9 ; 4186,861 et 4061,636 µg/mL) pour les extraits acétonique, éthanolique et la mixture de propolis respectivement, et de 281,7 µg/mL pour la vitamine C. Ces résultats confirment la valeur thérapeutique potentielle de la propolis comme alternative naturelle prometteuse dans la lutte contre les infections bactériennes et la prévention des dommages oxydatifs.

Mots-clés : Propolis, extrait éthanolique et acétonique, mixture, activité antibactérienne, activité antioxydante.

Abstract

The resistance of bacteria to conventional antibiotics constitutes a public health problem. Consequently, the use of alternative antimicrobial strategies has become essential. In this context, our study focuses on the evaluation of the antioxidant and antibacterial activities of propolis (OKBOR) extracts (acetonic, ethanolic, and the mixture) from the Bouandas region (Sétif Province) against bacterial strains isolated from human pathologies.

The propolis extracts were obtained through maceration, filtration, and evaporation (Rotavap). The extraction yield was higher with the acetonic solvent than with the ethanolic one, with recorded values of 45.9% and 35.4% respectively. Antibacterial activity was assessed using the agar well diffusion method, testing a series of decreasing concentrations (10 ,5 ,2.5, and 1.25 mg/mL) on clinical bacterial isolates: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, and Klebsiella pneumoniae.*

The acetonic extract showed strong antibacterial activity, notably against *Staphylococcus aureus* (30 mm), moderate activity against *Escherichia coli* (19 mm) and *Pseudomonas aeruginosa* (15 mm). In contrast, the ethanolic extract showed slight inhibitory activity against *Klebsiella pneumoniae* (14 mm), reflecting a relative resistance of this strain. The mixture of the two extracts presented an activity close to that of the acetonic extract, suggesting a moderate synergistic effect.

The antioxidant activity of these extracts was evaluated using the DPPH free radical scavenging method. The extracts showed relatively low activity compared to vitamin C, with IC_{50} values of 7180.9, 4186.861, and 4061.636 µg/mL for the acetonic, ethanolic, and mixed propolis extracts respectively, and 281.7 µg/mL for vitamin C.

These results confirm the potential therapeutic value of propolis as a promising natural alternative in combating bacterial infections and preventing oxidative damage.

Keywords: Propolis, ethanolic and acetonic extract, mixture, antibacterial activity, antioxidant activity.

الملخص

تُعد مقاومة البكتيريا للمضادات الحيوية التقليدية مشكلةً صحيةً عامة. وبناءً عليه، أصبح اللجوء إلى استراتيجيات مضادة للميكروبات بديلة أمرًا ضروريًا. في هذا السياق، يهدف عملنا إلى تقييم النشاط المضاد للأكسدة والنشاط المضاد للبكتيريا لمستخلصات البروبوليس (العكبر) (الأسيتونية، الإيثانولية والمزيج) من منطقة بوعنداس (ولاية سطيف) على عزلات بكتيرية تم الحصول عليها من حالات مرضية بشرية.

تم الحصول على مستخلصات البروبوليس بواسطة النقع، والترشيح، ثم التبخير باستخدام جهاز التبخير الدوراني. وقد تبين أن مردود الاستخلاص كان أعلى باستخدام المذيب الأسيتوني مقارنةً بالمذيب الإيثانولي، حيث بلغت النسب المسجلة 45.9٪ و35.4٪ على التوالي.

تم تقييم النشاط المضاد للبكتيريا باستخدام طريقة الآبار في الأوساط الصلبة، من خلال اختبار سلسلة من التراكيز التنازلية (10، 5، 2.5 و1.25 ملغم/مل) على سلالات بكتيرية سريرية: *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli,* and *Klebsiella pneumoniae*.

أظهر المستخلص الأسيتوني نشاطًا مضادًا للبكتيريا قوياً، خاصة ضد *Staphylococcus aureus* (30 مم)، ونشاطًا متوسطًا ضد *Escherichia coli* (19 مم) *Pseudomonas aeruginosa* (15 مم). في المقابل، أظهر المستخلص الإيثانولي نشاطًا تثبيطيًا ضعيفًا ضد *Klebsiella pneumoniae* (14 مم)، مما يعكس مقاومة نسبية لهذه السلالة. أما المزيج بين المستخلصين فقد أظهر نشاطًا مقاربًا للمستخلص الأسيتوني، مما يشير إلى وجود تأثير تآزري معتدل.

تم تقييم النشاط المضاد للأكسدة لهذه المستخلصات باستخدام طريقة تثبيط جذور الـ DPPH الحرة. وقد أظهرت المستخلصات نشاطًا ضعيفًا نسبيًا مقارنةً بفيتامين C، حيث كانت قيم IC_{50} كالتالي: 7180.9، 4186.861، و4061.636 ميكروغرام/مل للمستخلص الأسيتوني، الإيثانولي، والمزيج على التوالي، مقابل 281.7 ميكروغرام/مل لفيتامين C.

تؤكد هذه النتائج القيمة العلاجية المحتملة للبروبوليس كبديل طبيعي واعد في مكافحة العدوى البكتيرية والوقاية من الأضرار الناتجة عن الأكسدة.

الكلمات المفتاحية: بروبوليس، مستخلص إيثانولي وأسيتوني، مزيج، نشاط مضاد للبكتيريا، نشاط مضاد للأكسدة.

Remerciement

Avant tout, nous remercions Dieu de nous avoir donné la patience, la volonté et le courage pour terminer ce parcours d'études. Nous remercions ensuite Dr Bouguerra Nadia pour ses bons conseils, son encadrement, et sa patience avec nous. Son expérience et ses remarques nous ont beaucoup aidés à finaliser ce travail. Nous remercions aussi Monsieur le Professeur Djabri Belgacem pour son aide, ses conseils et ses efforts. Un grand merci aux membres du jury le professure Rouabhi Rachid et Dr. Gasmi Salim pour, l'intérêt qu'ils ont porté à notre recherche en acceptant d'examiner notre travail et de l'enrichir par leurs propositions. Ainsi que les enseignants de la faculté de SNV et toutes les membres de l'université de Echahid ECHikh larbi Tébessi en générale. Enfin, nous tenons également à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

Dédicace

Louange à Dieu, en premier et en dernier, dans le visible comme dans l'invisible

Louange à Celui par qui les bonnes œuvres s'accomplissent, à Celui qui m'a accordé la réussite, la patience et la force pour arriver jusqu'ici. À Lui seul reviennent gratitude et louange, comme il sied à Sa majesté et à Sa grandeur.

À Celui qui m'a appris les lettres et ouvert les voies du savoir…

À mes parents bien-aimés, symboles de sacrifice et de don inconditionnel, dont les prières furent ma lumière et le soutien, mon bagage. Je vous dédie tout mon amour et ma reconnaissance.

À mes frères et sœurs, compagnons de rêve, et à ma sœur Soumaya, ma première amie, mon appui dans les moments difficiles.

À mon époux Mourad, lumière, force et soutien, je dédie cette réussite, car elle est aussi la tienne.

À mon enfant à naître, cette petite âme qui m'a insufflé un nouvel espoir au cœur de la fatigue, je t'offre le fruit de mes efforts, en souhaitant qu'il soit le début d'un chemin lumineux à deux.

À mes chères amies Linda et Hajar, véritables sœurs de cœur, et à Nihad, qui a partagé le fardeau de ce mémoire et m'a accompagnée dans les épreuves : je vous adresse un merci sincère, du fond du cœur.

À ma professeure bien-aimée Wafa, qui m'a guidée à la lumière du Saint Coran, ainsi qu'à toutes mes camarades, pour leur sincérité et leur solidarité.

À tous les amis rencontrés sur le chemin universitaire, merci pour chaque instant partagé avec bienveillance.

Une pensée particulière à Madame Boukoucha-Bouguerra Nadia, pour son accompagnement constant et ses précieux conseils.

À mes enseignants, pour leur dévouement et la transmission généreuse du savoir, je vous adresse tout mon respect et ma profonde gratitude.

À vous tous, je dédie ce travail modeste, en signe de reconnaissance, en espérant qu'il soit le fruit béni d'années de persévérance.

Sabrine. M

Dédicace

« Et leur dernière invocation sera : « Louange à Allah, Seigneur de l'univers »

*Louange à **Allah**, Seigneur des mondes, au début comme à la fin.*
C'est Lui qui m'a guidée, facilitée la voie, et accordé la force, la patience et la persévérance pour mener à bien ce parcours universitaire.

Je dédie cette réussite à mes chers parents

*À celui dont je porte le nom avec fierté, À celui que Dieu a doté de sagesse et de prestance, À celui dont les cheveux ont blanchi de fatigue pour moi, À celui qui a sacrifié sa santé et son confort pour que j'atteigne mes objectifs, À celui qui m'a soutenu sans jamais faiblir...**Mon cher père**, merci pour tout.*

*À celle qui m'a donné la vie, À celle dont les sacrifices sont le plus pur symbole d'amour et de tendresse, À celle dont les prières sincères ont été le secret de ma réussite, À celle sans qui je ne serais pas ce que je suis aujourd'hui…À toi, ma bien-aimée, **ma mère**, Merci du fond du cœur.*

*À ma sœur aînée, **Chaima**, À celle qui a été mon pilier tout au long de mon parcours scolaire, À ma complice sincère sur le chemin de la réussite, ma force…Merci du fond du cœur pour ton soutien constant, ta présence précieuse et tes sacrifices nobles.*

*À mes frères bien-aimés, **Aymen** et **Mouhamed**, et à ma petite sœur adorée, **Ritadj.** Vous êtes mon appui inébranlable. Merci pour vos encouragements et vos gestes inoubliables. Qu'Allah vous protège.*

*À ma collègue et amie, **Sabrine**, merci de m'avoir accompagnée tout au long de ce travail, merci pour ton engagement et ta collaboration précieuse.*

*À ma seule et unique **grand-mère**, merci pour tes prières, qu'Allah te protège et te comble de santé et de longévité.*

*À ma chère encadrante, **Madame Nadia Bouguera**, merci pour vos conseils, vos orientations et votre encadrement précieux.*

*À **mes chères amies** qui m'ont aimée sincèrement, qui m'ont toujours souhaité le bien, et qui ont été douces et bienveillantes avec moi en toutes circonstancesEt à **mes respectables enseignants** : Monsieur Mechai, Madame Debabza, Madame Smaali et Madame Azizi, recevez toute ma gratitude pour chaque mot que vous m'avez enseigné.*

Merci à tous ceux qui ont participé à ce travail, que ce soit par leur aide ou même par un mot, qu'ils soient ma famille, membres du laboratoire, enseignants ou amis.

Nihad. A

Table des matières

Résume

Abstract

ملخص

Remerciement

Dédicace

Liste des figures

Liste des tableaux

Liste des abréviations

Table de matière

Introduction

SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

CHAPITRE I : Molécules bioactifs d'origine naturelle

1. Géneralites 7
2. Origine des molécules bioactifs naturelles 7
2.1. Molécules Bioactifs D'origine Végétale 8
2.2. Molécules bioactifs d'origine microbienne 9
2.3. Molécules bioactifs d'origine animale 10
3. Classification des molécules bioactifs 10
3.1. Classification des molécules bioactifs d'origine végétale 10
3.2. Classification des molécules bioactifs d'origine microbienne 11
3.3. Classification des molécules bioactifs d'origine animale 16
4. Roles et fonctions biologiques des molécules bioactifs naturelles 17
4.1. Défense biologique 17
4.2. Communication inter-espèces 18
5. Importance des produits naturels en tant que source de composés bioactifs 19
6. Applications des molécules bioactifes naturelles 20

CHAPITRE II : Molécules bioactifs d'origine naturelle

1. Géneralites 23
2. Propolis 23
2.1. Historique 23
2.2. Définition 24

2.3. Origine de propolis 24
2.3.1. Origine interne 25
2.3.2. Origine externe 25
2.3.3. Origine algérienne 25
2.3.4. Composition de propolis algériennes 26
2.4. Méthodes de récolte de propolis 26
2.4.1. Par l'abeille 26
2.4.2. Par l'homme 27
2.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis 28
2.6. Utilisation de propolis 29
2.7. Toxicité 30
2.8. Conservation 30
3. Différentes activités biologiques des extraits éthanolique et acétonique 31
3.1. activité antibacteriennes 31
3.2. activités antioxydantes 32
3.3. activité anti-inflammatoire 33
PARTIE EXPERIMENTALE
I. Matériel et méthodes
1. Cadre et objectifs de l'étude 35
2. Matériel 35
2.1. Présentation de la propolis 35
2.2. Récolte de la propolis 37
2.2.1. Région de la récolte 37
2.3. Isolats bactériens 38
2.4. Solvants 38
2.5. Milieux de culture 39
2.6. Appareillages 39
2.7. Verreries et petits consommables 41
2.8. Disques d'antibiotiques 42
3. Méthodes 43
3.1. Extraction des substances bioactifs à partir de la propolis 43
3.1.1. Protocole d'extraction 43
3.1.2. Extraction éthanolique absolu 43

3.1.3. Extraction acétonique absolu 43
3.2. Calcul du rendement de l'extraction 44
3.3. Conservation des souches 44
3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits 44
3.4.1. Récupération des souches conservées et préparation de la suspension bactérienne 44
3.4.2. Préparation des solutions mères et différentes dilutions d'extraits 45
3.5. Activité antibactérienne de l'extrait de propolis par méthode des puits 46
3.6. Lecture et interprétation des résultats 46
3.7. Etude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotiques 47
3.8. Lecture et interprétation des résultats de l'antibiogramme des différents souches testés 47
3.9. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits 48
3.9.1. Test DPPH 48
3.9.2. Mode opératoire 49
3.9.3. Détermination de pourcentage d'inhibition 50
3.9.4. Détermination de l'ic50 50

II. Résultats

1. Extraction des substances bioactifs du propolis par différents solvants 52
1.1. Rendement de l'extraction par les deux solvants 52
2. Recuperation des souches bactériennes 53
3. Activité antibacterienne des différents extraits 53
3.1. Activité antibactérienne de l'extrait acétonique de propolis sur *pseudomonas aeruginosa* 53
3.2. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique du propolis sur *pseudomonas aeruginosa* 55
3.3. Activité antibactérienne de l'extrait acetonique du propolis sur *staphylococcus aureus* 56
3.4. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de propolis sur *staphylococcus aureus* 58
3.5. Activité antibactérienne de l'extrait acétonique de propolis sur *escherichia coli* et *klebsiella pneumonie* 59
3.6. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de propolis sur *escherichia coli* et *klebsiella pneumonie* 60
4. Activite antibacterienne de la mixture des extraits acetonique et éthanolique 62
4.1. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique et éthanolique sur *pseudomonas aeruginosa* 62
4.2. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique

et éthanolique sur *staphylococcus aureus* 64
4.3. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique
et éthanolique sur *escherichia coli* et *klebsiella pneumonie* 65
5. Antibiogramme de différentes souches testeés..... 67
5.1. Sensibilité des souches de *pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques..... 67
5.2. Sensibilité des souches de *staphylococcus aureus* aux antibiotiques 67
5.3. Sensibilité des souches *d'escherichia coli* et *klebsiella pneumonie* aux antibiotiques... 68
6. Resultats de la determination des profils de sensibilites aux antibiotiques..... 69
7. Etude comparative de l'activité des extraits et de la mixture..... 70
8. Etude comparative de l'activité des extraits et des antibiotiques..... 71
9. Validation des tests 72
10. Activité antioxydante des differents extraits 72
10.1. La rédaction de DPPH par l'acide ascorbique et les extraits de propolis 72
10.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH..... 74
10.3. Détermination de l'ic50 (concentration inhibitrice 50%) 75
III. *Discussion*
IV. *Conclusion et perspectives*
V.* Réferences *bibliographique
VI. A*nnexes*

LISTE DES FIGURES

Figure N°	Titre	Page
01	Les molécules bioactifs	7
02	Molécules bioactifs d'origine végétale	9
03	Culture des microorganismes producteurs des molécules bioactifs	9
04	Propolis	24
05	Composition de propolis algériennes	26
06	Récolte de la propolis par raclage	27
07	Récolte de la propolis par grille	27
08	Récolte de la propolis par raclage	28
09	Le mécanisme de l'activité de la propolis contre les bactéries	32
10	Propolis	36
11	La composition chimique de propolis	37
12	Les solvants (**A,** Ethanol. **B,** DMSO. **C,** Acétone. **D**, Méthanol)	39
13	Milieux de culture **A :** Chapman **; B :** Gélose nutritif **; C :** Muller Hinton **; D :** Gélose Hektoen + Additif	39
14	Évaporateur rotatif	40
15	Spectrophotométrie UV-VISIBLE	41
16	Disques des antibiotiques	42
17	Différentes étapes de l'extraction	43
18	Différentes étapes de conservation des souches bactérienne collectées	44
19	Différentes étapes de récupération des souches bactérienne conservées	45
20	Préparation des solutions mères et différentes dilutions des extraits	45
21	Application des disques d'antibiotiques	47
22	Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylydrazyl)	49
23	Test de l'activité antioxydante des extraits de propolis	49

24	Aspect macroscopique des extraits obtenus	52
25	Isolats bactériens sur les milieux de culture appropriés	53
26	Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*	54
27	Zones d'inhibition de l'extrait Acétonique de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa*	54
28	Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*	55
29	Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa*	57
30	Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique de propolis sur *Staphylococcus aureus*	57
31	Zones d'inhibition de l'extrait Acétonique de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus*	57
32	Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Staphylococcus aureus*	58
33	Zones d'inhibition de l'extrait Éthanolique de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus*	59
34	Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique de propolis enregistrées avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	60
35	Zones d'inhibition de l'extrait Acétonique de propolis sur enregistrées avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	60
36	Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	61
37	Zones d'inhibition de l'extrait Éthanolique de propolis enregistrées avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	62
38	Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*	63
39	Zones d'inhibition de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa*	63
40	Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus*	64

41	Zones d'inhibition de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus*	65
42	Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	66
43	Zones d'inhibitions de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Escherichia coli*	66
44	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Pseudomonas aeruginosa*	67
45	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Staphylococcus aureus* testés	68
46	Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* testés	69
47	Résultats de validation des tests	73
48	Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)	74
49	Réduction de DPPH par les extraits de la propolis	74
50	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (vit.C)	76
51	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations des Extraits de propolis	77

LISTE DES TABLEAUX

N° Tableau	Titre	Page
01	Exemples d'enzymes et leurs producteurs	12
02	Exemples des antibiotiques et leurs producteurs	14
03	Exemples des Vitamines et leurs producteurs	15
04	Exemples des Vitamines et leurs Rôles	16
05	Exemples des Vitamines et leurs Rôles	16
06	Pourcentages des composés de la propolis algérienne	26
07	Diffèrent propriétés physico-chimiques de la propolis	28
08	Présentation de matières première	38
09	Isolats des bactéries collectés à partir des différentes localisations infectieuses	38
10	Type d'inhibition en fonction des diamètres de la zone d'inhibition	46
11	Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrer avec différents antibiotiques	48
12	Caractéristiques organoleptiques des différents extraits (éthanolique et acétonique).	52
13	Rendement de l'extraction effectuée l'extraction des différents solvants	52
14	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*	54
15	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa.*	55

16	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur *Staphylococcus aureus*.	57
17	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur *Staphylococcus aureus.*	58
18	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	59
19	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur *Escherichia* coli et *Klebsiella pneumonie*	61
20	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits Éthanolique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*	63
21	Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur *Staphylococcus aureus*	64
22	Catégories des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*	65
23	Détermination du diamètre des zones d'inhibitions (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testées *Pseudomonas aeruginosa*	67
24	Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Staphylococcus aureus*	68
25	Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Escherichia coli* et *klebsiella*	69
26	Représente la comparaison entre les extraits Acétonique et Éthanolique et la mixture sur différentes souches bactériennes	71

27	Profils de sensibilité des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques et aux extraits bioactifs.	71
28	Profils de sensibilité des *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* aux antibiotiques et aux extraits bioactifs.	72
29	Profils de sensibilité des aux *Pseudomonas aeruginosa* antibiotiques et aux extraits bioactifs.	72
30	Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par le vit C et Extraits de propolis	75

LISTE DES ABRÉVIATIONS

S.aureus	*Staphylococcus aureus*
E. coli	*Escherichia coli*
P.aeruginosa	*Pseudomonas aeruginosa*
K. pneumonie	*Klebsiella pneumonie*
Ab	Absorbance de la témoin
As	Absorbance du composé testé
CI50	Concentration inhibitrice 50%
d	Densité
DPPH	2,2-diphényle-1-picrylhydrazyl
G	Gramme
I%	Pourcentage d'inhibition
mg	Mili gramme
Min	Minute
mm	Mili métre
R	Rendment
Vit C	Acide ascorbique
µL	Micro litre
ATB	Antibiotique
MH	Mueller Hinton (milieu de culture)
µg/ mL	Microgramme par millilitre
DMSO	Diméthylsulfoxyde
A, E, M	Acétonique, Éthanolique, Mixture
S, I, R	Sensible, Intermédiaire, Résistant

Introduction

I. INTRODUCTION

Les bactéries isolées à partir des pathologies humaines constituent un enjeu majeur dans le domaine des maladies infectieuses. Ces micro-organismes sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales et communautaires graves. Parmi les plus préoccupantes figurent *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonie*, *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa.* Ces espèces ont été fréquemment isolées à partir d'échantillons cliniques (sang, urines, sécrétions respiratoires, plaies) de patients souffrant d'infections variées telles que les infections urinaires, les pneumonies, les septicémies et les infections cutanées **(Benmerabet, 2017).**

La découverte des antibiotiques a véritablement révolutionné les pratiques médicales, amenant beaucoup à croire que la bataille contre les infections bactériennes était définitivement remportée. Cependant, l'adaptation rapide des bactéries et la propagation de leur résistance, combinées à un manque d'innovation thérapeutique, nous ont contraints à revoir cette perception, notamment face à l'augmentation du taux de mortalité lié à ces infections ***(*El Abdani*, 2016).*** Ce phénomène suscite de plus en plus d'attention dans les milieux médicaux et scientifiques. La résistance bactérienne aux antibiotiques entraîne en effet des conséquences graves, telles qu'une hausse de la morbidité, et dans certains cas de la mortalité, ainsi qu'une augmentation significative des coûts pour les systèmes de santé ***(*El Abdani*, 2016)***.

Malgré les avancées médicales majeures, les maladies infectieuses demeurent l'une des menaces sanitaires les plus sérieuses à l'échelle mondiale. Depuis les années 1950, de nombreux antibiotiques ont été découverts ou développés, mais chaque nouvelle classe a été suivie par l'apparition de mécanismes de résistance bactérienne. Cela a conduit à la propagation de souches pathogènes de plus en plus difficiles à traiter. À titre d'exemple, la méticilline a été commercialisée en 1961, mais dès 1962, une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la pénicilline G a été identifiée. Ensuite, en 1964, des entérobactéries résistantes ont émergé. Dans les années 1980, deux générations de céphalosporines ont été mises sur le marché, suivies l'année suivante par l'apparition de souches bactériennes résistantes à ces antibiotiques ***(*El Abdani*, 2016).***

Afin d'envisager et d'enrayer le phénomène d'antibiorésistance, L'intérêt pour les produits naturels a augmenté en raison de la diversité de leurs activités biologiques, qui peuvent être exploitées dans les industries alimentaires, cosmétiques et pharmaceutiques, afin de remplacer certains composés synthétiques courants susceptibles de provoquer des effets secondaires indésirables. Que ce soit utilisés seuls ou en combinaison avec d'autres agents

antimicrobiens, les produits naturels revêtent une importance clinique, en particulier en raison de leur potentiel dans le développement de nouveaux médicaments, que ce soit pour ralentir l'apparition de la résistance bactérienne ou pour en atténuer les effets. Étant constitués d'un mélange de plusieurs composés, les produits naturels présentent moins de risques de provoquer une résistance microbienne. Leur utilisation pourrait également contribuer à réduire la surconsommation d'antibiotiques en diminuant la dose nécessaire du médicament.

Parmi ces produits, le propolis (ou cires d'abeilles) est un produit naturel possédant une activité antibiotique prometteuse, qui suscite un intérêt croissant pour son application dans les traitements antimicrobiens et le développement de médicaments alternatifs. Selon le type de plantes dont il est extrait, il existe différentes variétés de propolis, chacune étant caractérisée par un ensemble de composés chimiques qui lui confèrent des propriétés bénéfiques, telles que l'activité antimicrobienne, les propriétés antioxydantes, ainsi que les effets anti-inflammatoires et antitumoraux, en plus d'autres activités biologiques **(Bankova, 2005 ; Silva-Carvalho *et al.* 2015 ; Falcão *et al*. 2010).**

Dans ce cadre de la recherche croissante de solutions naturelles pour lutter contre la résistance des bactéries aux antibiotiques, Donc cette étude vise Intéressé à examiner l'effet d'un mélange d'extraits de propolis sur l'activité antibactérienne et antioxydante. L'efficacité de ce mélange a été évaluée contre des souches bactériennes isolées de différentes pathologies humaines, Ce qui a conduit cette recherche à se concentrer principalement sur :

- Evaluer le rendement d'extraction de la propolis par macération avec les différents solvants (Ethanolique et Acétonique).
- Étude de l'activité antibactérienne des extraits éthanolique et acétonique de propolis sur des bactéries isoler ; *Staphylococcus aureus ,pseudomonas* aeruginosa *,Escherichia Coli, Klebsiella pneumonie* par méthode de diffusion sur gélose en utilisant la technique des puits.
- Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques (ATBs) sur les mêmes souches bactériennes et détermination de profile de sensibilité aux antibiotiques.
- Étude comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques.
- Étude de l'activité antibactérienne de la mixture des extraits éthanolique et acétonique de propolis sur les mêmes souches bactérienne.

- Étude de l'activité antioxydante des extraits éthanolique et acétonique de la propolis de la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle).
- Détermination de pourcentage d'inhibition les radicaux libres de propolis.
- Mesurer la concentration inhibitrice (IC50) de la propolis et la comparer avec celle de la vitamine C.

Notre étude structurée en deux parties principales :

- ❖ Dans la première partie de ce mémoire, nous avons présenté une synthèse bibliographique en deux chapitres.
- ❖ Le premier chapitre, englobe une généralité sur Les molécules bioactifs d'origine naturelle et leurres Rôles et fonctions biologiques.
- ❖ Le second chapitre, représente Propolis et activités biologiques.
- ❖ La deuxième partie est la partie expérimentale qui comporte les tests et les protocoles
- ❖ Utilisés pour atteindre les objectifs de notre travail ; les résultats obtenus suivi d'une discussion et enfin une conclusion et perspectives des ravaux.



Bibliographique

Chapitre I :

Molécules bioactifs d'origine naturelle

1. Généralités

Les molécules bioactifs jouent un majeur dans les processus biologiques en influençant les fonctions cellulaires et physiologiques grâce à leurs interactions spécifiques avec divers composants biologiques. Ces molécules se trouvent naturellement dans les plantes, les animaux, et les micro-organismes, bien qu'elles puissent également être synthétisées en laboratoire. Elles possèdent des propriétés qui leur permettent d'agir à des concentrations relativement faibles, leur conférant une efficacité remarquable. Parmi les exemples courants, on compte les vitamines, les enzymes, les hormones, et les alcaloïdes. Leurs applications s'étendent à des domaines variés tels que la médecine, l'alimentation, et la cosmétique, où elles sont utilisées pour développer des thérapies innovantes, enrichir les produits alimentaires, et améliorer les formulations cosmétiques. L'étude des molécules bioactives est donc cruciale pour comprendre leur potentiel et développer de nouvelles applications qui exploitent ces interactions naturelles complexes **(Dumas & Prigent-Combaret, 2024) .**



Figure 01. Molécules bioactifs **(Sciences Expertise BFC)**

2. Origine des molécules bioactifs naturelles

Les molécules bioactifs naturelles sont des composés chimiques produits par des organismes vivants, qui ont des effets biologiques spécifiques sur d'autres organismes ou systèmes biologiques. Leur origine peut être explorée à travers plusieurs aspects **(Cragg & Newman, 2005)**.

2.1. Molécules bioactifs d'origine végétale

Ces substances, appelées métabolites secondaires, ne participent pas directement à la croissance ou la reproduction des plantes, mais influencent fortement les systèmes biologiques. Elles se distinguent par leur diversité d'origines, leurs effets bénéfiques sur la santé humaine et leurs nombreuses activités biologiques **(Wink, 2015).**

Dans la biologie végétale, ces molécules jouent un rôle clé en défendant les plantes contre les pathogènes et herbivores. Certaines agissent comme des hormones régulant la croissance et le développement, tandis que d'autres influencent les interactions écologiques, comme l'attraction des pollinisateurs ou la répulsion des concurrents. Leur diversité et leur potentiel pharmaceutique en font une précieuse source de médicaments **(Verpoorte, 2000).** Les plantes produisent divers composés bioactifs, classés en plusieurs catégories : les alcaloïdes (aux effets pharmacologiques, notamment analgésiques et stimulants), les flavonoïdes (antioxydants présents dans les fruits, légumes et fleurs), les terpènes (responsables des arômes et aux diverses activités biologiques), ainsi que les saponines et polyphénols. Ces molécules se répartissent différemment selon les parties de la plante : les feuilles contiennent des flavonoïdes et alcaloïdes, les racines des alcaloïdes et saponines, et les fruits sont riches en flavonoïdes et polyphénols **(Balunas & Kinghorn, 2005)**.

L'extraction des composés bioactifs repose sur diverses techniques adaptées à leur nature et au matériel végétal. L'extraction par solvant est la plus courante, mais d'autres méthodes comme la macération, la percolation ou l'extraction. Des techniques modernes, telles que l'extraction par fluide supercritique ou assistée par micro-ondes, améliorent l'efficacité et la sélectivité. L'isolement et la purification se font grâce à des méthodes chromatographiques et spectroscopiques **(Chemat *et al.,* 2012)**.

Les applications des molécules bioactifs sont vastes : en médecine, elles servent au développement de médicaments grâce à leurs propriétés analgésiques, anti-inflammatoires et antioxydantes ; en nutrition, elles participent à la prévention des maladies et à la création aliments fonctionnels et de compléments alimentaires. Elles sont également utilisées en cosmétique et en agriculture, favorisant des produits innovants et durables **(Atanasov *et al.,* 2015)**.

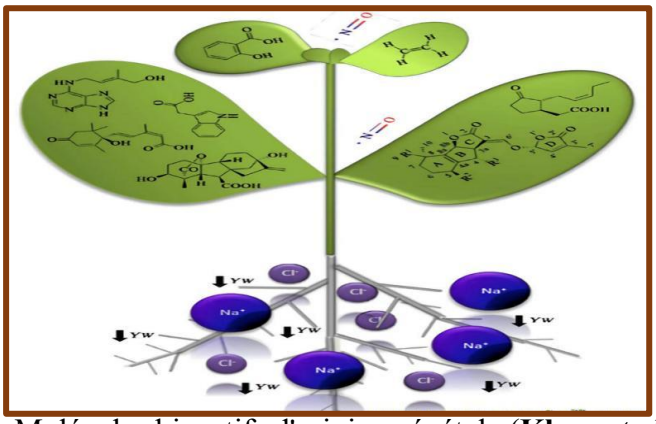


Figure 02. Molécules bioactifs d'origine végétale (**Khan *et al.*, 2015**)

2.2. Molécules bioactifs d'origine microbienne

Les molécules bioactifs d'origine microbienne sont des composés produits par des micro-organismes tels que les bactéries, les champignons et les levures, jouant un rôle essentiel dans l'écologie microbienne et présentant un potentiel considérable pour diverses applications. Parmi ces molécules, les antibiotiques, comme la pénicilline dérivée du champignon *Penicillium chrysogenum*, sont bien connus pour leur capacité à inhiber la croissance de bactéries pathogènes. D'autres classes de composés incluent les antimycobactériens ciblant spécifiquement les mycobactéries, ainsi que des antiviraux agissant contre divers virus **(Waksman, 1947)**.

Les probiotiques, qui sont des micro-organismes bénéfiques pour la santé digestive, illustrent également l'importance des métabolites microbiens dans la nutrition humaine **(Sanders *et al.*, 2019)**. Les enzymes produites par ces organismes, utilisées dans des secteurs tels que l'alimentation et la biotechnologie, mettent en avant leur utilité industrielle **(Ghosh *et al.*, 2019).** L'extraction de ces molécules implique des techniques telles que la culture en milieu liquide et la chromatographie, permettant d'isoler des composés d'intérêt **(Khan *et al.*, 2020).**



Figure 03. Culture des microorganismes producteurs des molécules bioactifs **(Peighambardoust *et al.*, 2021).**

2.3. Molécules bioactifs d'origine animale

Les molécules bioactifs d'origine animale sont des composés dérivés de produits et sous-produits issus du corps des animaux, tels que la viande, le lait, les œufs. Ces molécules jouent un rôle crucial dans divers domaines, notamment la santé humaine et animale, ainsi que l'agriculture. Par exemple, les protéines, qui sont des macromolécules biologiques composées de chaînes d'acides aminés, sont essentielles pour de nombreuses fonctions biologiques et sont présentes dans toutes les cellules vivantes **(Peighambardoust *et al.,* 2021).** Les produits d'origine animale sont également reconnus pour leur valeur nutritionnelle élevée, contribuant à la formulation d'aliments fonctionnels et de suppléments alimentaires. De plus, des molécules bioactives comme les peptides bioactifs, dérivés de la digestion des protéines animales, ont montré des effets bénéfiques sur la santé, notamment des propriétés antihypertensives et antioxydantes. L'exploration de ces molécules dans le cadre de la biologie synthétique ouvre de nouvelles perspectives pour le développement de traitements innovants et de produits de santé **(Peighambardoust *et al.,* 2021).**

3. Classification des molécules bioactifs

3.1. Classification des molécules bioactifs d'origine végétale

On distingue généralement trois grandes classes des molécules végétales bioactifs, appelées métabolites secondaires :

- Les alcaloïdes
- Les composés phénoliques
- Les composés terpéniques

Chaque catégorie principale regroupe plusieurs sous-classes. Les critères de classification reposent essentiellement sur :

- La nature biochimique des molécules, leurs propriétés et leurs effets biologiques (notamment pour les alcaloïdes),
- Et/ou leur origine biosynthétique **(Touil, 2021).**

➢ **Les alcaloïdes :**

Les alcaloïdes représentent des constituants majeurs du métabolisme secondaire des plantes. À ce jour, environ 12 000 alcaloïdes ont été identifiés. Ce sont des substances d'origine

végétale, le plus souvent basiques (avec un goût amer) et hydrophiles. Il s'agit de composés hétérocycliques contenant au moins un atome d'azote.

Leur biosynthèse repose sur des acides aminés simples tels que la tyrosine (Tyr), le tryptophane (Trp), l'ornithine, l'arginine (Arg) ou encore la lysine (Lys). Ils sont généralement stockés dans les vacuoles des cellules végétales. Les alcaloïdes remplissent diverses fonctions de défense chez les plantes et trouvent également des applications importantes en médecine et en pharmacie **(Touil, 2021)**.

- **Les composés phénoliques :**

Les substances phénoliques sont des molécules aromatiques caractérisées par un noyau phényle (C6) lié à un groupe hydroxyle (-OH). On en recense environ 4 500. Cette famille comprend notamment les tanins, les coumarines, la lignine et les flavonoïdes.

Ces composés sont typiques des plantes vasculaires et ont permis leur adaptation au milieu aérien. La majorité des composés phénoliques dérivent d'acides aminés aromatiques tels que la tyrosine et la phénylalanine **(Touil, 2021).**

- **Les composés terpéniques :**

Les terpénoïdes se composent d'unités de carbone dont le nombre est multiple de 5, leur précurseur étant le diphosphate d'isopentényl (IPP). Ce sont des lipides hydrophobes synthétisés à partir de l'acétyl-CoA.

À ce jour, on connaît environ 20 000 molécules terpéniques, ayant toutes pour base structurelle l'unité isoprène. Ces composés sont stockés dans les vacuoles, principalement au niveau de l'écorce, des épines, des racines ou des feuilles. On les retrouve également dans le latex **(Touil, 2021)**.

3.2. Classification des molécules bioactifs d'origine microbienne

Les molécules bioactives d'origine microbienne peuvent être classées en plusieurs grandes catégories selon leur nature chimique, leur fonction biologique, ou leur application **(Benslama, 2016).**

- **Les enzymes**

❖ **Définition et origine**

Les enzymes sont des catalyseurs biologiques de nature protéique complexe. Parmi les différentes sources biologiques, les micro-organismes sont privilégiés pour la production industrielle d'enzymes via fermentation, en raison de leur croissance rapide, de leur disponibilité et de leur adaptabilité **(Benslama, 2016)**.

❖ **Critères de choix des souches microbiennes**

Pour une production efficace, les micro-organismes sont sélectionnés selon :

- Leur **rendement enzymatique élevé**
- Un **temps de production court**
- La préférence pour les **enzymes extracellulaires** (plus faciles à extraire)
- Leur capacité à se développer sur des **substrats peu coûteux (Benslama, 2016)**

Tableau 01. Exemples d'enzymes et leurs producteurs **(Benslama, 2016)**

Invertase	*Saccharomyces cerevisae, Kluyveromyces lactis ; Aspergillus usamii*
Lipase	*Mucor javanicus ; Lucor mihei Rhizopus arrhizus ; Aspergillus effusus*
Pectinestérase, Pectine lyase, Polygalacturonase	*Aspergillus usamii ; Aspergillus wentii Aspergillus niger ; Penicillium funiculosum*
Alpha amylase	*Bacillus licheniformis ; Bacillus subtilis Aspergillus niger ; Aspergillus oryzae*
Glucose isomérase	*Streptomyces albus Actinoplanes missouriensis Bacillus coagulans*
Lactase	*Kluyveromyces fragilis Kluyveromyces lactis*

❖ **Milieux de culture**

Les milieux peuvent être **synthétiques ou complexes**, et contiennent

- **Sources de carbone** : farine de céréales, mélasse, lactosérum…
- **Sources d'azote** : farine de poisson, caséine…

- **Autres nutriments** : vitamines, sels minéraux **(Benslama, 2016)**

❖ **Conduite de la fermentation**

- Effectuée dans des fermenteurs de **100 à 200 m³**
- Dure de **30 à 150 heures**
- Nécessite un contrôle continu des paramètres : **pH, température, oxygène, mousse (Benslama, 2016)**

❖ **Induction enzymatique**

Certains substrats agissent comme **inducteurs spécifiques** (ex. : amidon pour l'amylase), d'autres peuvent avoir un **effet double** (inducteur à faible dose, répresseur à forte dose). Des coenzymes comme la **thiamine** peuvent aussi stimuler la production enzymatique **(Benslama, 2016)**.

❖ **Extraction *et purification***

- Enzymes extracellulaires: extraction simple
- Enzymes intracellulaires : extraction plus complexe (lyse cellulaire)
- Techniques utilisées : **centrifugation, chromatographie, électrophorèse (Benslama, 2016)**

➢ **Les antibiotiques**

❖ **Définition**

Un antibiotique est une substance naturelle ou synthétique qui détruit (bactéricide) ou inhibe (bactériostatique) la croissance des bactéries.

Ils sont produits naturellement par certains micro-organismes (bactéries, champignons) pour éliminer leurs concurrents **(Benslama, 2016)**.

❖ **Mode d'action**

Les antibiotiques ciblent des fonctions essentielles chez les bactéries :

- Inhibition de la **synthèse de la paroi bactérienne** (ex. : Béta-lactamines, Glycopeptides)
- Action sur la **membrane cellulaire** (ex. : Polypeptides)
- Inhibition de la **synthèse des acides nucléiques** (ex. : Fluoroquinolones)
- Inhibition de la **synthèse protéique** (ex. : Aminosides, Macrolides)

- Inhibition du **métabolisme des folates (Benslama, 2016)**

❖ **Classification des antibiotiques**

Basée sur leur structure chimique et mécanisme d'action :

- **Bêta-lactamines** (Pénicilline, Céphalosporines) – bactéricide, faible toxicité
- **Aminosides** (Streptomycine, Gentamycine) – bactéricide, toxicité rénale et auditive
- **Macrolides** (Érythromycine, Spiramycine) – bactériostatique
- **Polypeptides** (Bacitracine, Polymyxine) – bactéricide, toxicité rénale et nerveuse
- **Dérivés d'un seul acide aminé** (Chloramphénicol) – bactériostatique, toxicité sur la moelle osseuse
- **Composés cycliques** (Tétracyclines, Actinomycines) – divers effets
- **Autres** : analogues nucléosidiques (ex. : Puromycine), Rifamycine, Vancomycine, Sulfamides **(Benslama, 2016)**

 Production

Deux méthodes principales:

1. **Fermentation** : Production naturelle par des micro-organismes

   Hémisynthèse : Modifications chimiques à partir d'antibiotiques naturels pour éviter la résistance bactérienne **(Benslama, 2016)**

Tableau 02. Exemples des antibiotiques et leurs producteurs **(Benslama, 2016)**

Antibiotiques	**Micro-organismes producteurs**
Aminosidine	***Streptomyces sp.***
Gentamycine	***Micromonospora purpurea***
Pénicilline	***Penicillium sp***
Polymyxine B	***Aerobacillus polymyxa***
Tétracycline	***Streptomyces aureofaciens***
Erythromycine	***Streptomyces erythreus***

- **Les vitamines**

Les vitamines sont des substances organiques indispensables au métabolisme de l'organisme, même en très faible concentration. Elles jouent souvent le rôle de cofacteurs sous forme de coenzymes, intervenant dans de nombreuses réactions biochimiques. Certaines d'entre elles, notamment les vitamines K, B8 et B12, sont partiellement synthétisées par la flore intestinale humaine. Une carence en vitamines peut entraîner des troubles appelés hypovitaminoses ou avitaminoses, comme le scorbut ou le rachitisme, tandis qu'un excès, en particulier des vitamines liposolubles comme la vitamine A et D, peut provoquer une hypervitaminose toxique pour l'organisme **(Benslama, 2016).**

- **Sources et production**

- **Sources naturelles :** aliments végétaux, produits animaux, flore intestinale.
- **Micro-organismes producteurs :** levures, bactéries, champignons.
- **La production industrielle repose sur la fermentation microbienne ou synthèse chimique (surtout en raison des faibles rendements naturels) (Benslama, 2016)**

Tableau 03. Exemples des Vitamines et leurs producteurs **(Benslama, 2016)**

Vitamines	Micro-organismes producteurs
A	***Blakeslea trispora ; Rhodotorula gracilis Dunaliella sp.***
B1	***Ashbya gossypii; Torula utilis Sacharomyces cerevisae Eremothecium ashbyii***
B2	***Clostridium acetobutylium ; Ashbya gossypii Eremothecium ashbyii Pichia miso***
B12	***Bacillus megaterium; Streptomyces olivaceus Pseudomonas denitrificans; Propionibacterium shermanii***
D	***Saccharomyces cerevisiae ; Aspergillus niger***
E	***Euglena gracilis***

❖ **Types des vitamines**

1- Hydrosolubles (solubles dans l'eau)

Tableau 04. Exemples des Vitamines et leurs Rôles **(Benslama, 2016)**

Vitamine	Rôle principal
B1 (Thiamine)	**Énergie, anti-béribérique**
B2 (Riboflavine)	**Métabolisme général**
B3 (Niacine)	**Anti-pellagreuse**
B5 (Acide pantothénique)	**Peau et cheveux**
B6 (Pyridoxine)	**Métabolisme des protéines**
B8 (Biotine)	**Peau, cheveux, anti-anémique**
B9 (Acide folique)	**Défense immunitaire**
B12 (Cobalamine)	**Fonction cérébrale et sang**
C (Acide ascorbique)	**Antioxydant, peau**

2- Liposolubles (solubles dans les graisses)

Tableau 05. Exemples des Vitamines et leurs Rôles **(Benslama, 2016)**

Vitamine	Rôle principal
A (Rétinol)	**Vision, croissance**
D (Calciférol)	**Ossature**
E (Tocophérol)	**Fertilité**
K (Phylloquinone)	**Coagulation**

3.3. Classification des molécules bioactifs d'origine Animale

Les molécules bioactifs d'origine animale sont des composés naturels extraits de produits ou sous-produits animaux tels que la viande, le lait, les œufs et les poissons. Ces molécules se distinguent par leurs effets bénéfiques sur la santé humaine, leur haute valeur nutritionnelle, ainsi que leurs rôles fonctionnels et thérapeutiques

- **Les protéines bioactifs**

Ce sont des macromolécules essentielles à la structure et au métabolisme cellulaire. Certaines, comme les protéines de lactosérum, sont utilisées pour renforcer la masse musculaire et le système immunitaire.

- **Les peptides bioactifs**

Issus de la digestion ou de l'hydrolyse enzymatique des protéines animales, ils possèdent diverses activités biologiques, notamment antihypertensives, antioxydantes, antimicrobiennes et immunomodulatrices. Par exemple, les peptides dérivés de la caséine laitière peuvent inhiber l'enzyme de conversion de l'angiotensine (ECA), ce qui contribue à la régulation de la pression artérielle.

- **Les lipides fonctionnels**

Incluent principalement les acides gras polyinsaturés oméga-3 et oméga-6. Ces composés, abondants dans les huiles de poisson, ont des effets cardioprotecteurs et anti-inflammatoires démontrés.

- **Les antioxydants naturels**

Tels que la coenzyme Q10, ils protègent les cellules contre les dommages oxydatifs causés par les radicaux libres, et jouent un rôle important dans la prévention des maladies chroniques.

- **Les enzymes et les hormones**

Ces biomolécules régulent des processus physiologiques clés. L'insuline, par exemple, est essentielle pour la régulation du glucose sanguin, tandis que certaines enzymes digestives facilitent l'absorption des nutriments**.**

4. Rôles et fonctions biologiques des Molécules bioactifs naturelles

Les molécules bioactifs naturelles jouent des rôles cruciaux dans la défense biologique et la communication inter-espèces.

4.1. Défense biologique

Les molécules bioactifs sont essentielles dans les mécanismes de défense des organismes contre divers types de menaces. Les principaux aspects de leur rôle dans la défense biologique

- **Protection contre les microorganismes**

Les molécules bioactifs servent de première ligne de défense contre les agents pathogènes tels que les bactéries, les virus et les champignons. Par exemple

- Les organismes marins produisent une variété de métabolites secondaires qui agissent comme des mécanismes de défense contre les microorganismes et les prédateurs plus grands.
- Certaines molécules bioactifs peuvent inhiber la croissance de bactéries et de champignons nocifs, protégeant ainsi l'organisme hôte **(Bérdy, 2005).**

- **Propriétés antibactériennes**

De nombreuses molécules bioactifs sont des agents antibactériens naturels :

- Ces substances sont produites par des bactéries et d'autres microorganismes comme moyen de concurrencer d'autres espèces microbiennes.
- Elles peuvent inhiber la croissance de bactéries concurrentes, offrant ainsi un avantage de survie à l'organisme producteu**r (Bérdy, 2005).**

- **Effet antioxydant**

Les molécules bioactifs jouent un rôle crucial dans la protection des organismes contre le stress oxydatif.

- Les organismes ont développé des défenses antioxydantes qui incluent des composés bioactifs capables de neutraliser les espèces réactives de l'oxygène (ROS), qui peuvent endommager les composants cellulaires **(Bérdy, 2005).**

4.2. Communication inter-espèces

Les molécules bioactifes jouent également un rôle crucial dans la communication entre différentes espèces. Voici les principaux aspects de leur rôle dans la communication inter-espèces :

- **Sémiochimiques et allomones**

Les molécules bioactifs agissent comme des sémiochimiques, facilitant la communication entre espèces :

- Les allomones sont des molécules qui bénéficient à l'organisme émetteur, par exemple en repoussant les prédateurs ou en attirant les pollinisateurs.
- Ces interactions sont cruciales pour la défense des plantes et pour la pollinisation, un processus vital pour la reproduction des plantes) **(Regnault-Roger, 2017).**

- **Signaux chimiques dans l'environnement**

Les molécules bioactifs agissent comme des signaux chimiques dans l'environnement :

- Certaines plantes émettent des composés volatils qui attirent les insectes pollinisateurs ou repoussent les herbivores
- Ces signaux chimiques peuvent influencer le comportement des organismes récepteurs, déclenchant des réponses comportementales ou physiologiques **(Regnault-Roger, 2017).**

- **Coopération entre espèces**

Les molécules bioactifs facilitent la coopération entre différentes espèces

Un exemple typique est la coopération entre les légumineuses et les bactéries du genre Rhyzobium, qui aident à la fixation de l'azote, un nutriment essentiel pour les plantes **(Université de tous les savoirs, 2002).**

- **Mécanismes moléculaires de communication**

Les molécules bioactifes accomplissent leurs fonctions de communication par des mécanismes spécifiques

- Elles émettent des signaux chimiques qui sont perçus par des récepteurs spécifiques sur les organismes cibles
- Ces interactions peuvent déclencher des réponses comportementales ou physiologiques, telles que l'attraction des pollinisateurs ou la défense contre les prédateurs **(Regnault-Roger, 2017).**

- **Importance écologique**

La communication inter-espèces facilitée par les molécules bioactives est essentielle pour maintenir l'équilibre des écosystèmes :

- Ces interactions complexes sont cruciales pour la survie et la reproduction des organismes.
- Elles soulignent l'importance de ces composés dans les écosystèmes naturels et leur potentiel dans les stratégies de biocontrôle pour l'agriculture durable **(Regnault-Roger, 2017).**

5. Importance des produits naturels en tant que source de composés bioactifs

Les produits naturels jouent un rôle essentiel en tant que source de composés bioactifs aux multiples applications dans les domaines pharmaceutique, alimentaire et cosmétique. Leur importance réside dans leur diversité chimique, leur biodisponibilité et leur efficacité biologique.

- **Source des molécules bioactifs uniques**

Les produits naturels, notamment les extraits végétaux, les métabolites microbiens et les produits d'origine marine, contiennent des molécules aux propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antioxydantes et anticancéreuses. Des composés tels que les flavonoïdes, les alcaloïdes, les terpènes et les polyphénols sont largement étudiés pour leurs effets bénéfiques sur la santé humaine **(Newman & Cragg, 2020).**

- **Applications en pharmacologie et médecine**

Plusieurs médicaments essentiels proviennent de sources naturelles. Par exemple

- La pénicilline (antibiotique) est dérivée de Penicillium.

- La quinine (antipaludique) provient de l'écorce de Cinchona.
- Le taxol (anticancéreux) est extrait de Taxus brevifolia **(Newman & Cragg, 2016).**

Ces composés naturels ont ouvert la voie au développement de médicaments plus efficaces et moins toxiques.

- **Activité antioxydante et prévention des maladies**

Les antioxydants naturels, présents dans les fruits, les légumes et le miel, protègent les cellules contre le stress oxydatif et le vieillissement prématuré. Les polyphénols du thé vert ou les caroténoïdes des carottes sont reconnus pour leur rôle protecteur contre les maladies cardiovasculaires et certains cancers **(Lobo *et al*., 2010).**

- **Développement durable et alternatives aux produits synthétiques**

Les produits naturels sont une alternative prometteuse aux composés chimiques de synthèse, souvent associés à des effets secondaires indésirables. Leur biodégradabilité et leur compatibilité avec l'organisme humain en font des candidats de choix pour des applications cosmétiques et alimentaires **(Atanasov *et al*., 2021).**

6. Applications des molécules bioactifs naturelles

Les molécules bioactifes naturelles, issues de plantes, bactéries, champignons ou autres organismes vivants, jouent un rôle fondamental dans divers domaines

- **Santé humaine et médecine**

Les molécules bioactifes naturelles sont largement utilisées dans le domaine médical pour la prévention et le traitement des maladies. Elles peuvent agir comme :

- Médicaments De nombreux médicaments sont dérivés de produits naturels, comme les antibiotiques (ex. : pénicilline) ou les anticancéreux (ex. : taxol). Ces molécules sont souvent isolées de plantes, bactéries ou champignons
- Compléments alimentaires Certaines molécules, comme la coenzyme Q10, sont utilisées pour leurs propriétés antioxydantes et leur capacité à réduire la fatigue.
- Antioxydants Ces composés protègent les cellules contre les dommages causés par les radicaux libres, contribuant ainsi à la prévention de maladies chroniques comme le cancer ou les maladies cardiovasculaires. **(Agence Nationale de la Recherche, 2014).**

- **Agriculture et agroalimentaire**

Dans le secteur agricole, les molécules bioactifs naturelles sont utilisées pour :

- Biopesticides Elles permettent de lutter contre les ravageurs et les maladies des cultures de manière écologique, réduisant ainsi l'utilisation de produits chimiques de synthèse.

- Conservation des aliments Par exemple, certaines molécules bioactifs naturelles sont utilisées pour prolonger la durée de conservation des produits laitiers en agissant comme agents antimicrobiens

➢ **Cosmétique**

Les molécules bioactifs naturelles sont intégrées dans les produits cosmétiques pour leurs propriétés bénéfiques sur la peau et les cheveux

- Antioxydants Utilisés pour ralentir le vieillissement cutané.
- Hydratants et réparateurs Certaines molécules issues de plantes médicinales ou d'algues marines sont utilisées pour leurs effets hydratants et apaisants. **(Agence Nationale de la Recherche, 2017).**

➢ **Recherche scientifique et innovation**

Les molécules bioactifs naturelles sont également au cœur de la recherche scientifique :

- Découverte de nouveaux médicaments Grâce à des techniques comme l'ethnopharmacologie et l'écologie chimique, les chercheurs identifient des molécules prometteuses issues de plantes soumises à des stress environnementaux.

➢ **Biologie synthétique**

Les scientifiques utilisent des approches de biologie synthétique pour produire des molécules bioactifs en laboratoire, en s'inspirant de leurs homologues naturels (Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie marine et continentale. Molécules naturelles bioactifs).

Chapitre II :

Propolis et activités biologiques

1. Généralités

Depuis l'Antiquité, les produits naturels, en particulier ceux d'origine végétale, ont toujours constitué une source précieuse d'agents thérapeutiques. Aujourd'hui encore, environ 25 à 30 % des médicaments utilisés pour traiter diverses maladies sont dérivés de substances naturelles provenant de plantes, d'animaux, de bactéries et de champignons. Cependant, malgré leur importance, la recherche sur ces produits a connu un certain ralentissement au cours des dernières décennies, notamment en raison des progrès réalisés en chimie de synthèse **(Soltani, 2017).**

Néanmoins, des études récentes montrent que, pour certaines maladies complexes, les produits naturels demeurent une source essentielle pour la découverte de nouvelles entités chimiques. Ces substances, façonnées par des millions d'années d'évolution, présentent des structures privilégiées qui inspirent la recherche pharmaceutique moderne. Ainsi, face à la nécessité de trouver des alternatives efficaces aux molécules synthétiques, les scientifiques intensifient leurs efforts pour identifier de nouveaux composés naturels aux propriétés thérapeutiques prometteuses, alliant efficacité et innocuité **(Soltani,2017).**

Parmi les ressources naturelles largement exploitées par l'homme depuis des millénaires figurent les produits de la ruche. Issus de substances naturelles transformées par les abeilles, ces produits bénéficient d'une forte demande sur le marché et constituent une source de revenus pour les apiculteurs. Parmi eux, la propolis occupe une place particulière. Réputée pour ses vertus médicinales depuis l'Antiquité, elle est une résine végétale récoltée par les abeilles. De couleur variable selon son origine botanique et dotée d'une odeur balsamique, la propolis est un mélange complexe de composés organiques et inorganiques. Les abeilles l'utilisent principalement comme colle, enduit et agent protecteur aux propriétés antimicrobiennes naturelles **(Soltani,2017).**

2. Propolis

2.1. Historique

En revenant à l'histoire, on constate que la propolis a été utilisée par les anciens Égyptiens, les Perses et les Romains **(Soltani,2017).** Dans l'Égypte ancienne, elle servait à la momification. Les prêtres, qui contrôlaient la médecine et la chimie à cette époque, en connaissaient bien les propriétés **(Hossain *et al*,2022).**

Dans la Rome antique, les soldats romains emportaient avec eux un morceau de propolis en partant au combat, afin de soigner d'éventuelles blessures. La propolis était réputée pour réduire les œdèmes, apaiser les douleurs nerveuses et favoriser la guérison des plaies cutanées et des abcès **(Soltani ,2017).**

La propolis fut utilisée par les grecs puisque Aristote la signale comme « un remède aux affections de la peau, plaies et suppurations » dans son histoire des animaux **(Donadieu, 2008).**

Il a été recommandé pour son usage, et plus tard, au XIe siècle, le médecin iranien Avicenne a mentionné la propolis en disant :

« Elle a la capacité d'extraire les pointes de flèches et les épines, elle amincit, nettoie facilement et assouplit fortement. » **(Rojczyk *et al*.,2020).**

En Europe, la propolis a été reconnue pour ses propriétés antibactériennes aux XVIIe et XXe siècles, et elle a été considérée comme l'un des meilleurs remèdes pour le traitement des plaies au XVIIe siècle. En Chine, elle était reconnue pour ses effets anticancéreux et anti-infectieux. Le tout premier rapport scientifique concernant la propolis, sa composition et ses activités chimiques, a été rendu public en 1908 **(Anjum *et al.*, 2018).** Elle était reconnue pour son action antiseptique, anesthésique et cicatrisante **(Soltani, 2017).**

2.2. Définition

La propolis, ou « colle d'abeille », est d'origine grec, "pro" (devant) et "polis" (ville), ce qui souligne en tant que substance défensive pour la ruche (**Soltani,2017**). Elle est généralement connue comme une substance cireuse et résineuse visqueuse (**Potier,2014**). Les abeilles ouvrières collectée à partir de la résine présente dans les bourgeons et l'écorce des peupliers, des bouleaux et d'autres arbres et arbustes, puis mélangée au pollen et leurs propres enzymes sécrétées salivaires, ce qui la transforme en une pâte utilisée pour recouvrir l'entrée de la ruche afin de la protéger contre les ennemis. Elle dégage une odeur aromatique distincte et agréable, tandis que sa couleur varie du jaune-vert au rouge ou au brun foncé, selon son origine et l'âge de l'abeille (**Larbi&Hamdi,2017).**



Figure 04. Propolis **(Al Marghitas *et al.*,2013)**

2.3. Origine de propolis

Les études scientifiques ont démontré que la propolis provient de trois sources principales :

- **Source végétale :** exsudats végétaux collectés par les abeilles sous forme de résines, sécrétés par les arbres principalement impliqués dans la production de propolis **(Marcucci *et al*.,2000).**
- **Source animale :** Substances sécrétées par les abeilles, telles que la cire et la salive **(Al Marghitas *et al.*,2013).**
- **Matières additionnelles :** Éléments intégrés lors de la production de la propolis, comme le pollen, le nectar et le miel **(Al Marghitas *et al.*,2013).** La propolis a deux origines :

2.3.1. Origine interne

Selon Kustenmacher **(cité par Ferhoum, 2010),** la propolis serait une substance résineuse issue de la première phase de digestion du pollen dans un petit organe situé entre le jabot et l'intestin moyen, appelé gésier à pollen. Cette substance est ensuite régurgitée et rejetée par l'abeille, qui l'utilise au sein de la ruche comme ciment ou vernis. Toutes les cellules de la ruche, en particulier celles récemment construites, sont imprégnées de cette propolis interne avant que la reine n'y dépose ses œufs. La majorité de la propolis produite par les abeilles proviendrait de cette origine et se distingue aisément au microscope grâce aux poils et aux grains de pollen qu'elle contient **(Soltani,2017).**

2.3.2. Origine externe

La propolis est un mélange complexe de substances résineuses et gommeuses que les abeilles collectent principalement à partir des arbres, des plantes et des bourgeons d'arbres. Dans les régions au climat tempéré, comme en Europe, les abeilles recueillent ces précieuses substances sur diverses espèces d'arbres, notamment les peupliers, les bouleaux, les aulnes, les marronniers d'Inde, les frênes, les saules, les épicéas et les chênes, entre autres l'origine botanique de la propolis varie en fonction de la région géographique, de la diversité florale environnante et des préférences des abeilles lors de la collecte **(Boudra,2019).**

2.3.3. Origine algérienne

L'Algérie se distingue par une diversité florale remarquable, comprenant des espèces méditerranéennes, sahariennes et paléotropicales. Cette richesse botanique est estimée à plus de 3 000 espèces réparties dans plusieurs familles, dont environ 15 % sont endémiques, offrant ainsi une grande valeur à la pharmacopée traditionnelle **(Berreghioua,2016).**

En tenant compte de la flore présente en Algérie, il est possible de déduire que la propolis locale provient principalement du pin, qui domine les zones semi-arides, ainsi que du chêne (chêne-liège et chêne zeen) que l'on retrouve dans le nord-est du pays. D'autres sources

végétales incluent le châtaignier, le cyprès (Cupressus sp.), le casuarina et le peuplier **(Populus sp.).**



Figure 05. Composition de propolis algériennes **(Larbi& Hamdi, 2018).**

2.3.4. Composition de propolis algériennes

D'après une étude réalisée dans quatre régions différentes du pays (Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou), la propolis algérienne est constituée de cinq familles principales : les acides aliphatiques, les acides aromatiques, les esters, les flavonoïdes et les terpènes.

Tableau 06. Pourcentages des composés de la propolis algérienne **(Moudir, 2004).**

Famille	Tlemcen	Guelma	M'sila	Tizi- Ouzou
Acides aliphatiques	2,80	4,90	4.20	4.30
Acides aromatiques	3,70	3,60	2,70	8,80
Esters	17.20	9.00	9,80	2,60
Flavonoïdes	42.30	37,40	23.10	3,90
Terpènes	6.60	19.90	26.80	12.60

2.4. Méthodes de récolte de propolis

La récolte de la propolis s'effectue d'abord par l'abeille puis par l'homme **(Larbi& Hamdi, 2018).**

2.4.1. Par l'abeille

L'abeille ouvrière qui récolte la propolis est généralement âgée et commence par examiner la résine à l'aide de ses antennes **(Potier,2014).** Au début, l'abeille utilise ses mandibules pour détacher la couche résineuse, puis elle stocke la substance récolté et la façonne en petites boules dans les corbeilles à pollen situées sur sa troisième paire de pattes, après l'avoir successivement transférée de sa première à sa deuxième paire de pattes **(Preziosi,2024 ; Potier,2014**).En effet, la résine se solidifie par temps froid, ce qui oblige les abeilles à attendre qu'elle ramollisse avant

de pouvoir l'extraire des corbeilles à pollen, une opération qui peut prendre des heures. Ensuite, la résine est mélangée aux sécrétions salivaires des abeilles, riches en enzymes qui modifient sa composition, avec l'ajout d'une quantité variable de cire c'est ainsi que la propolis se forme sous sa forme connue.

L'abeille ouvrière qui a récolté la propolis est également celle qui l'utilise à l'intérieur de la ruche **(Preziosi,2024).**



Figure 06. Récolte de la propolis par raclage **(Larbi& Hamdi, 2018).**

2.4.2. Par l'homme

La récolte de la propolis peut se faire selon différentes méthodes

- ✓ **Méthode traditionnelle :** Elle consiste à racler et gratter les cadres ainsi que les parois de la ruche, de préférence lorsque la température est basse. À ce moment-là, la propolis devient plus dure et cassante, ce qui facilite son détachement du support **(Larbi& Hamdi, 2018).**
- ✓ **Méthode biotechnologique :** Cette technique repose sur l'utilisation de dispositifs spécifiques (grilles en plastique souple, en acier inoxydable, en bois ou en textile synthétique) placés sur les rayons de la ruche. Les abeilles obstruent alors les ouvertures avec de la propolis, permettant ainsi une récolte ciblée pendant les périodes de forte production et en dehors des périodes de traitement des ruches **(Larbi& Hamdi, 2018).**



Figure 07. Récolte de la propolis par grille **(Moudir, 2004).**



Figure 08. Récolte de la propolis par raclage **(Potier, 2024).**

2.5. Propriétés physico-chimiques de la propolis

Propriétés physico-chimiques de la propolis Pendant longtemps, la propolis a été considérée comme un baume ou une gomme. Ce n'est qu'en 1923, grâce aux travaux d'Alin Caillas présentés à l'Académie des sciences, que sa véritable nature a été révélée : il s'agit en réalité d'une résine **(Potier, 2024).**

Tableau 07. Diffèrent propriétés physico-chimiques de la propolis **(Boudra,2019 ; Juraj,2019)**

Propriétés physiques	Propriétés chimiques
a) Consistance Devient cassante à des températures inférieures à -15ºC devient molle et malléable autour de 30º À 60-70ºC, elle devient collante et visqueuse, commençant à fondre	a) Solubilité La propolis est partiellement soluble dans certains solvants organiques comme l'alcool, l'acétone et le chloroforme, mais un mélange de solvants est nécessaire pour dissoudre la majorité de ses composants.
b) Couleur Sa couleur varie en fonction de son origine et de son âge, allant du jaune pâle au brun foncé, voire au noir.	b) Point de fusion Son point de fusion peut s'étendre jusqu'à 100ºC ou plus.
c) Saveur et odeur Elle possède une odeur agréable et aromatique, Elle présente souvent une saveur amère, épicée et âcre,	c) Densité Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne

accompagnée d'une sensation de chaleur ou de picotement.	

2.6. Utilisation de propolis

❖ **Par l'abeille**

- La propolis possède une excellente capacité à retenir la chaleur, contribuant ainsi au maintien d'une température optimale pour le développement des abeilles et de leur progéniture. **(CuvilliIer,2015).**
- Grâce à ses propriétés antiseptiques, elle est utilisée pour préparer les cellules destinées à la ponte de la reine, garantissant ainsi un environnement stérile favorable à l'éclosion des œufs **(CuvilliIer,2015).**
- De plus, les abeilles enduisent les alvéoles de la ruche de propolis avant d'y stocker le miel et le pollen, puis les scellent avec un opercule pour assurer leur conservation **(CuvilliIer,2015).**
- Cette substance résineuse joue également un rôle dans la momification des insectes et petits rongeurs (rats, souris) qui pénètrent dans la ruche. Lorsqu'ils sont tués par piqûre et qu'ils sont trop volumineux pour être évacués, la propolis empêche leur décomposition en limitant la prolifération bactérienne, préservant ainsi l'hygiène de la ruche **(CuvilliIer,2015).**
- L'abeille utilise la propolis pour renforcer son habitat en recouvrant l'intérieur et l'extérieur de la ruche avec cette substance. Elle s'en sert également pour sceller les zones fragiles, empêchant ainsi l'humidité de s'infiltrer et de favoriser le développement des moisissures **(Segueni,2011).**
- La propolis est utilisée comme biocide par les abeilles, elle est responsable de la faible incidence des bactéries et moisissures à l'intérieur de la ruche **(Segueni,2011).**
- 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 **(Segueni,2011).**

❖ **Par l'homme**

Les utilisations de propolis sont multiples, notamment les suivantes :

A) En médicine

- Le traitement des systèmes cardiovasculaire et sanguin (anémie)
- Le système respiratoire (pour diverses infections)
- Les soins dentaires et les maladies de la peau (ulcères, eczéma, cicatrisation des plaies)

- Le traitement du cancer
- Le soutien et le renforcement du système immunitaire **(Kel,1996).**
- Le traitement du système digestif

La propolis a également été utilisée pendant des siècles pour traiter de nombreuses maladies humaines, telles que la tuberculose, l'ulcère duodénal, les troubles gastriques, ainsi que pour soulager divers types d'infections cutanées et réduire la fièvre **(Castaldo & Capass ,2002).**

B) Comme complément alimentaire chez les patients diabétiques :

La propolis aide à réguler la glycémie, réduire la résistance à l'insuline et renforcer les antioxydants, ce qui en fait un complément efficace et sûr pour soutenir le traitement du diabète de type 2 **(Afsharpour *et al*., 2019).**

C) Dans les produits cosmétiques :

Grâce à ses propriétés antibactériennes et antifongiques, la propolis est un ingrédient efficace dans les produits cosmétiques. Des études ont également démontré son effet protecteur contre les rayons solaires, renforçant ainsi son utilisation dans les écrans solaires **(Krell, 1996 ; Couteau *et al*., 2008 ; Gregoris *et al*., 2011).**

D) Les animaux de compagnie

La propolis est sans toxicité pour les animaux de compagnie et peut être ajoutée à leur alimentation **(Donadieu, 2008).**

E) Dans les matériaux d'emballage

La propolis renforce l'emballage alimentaire actif par ses propriétés antimicrobiennes et antioxydantes, surtout avec le chitosane.

2.7. Toxicité

Les études sur la toxicité de la propolis sont limitées. Cependant, certaines recherches indiquent que cette résine n'est pas toxique pour l'homme et les animaux lorsqu'elle est consommée en quantités modérées. L'administration orale d'un extrait éthanolique de propolis (EEP) à des doses comprises entre 200 et 1220 mg/kg/jour pendant 7 à 10 jours n'a révélé aucun effet nocif. De plus, l'incorporation de l'extrait alcoolique de propolis dans l'eau potable, administré à des rats et des souris à des doses de 1875, 2470 et 4000 mg/kg/jour sur des périodes de 30, 60 et 90 jours respectivement, n'a montré aucun signe de toxicité **(Boudra, 2019).**

2.8. Conservation

La propolis se conserve relativement bien sans nécessiter de précautions particulières. Toutefois, il est recommandé de la stocker dans des récipients opaques, hermétiquement fermés et à l'abri de la lumière et de la chaleur, idéalement à 4 °C. Des études ont montré que son

stockage à long terme ne réduit ni sa teneur en composés chimiques ni ses propriétés biologiques. Cependant, pour en tirer le meilleur bénéfice, il est préférable de l'utiliser aussi fraîche que possible. Par ailleurs, la lyophilisation, qui consiste en une dessiccation par congélation rapide à basse température suivie d'une sublimation sous vide, permet d'obtenir une poudre poreuse pouvant être conservée indéfiniment sous vide tout en préservant ses propriétés biologiques **(Boudra, 2019).**

3. Différentes activités biologiques des extraits éthanolique et acétonique

3.1. Activités antibactériennes

La propolis est le produit apicole présentant la plus forte activité antimicrobienne. De nombreuses études scientifiques ont confirmé son efficacité antibactérienne, démontrée aussi bien contre les bactéries à Gram positif que Gram négatif, qu'elles soient aérobies ou anaérobies. Bien que sa composition varie considérablement selon son origine botanique, toutes les variétés étudiées ont révélé une puissante action antibactérienne **(Soltani,2017).**

L'activité antibactérienne de la propolis peut être évaluée à deux niveaux : le premier est son action directe sur les micro-organismes, et le second est la stimulation du système immunitaire, entraînant l'activation des défenses naturelles de l'organisme **(Przybyłek &Karpinski, 2019).** Les études indiquent que le mode d'action de la propolis inclut une influence sur la perméabilité de la membrane cellulaire des micro-organismes, une perturbation du potentiel membranaire, une réduction de la production d'adénosine triphosphate (ATP) et une diminution de la mobilité bactérienne et d'autres activités aussi. De manière générale, l'activité antimicrobienne de la propolis est plus marquée contre les bactéries Gram-positives que contre les Gram-négatives. Cette différence s'explique par la structure spécifique de la membrane externe des bactéries Gram-négatives et par la production d'enzymes hydrolytiques dans la structure de la protéine de la membrane externe des bactéries Gram-négatives qui dégradent les composants actifs de la propolis **(Przybyłek &Karpinski, 2019).**

En résumé, plusieurs mécanismes possibles associés à l'efficacité antibactérienne de la propolis ont été proposés :

- Artépilline C Inhibe la voie NF-kappa B, ce qui réduit la production de prostaglandine E2 et d'oxyde nitrique, lui conférant ainsi une action antibactérienne et anti-inflammatoire.
- Acides phénoliques (comme l'acide cinnamique) Inhibent la production d'ATPase, perturbant ainsi la division cellulaire et la formation des biofilms.
- Flavonoïdes Jouent un rôle clé dans l'activité antibactérienne en agissant sur plusieurs niveaux Inhibition de la synthèse des acides nucléiques (ARN et ADN) en ciblant l'ADN gyrase.

Affaiblissement de la membrane cytoplasmique, entraînant une fuite des composants intracellulaires. Blocage de la synthèse des protéines bactériennes en interférant avec les ribosomes et l'enzyme ARN polymérase.

- Compromission de la perméabilité de la membrane
- Réduction de la résistance bactérienne **(Almuhayawi, 2020).**

Les recherches indiquent que la propolis possède une large activité antibactérienne, que ce soit seule ou en association avec des antibiotiques, ce qui en fait une option prometteuse pour combattre les infections bactériennes **(Almuhayawi, 2020).**



Figure 09. Le mécanisme de l'activité de la propolis contre les bactéries **(Hashimoto *et al.*, 2007)**

3.2. Activités antioxydantes

L'oxydation est un processus vital nécessaire à la production d'énergie dans l'organisme, mais elle peut entraîner la formation de radicaux libres, responsables du vieillissement cellulaire et de maladies graves comme le cancer, les maladies cardiovasculaires et neurodégénératives. C'est pourquoi l'industrie pharmaceutique étudie de plus en plus les composés antioxydants pour limiter ces effets néfastes. La propolis est reconnue pour ses propriétés antioxydantes. De nombreuses études ont montré que son activité antioxydante est comparable à celle de l'acide ascorbique, ce qui en fait un candidat prometteur pour une utilisation pharmaceutique en tant qu'antioxydant.

Cette activité est principalement attribuée aux flavonoïdes présents dans la propolis, qui jouent un rôle clé dans la neutralisation des radicaux libres et la protection des membranes cellulaires contre la peroxydation lipidique. Parmi les composants actifs de la propolis, l'ester phénéthylique de l'acide caféique se distingue par sa capacité à inhiber la production des espèces réactives de l'oxygène (ERO), qui sont des radicaux libres nocifs **(Preziosi,2024).**

Pour évaluer l'activité antioxydante de la propolis, deux paramètres principaux ont été mesurés

- Le taux de glutathion (GSH), un antioxydant naturel produit par l'organisme pour lutter contre le stress oxydatif.
- Le marqueur TBARS, utilisé pour évaluer le niveau de stress oxydatif dans le corps.
- Les résultats obtenus ont montré un effet significatif, avec une augmentation de 175 % du taux de GSH et une diminution de 67 % du taux de TBARS chez les individus traités avec la propolis, confirmant ainsi son efficacité en tant qu'antioxydant puissant **(Preziosi,2024).**

3.3. Activité anti-inflammatoire

La propolis exerce une action anti-inflammatoire en inhibant l'activité des cyclo-oxygénases de manière dose-dépendante. Ces enzymes jouent un rôle clé dans la production des prostaglandines, molécules impliquées dans le processus inflammatoire. De plus, les extraits de propolis stimulent l'activité des macrophages, limitent l'agrégation plaquettaire et réduisent la synthèse des éicosanoïdes, favorisant ainsi les mécanismes naturels de défense de l'organisme. Cette action anti-inflammatoire est principalement attribuée à la présence d'acide caféique et d'ester phénéthylique de l'acide caféique dans la propolis **(Boudra, 2019).**

Partie Experimentale

Materiel

Et méthodes

II. Materiel et méthodes

1. Cadre et objectifs de l'étude

Ce travail a pour objectif d'évaluer l'activité antibactérienne et antioxydante de la mixture des extraits éthanoliques et acétoniques de la propolis. L'étude a été réalisée au laboratoire de microbiologie de l'université Echahid cheikh Larbi Tébessi, Faculté des sciences de la nature et de la vie, durant une période de trois mois (Février, Mars et Avril 2025).

Notre étude a eu pour objectifs de :

- ✓ Evaluer le rendement d'extraction de la propolis par macération avec les différents solvants (Éthanolique et Acétonique).
- ✓ Étude de l'activité antibactérienne des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur: *Staphylococcus aureus, pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Klebsiella pneumonie* par méthode de diffusion sur gélose en utilisant la technique des puits.
- ✓ Étude de l'activité antibactérienne des différentes molécules conventionnelles synthétiques (ATBs) sur les mêmes souches bactériennes et la détermination du profile de sensibilité aux antibiotiques.
- ✓ Étude comparative de l'activité antibactérienne entre les extraits bioactifs
- ✓ Étude comparative de l'activité antibactérienne des extraits bioactifs par rapport aux antibiotiques.
- ✓ Étude de l'activité antibactérienne de la mixture des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur les mêmes souches bactériennes
- ✓ Étude de l'activité antioxydante des extraits (Éthanolique et Acétonique) et de la mixture par la méthode de piégeage du radical DPPH (2,2- diphenyl-1-picrylhydrazyle).
- ✓ Détermination du pourcentage d'inhibition des radicaux libres de propolis.
- ✓ Mesurer de la concentration inhibitrice (IC50) de la propolis et la comparer avec celle de la vitamine C.

2. Matériel

2.1. Présentation de la propolis

Les abeilles récoltent des résines à partir des bourgeons, des sécrétions végétales et d'autres parties des plantes, puis les mélangent avec leurs enzymes salivaires et de la cire d'abeille, ce qui conduit à formation de la propolis. Sa composition chimique varie en fonction des continents, des régions et des types de plantes utilisées pour sa production. Malgré cette

diversité de composition, la propolis possède des activités biologiques similaires, notamment des propriétés antibactériennes, antifongiques, antivirales, antiparasitaires, ainsi que des effets anti-inflammatoires, antiprolifératifs et antioxydants **(Juraj, 2019).**



Figure 10. Propolis **(photo personnelle,2025)**

La propolis est une substance résineuse naturelle, utilisée par l'abeille pour protéger sa ruche. Selon les origines végétales La propolis caractérisé par une odeur balsamique et une couleur variable. Elle est généralement composé d'environ 50% de résines (contenant les composés polyphènoliques), 30% de cires et d'acides gras, 10% d'huiles essentielles, 5% de pollen et 5% de matières organiques et minérales diverses ; Dans des proportions différentes la propolis contient notamment tels principaux composants ; des acides phénoliques, des flavonoïdes, des cétones, des aldéhydes, des chalcones, des dihydrochalcones, des terpénoïdes, des acides aminés, des acides aliphatiques, des esters, des acides aromatiques, des glucides, des vitamines, des minéraux et également de la cire et les sucres **(Larbi & Hamdi, 2018 ; Soltani, 2017).** De plus, la propolis est connue comme une source riche en éléments essentiels tels que le magnésium (Mg), le nickel (Ni), le calcium (Ca), le fer (Fe), le zinc (Zn), le césium (Cs), le manganèse (Mn), l'argent (Ag), le cuivre (Cu), l'aluminium (Al), le vanadium(V), ainsi qu'en vitamines B, C et E. Ainsi que la provitamine A, qui se convertit en vitamine dans l'organisme **(Larbi & Hamdi, 2018 ; Soltani, 2017).**

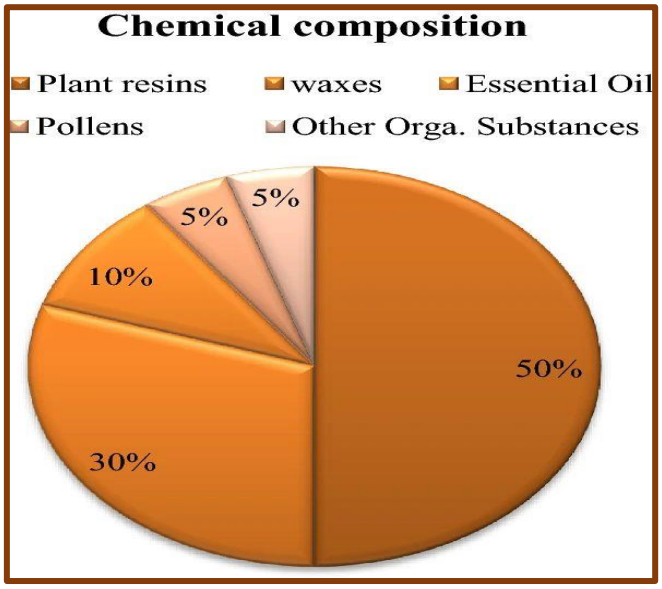


Figure 11. Composition chimique de propolis **(Hossain *et al*., 2022)**

2.2. Récolte de la propolis

La propolis est d'abord récoltée par l'abeille, puis par l'homme la collecte se fait soit au début de la saison, c'est-à-dire au printemps, soit, le plus souvent, à la fin de la miellée ou l'approche de l'automne, lorsque la colonie commence ses préparatifs pour l'hivernage. Le moment choisi sera en journée, pendant les heures les plus chaudes. L'essence d'arbre principale produisant la propolis est le peuplier, mais d'autres espèces, comme les conifères, l'aulne, le bouleau et le chêne, en fournissent également. La propolis est récoltée durant tout l'été jusqu'à à la fin de l'automne, par les abeilles butineuses. Elles trouvent cette substance sur les arbres à résine, au niveau des bourgeons ou de l'écorce de certains arbres (peuplier, boulot, hêtre, écorce des pins, sapin). L'abeille attrape la résine avec ses pattes avant et après remodelage elle place la propolis au niveau de ses pattes arrière afin de faciliter le transport jusqu'à la ruche. C'est un travail long et fastidieux au cours duquel l'abeille réalise une boule de propolis. Une fois rapportée à la ruche, les abeilles ouvrières vont étirer cette pelote pour en faire un fil. Elles vont y ajouter de la cire et des secrétions salivaires pour obtenir la propolis. L'abeille se sert de la propolis pour renforcer leur habitat, en enduisant de cette substance l'intérieur et l'extérieur de l'habitacle mais également pour colmater les zones de fragilité afin d'éviter l'apparition de moisissures dues à l'humidité **(Larbi & Hamdi, 2018 ; Soltani, 2017).**

2.2.1. Région de la récolte

La propolis (OKBOR) a été achetée à partir d'un apiculteur de la région de Bouandas (Wilaya de Sétif) **(Tableau 03).**

Tableau 08. Présentation de matière première

Abréviation de l'échantillon	La propolis
Willaya	Sétif
Commune	Bouandas
Couleur	Marron fonce
Poids	g120

2.3. Isolats bactériens

Pour évaluer l'activité antibactérienne de deux types d'extraits de la propolis, des isolats bactériens de ***Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Escherichia Coli*** *et* ***Klebsiella pneumonie,*** collectés à partir de la pathologie infectieuse humaine ont été utilisés pour tester nos extraits ainsi que nos antibiotiques.

Tableau 09. Isolats des bactéries collectés à partir des différentes localisations infectieuses

Ordre	Souche	Origine
01	*Escherichia coli*	**Infection digestive**
02	*Escherichia coli*	**Infection digestive**
03	*Escherichia coli*	**Infection digestive**
01	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
02	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
03	*Pseudomonas aeruginosa*	**Infection urinaire**
01	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**
02	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**
03	*Staphylococcus aureus*	**Infection cutanée**
01	*Klebsiella pneumonie*	**Infection hépatique**

2.4. Solvants

Différents solvants ont été utilisés pour réaliser les extractions par macération ainsi que les différentes dilutions des extraits pour l'étude de l'activité antibactérienne et antioxydantes (Figure 03).



Figure 12. A , Ethanol. **B,** DMSO. **C,** Acétone. **D,** Méthanol

2.5. Milieux de culture

- Gélose nutritive : Milieu riche pour conserver les souches.
- Milieu Chapman : Milieu sélectif pour Staphylococcus aureus
- Milieu Muller Hinton : Milieu pour étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et aux antibiotiques et aux extraits de plantes.
- Milieu Hektoen + Additif : Milieu sélectif différentiel des bactéries entéro-pathogènes



Figure 13. Milieux de culture **A :** Chapman **; B :** Gélose nutritif **; C :** Muller Hinton **; D :** Gélose Hektoen + Additif **(photo personnelle, 2025).**

2.6. Appareillages

- Spectrophotométrie UV-VISIBLE1700(Pharma-S-pecSHIMADZU)
- Evaporateur rotatif (Rota- vap).
- Étuve Bactériologique pour l'incubation des cultures bactériennes.
- Balance de précision pour mesurer des poids.

- Agitateur magnétique : préparation des milieux de culture et agiter les mélanges de propolis et solvants.
- Autoclave : autoclavage des milieux de culture lors de la préparation.
- Stérilisateur : pour stérilisation les matériaux (métalliques ou en ver).
- Vortex

➢ **Evaporateur rotatif (Rota- vap) :**

Est un appareil de laboratoire utilisé pour évaporer et récupérer les solvants d'un échantillon de manière efficace et douce, à basse température et sous vide, sans altérer les composants sensibles à la chaleur.

Principaux composants de l'évaporateur rotatif :

1) **Moteur de rotation :** Fait tourner le ballon contenant le liquide, facilitant une évaporation uniforme.
2) **Ballon d'évaporation :** Contient l'échantillon avec le solvant à évaporer.
3) **Bain-marie chauffant :** Chauffe doucement le ballon. La température est réglable selon le solvant utilisé.
4) **Condenseur (réfrigérant) :** Contient des serpentins parcourus par de l'eau froide pour Condenser la vapeur du solvant.
5) **Ballon de réception :** Récupère le solvant condensé après évaporation.
6) **Pompe à vide (système de vide) :** Réduit la pression à l'intérieur du système, permettant l'évaporation à basse température.
7) **Support avec système de levage :** Permet de monter et descendre facilement le ballon dans le bain-marie en toute sécurité.

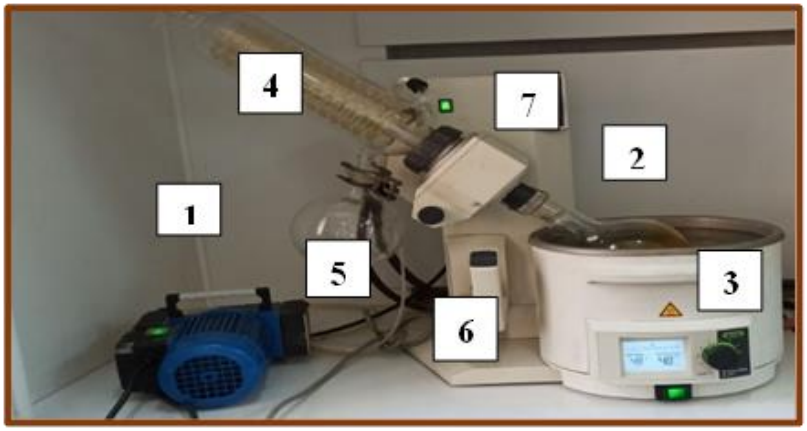


Figure 14. Évaporateur rotatif (**Photo personnelle, 2025)**

- **Spectrophotométrie UV-VISIBLE**

Est un appareil utilisé pour mesurer l'absorbance (ou la transmission) d'une lumière à une longueur d'onde précise lorsqu'elle traverse une solution. Il permet ainsi de quantifier la concentration d'une substance dans un échantillon, en s'appuyant sur la loi de Beer-Lambert.

Composants principaux :

- **Source de lumière (lampe tungstène ou deutérium)**
- **Monochromateur (sélectionne une longueur d'onde précise)**
- **Cuvette contenant l'échantillon**
- **Détecteur (mesure l'intensité de la lumière transmise)**
- **Affichage des résultats (en absorbance ou transmission)**

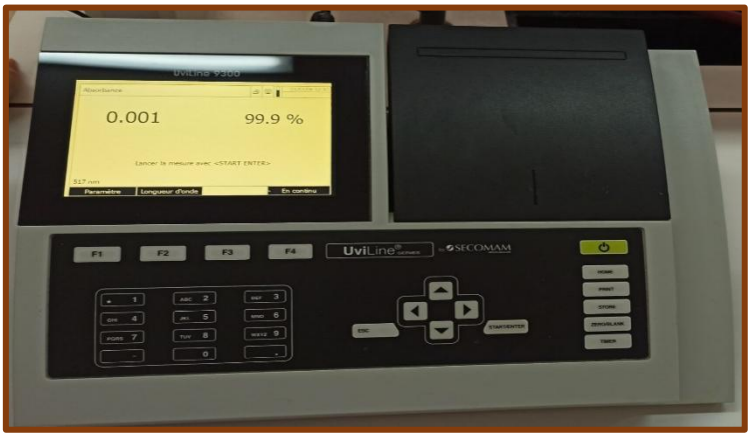


Figure 15. Spectrophotométrie UV-VISIBLE (**Photo personnelle, 2025).**

2.7. Verreries et petits consommables

Représentent des éléments essentiels dans le travail de laboratoire, contribuant à l'exécution des expériences avec précision et efficacité ;

I. Verreries

- ✓ Pipettes pasteur stériles
- ✓ Tubes à essai stériles
- ✓ Flacons stériles
- ✓ Béchers
- ✓ Eprouvettes graduées de 25,100,250 ml
- ✓ Micropipette de 10-100µl, 100-1000 µl
- ✓ Spatule
- ✓ Tubes secs de conservation
- ✓ En verre et en plastic
- ✓ Entonnoir

II. Petits consommables

- ✓ Écouvillons bactériologiques
- ✓ Disques d'antibiotiques
- ✓ Boîtes de pétri en plastiques
- ✓ Papiers Wattman
- ✓ Papier aluminium
- ✓ Papier absorbante
- ✓ Emboue de différents calibres et différents couleurs

2.8. Disques d'antibiotiques

Différentes molécules des antibiotiques commercialisés sous forme de disques chargés ont été utilisées pour étudier la sensibilité de nos isolats vis-à-vis de ces molécules.

- Rifampicin RD 30 ug
- Cefoxitin FOX 30 ug
- Fusidic acide FC 10 ug
- Gentamicin CN 10 ug
- Erythromycin 15 ug
- Amoxicillin clavulanic acid AUG 30 ug
- Cefoxatim CTX 30 ug
- Aztreonam ATM 30 ug
- Ticarcilline TI



Figure 16. Disques des antibiotiques **(Photo personnelle, 2025)**

3. Méthodes

3.1. Extraction des substances bioactifs à partir de la propolis

3.1.1. Protocole d'extraction

L'extraction est une étape du processus de transformation de la propolis en un extrait. Dans cette étude, la propolis a été découpée en fines particules afin d'optimiser le processus d'extraction.

L'extraction des substances bioactives de la propolis a été réalisée en utilisant deux solvants :(éthanol absolu et acétone). Deux extraits ont été obtenus, un extrait éthanolique (EEP), et un extrait acétonique (EAP). Ce protocole se déroule en trois étapes essentielles : **Macération**, **Filtration**, et **Évaporation (Soltani, 2017).**



Figure 17. Différentes étapes de l'extraction **(Photos personnelle, 2025)**

3.1.2. Extraction éthanolique absolu

Pour réaliser l'extraction éthanolique absolue, 10 grammes de chaque échantillon de propolis ont été macérés avec 100 ml d'éthanol absolu à température ambiante. Le mélange a ensuite été agité pendant 20 minutes, suivi d'une période de macération de 72 heures. Après cette étape, le mélange a été filtré à l'aide de papier filtre Wattman. Le filtrat obtenu a ensuite été évaporé à une température de 45 °C pendant 30 minutes. La poudre résultante est alors conservée à 4 °C à l'obscurité jusqu'à utilisation.

3.1.3. Extraction acétonique absolu

Pour l'extraction acétonique, 10 grammes de chaque échantillon de propolis ont été macérés avec 100 ml d'acétone absolue. Le mélange a été agité pendant 20 minutes à température ambiante, puis laissé à macérer pendant 72 heures. Après cette période, le mélange a été filtré à l'aide de papier filtre Wattman. La phase liquide obtenue a ensuite été évaporée à 45 °C pendant 30 minutes pour concentrer les composés bioactifs.

3.2. Calcul du rendement de l'extraction

Le rendement : C'est le pourcentage de la masse de l'extrait obtenue après évaporation du solvant et représente la masse initiale de la matière à extraire (propolis) **(Djabou *et al.*, 2006).** Pour déterminer ce taux d'extraction, on utilise la formule suivante :

$$R\ (\%) = M/M0 \times 100$$

- **M0** : représente la masse du matériel traité.
- **M** : est la masse de l'extrait.
- **R** : désigne le rendement en pourcentage.

Cette méthode permet d'évaluer l'efficacité du processus d'extraction.

3.3. Conservation des souches

Les souches bactériennes qui ont été préalablement identifiées ont été conservées dans des tubes de gélose, en utilisant une technique de piqûre centrale en profondeur

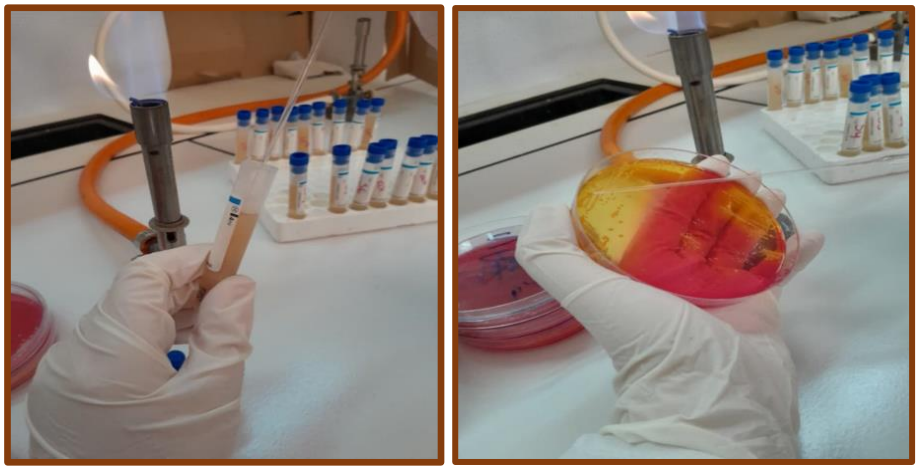


Figure 18. Différentes étapes de conservation des souches bactérienne collectées **(photo personnelle, 2025)**

3.4. Evaluation de l'activité antimicrobienne des différents extraits

3.4.1. Récupération des souches conservées et préparation de la suspension bactérienne

Dans le but d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de propolis (Acétonique et Éthanolique), les souches conservées ont été réisolées sur des milieux spécifiques : le milieu de type Chapman a été utilisé pour les souches de ***Staphylococcus aureus***, le milieu Hektoen pour ***Escherichia coli,*** et les géloses nutritives pour ***Pseudomonas aeruginosa.*** Cette méthode a permis d'obtenir des cultures jeunes et pures, qui ont été striées à l'aide d'une pipette pasteur, puis incubées à 37°C pendant 24 heures.

Par la suite, une suspension bactérienne a été préparée et ajustée à une densité optique de 0,5 McFarlane, correspondant à 1 à 2 × 10^8 CFU/ml.



Figure 19. Différentes étapes de récupération des souches bactérienne conservées (**Photo personnelle, 2025)**

3.4.2. Préparation des solutions mères et différentes dilutions d'extraits

Pour nos tests, nous avons préparé des solutions mères à une concentration. Ensuite, des dilutions en série ont été effectuées à partir de ces solutions mères, avec des rapports de dilution de **1/10, 1/20, 1/40** et **1/80** aboutissant à des concentrations finales de **10, 5, 2,5 et 1,25 mg/ml**.



Figure 20. Préparation des solutions mères et différentes dilutions des extraits **(Photo personnelle, 2025)**

3.5. Activité antibactérienne de l'extrait de propolis par méthode des puits

Une suspension bactérienne a été répartie en stries serrées sur une surface brillante de Mueller-Hinton en utilisant un écouvillon, en effectuant des mouvements de haut en bas. Répétez cette opération deux fois en faisant pivoter la boîte de **60°** a fin de croiser les stries. N'oubliez pas de faire tourner l'écouvillon lui-même pour finaliser l'inoculation en le faisant passer le long de la périphérie de Milieu Mueller-Hinton.

Des puits ont ensuite été réalisés pour accueillir **100 µl** de divers extraits à différentes dilutions (**1/10, 1/20, 1/40** et **1/80**), Après avoir laissé la boîte à température ambiante pendant **15 minutes**, celle-ci a été incubée à **37°C** pendant **24 heures**. Le contrôle négatif était constitué de **DMSO**, tandis que le contrôle positif était représenté par des antibiotiques.

3.6. Lecture et interprétation des résultats

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

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

Tableau 10. Type d'inhibition en fonction des diamètres de la zone d'inhibition **(Mutai *et al*., 2009).**

Type d'inhibition	Zone d'inhibition
Non inhibitrice	< 10 mm
Légèrement inhibitrice	10 mm ≤ diamètre < 16 mm
Modérément inhibitrice	16 mm ≤ diamètre < 28 mm
Fortement inhibitrice	Diamètre ≥ 28 mm
Très fortement inhibitrice	D≥ 30 mm

3.7. Étude de la sensibilité des souches bactériennes aux antibiotique

Ce test a été réalisé pour étudier l'antibiogramme standard des germes utilisés et le comparer à l'effet de nos extraits **(Wilkinson, 2006).** Il a été réalisé selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode de Kirby-Bauer). Permet de déterminer l'efficacité de divers antibiotiques commerciaux à inhiber la croissance des bactéries étudiées.

Les souches bactériennes ont été cultivées sur milieu nutritif, puis des suspensions ont été préparées et standardisées à une densité optique équivalente au standard **0,5** de McFarland, soit environ **1** à **2** × $\mathbf{10^8}$ UFC/mL. L'ensemencement a été réalisé sur gélose Mueller-Hinton par méthode d'écouvillionage. La suspension bactérienne a été étalée uniformément sur toute la surface de la gélose en effectuant des passages croisés selon trois directions différentes, en tournant la boîte à 60° à chaque fois, afin d'assurer une répartition homogène. Un passage final a été effectué en périphérie pour compléter l'ensemencement. Une gamme de disques imprégnés d'antibiotiques ciblant particulièrement les souches été ensuite déposée sur la surface ensemencée. Les boîtes ont été incubées à 37°C pendant 24 heures.

Après incubation, les diamètres des zones d'inhibition autour de chaque disque ont été mesurés en millimètres. Ces résultats ont permis d'évaluer la sensibilité des différentes souches aux antibiotiques testés, et de les comparer à l'effet antibactérien des extraits de propolis étudiés.

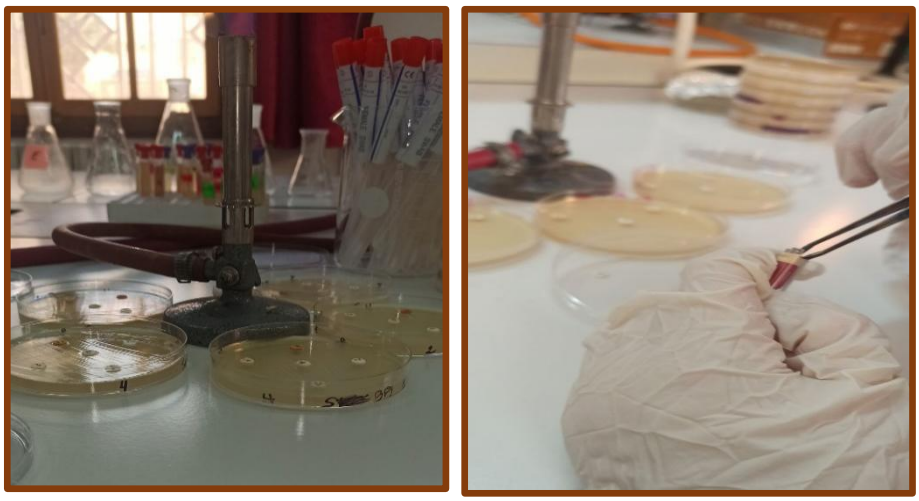


Figure 21. Application des disques d'antibiotiques **(Photos personnelle, 2024)**

3.8. Lecture et interprétation des résultats de l'antibiogramme des différents souches testés

Après la mesure des diamètres des zones d'inhibition, nos résultats ont été interpréter en utilisant la table réaliser par le comité CLSI, 2018.

Tableau 11. Table d'interprétation des diamètres des zones d'inhibition enregistrer avec différents antibiotiques

ATBs	Diamètres des zones d'inhibition		
	S	I	R
Rifampicine S	≥15	13-14	≤12
Erythromycine S	≥23	14-22	≤13
Acide Fusidique S	≥21	16-20	≤15
Gentamicine S	≥15	13-14	≤12
Cefoxitine S	≥22	17-20	≤21
Cefoxitine E	≥18	15-17	≤14
Cefotaxim E	≥26	23-25	≤22
Amoxiciline E	≥18	14-17	≤13
Gentamicine E	≥15	13-14	≤12
Aztréonam E	≥21	18-20	≤17
Aztréonam P	≥ 22	16-21	≤ 15
Ticarciline P	≥24	16-23	≤ 15
Colistine P	≥15	14-15	≤14

3.9. Evaluation de l'activité antioxydante des différents extraits

3.9.1. Test DPPH

L'activité antiradicalaire des extraits de propolis a été évaluée dans ce travail en utilisant deux types d'extraits (éthanolique et acétonique), ainsi que leur mixture. L'évaluation a été réalisée in vitro à l'aide de la méthode de piégeage du radical libre DPPH (2,2-diphényl-1-picrylhydrazyle)**,** afin d'estimer le pouvoir antioxydant de ces extraits.

Principe

Le DPPDH fut l'un des premiers radicaux libres utilise pour étudier la relation structure-activité antioxydant des composes phénoliques **(Blois, 1958 ; Brand *et al*., 1995).** Il possède un électron non apparie sur un atome du pont d'azote **(Popovici *et al*., 2009).** La réduction du radical libre DPPH par un antioxydant peut être suivie par spectrométrie UV Visible, en mesurant la diminution de l'absorbance à 517 nm provoquée par les antioxydants **(Molyneux, 2004).** En présence des piégeurs de radicaux libres, le DPPH de couleur violette (Figure 18) se

réduit en 2.2 Diphenyl- 1- picryl hydrazine de couleur jaune selon la réaction suivante : **(Maataoui *et al*., 2006).**

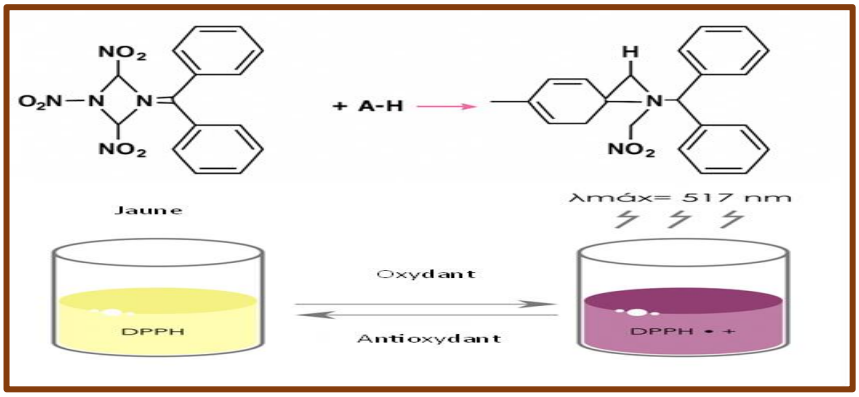


Figure 22. Réaction de test DPPH (2.2 Diphenyl 1 picrylydrazyl) **(Škulcová et al., 2018)**

3.9.2. Mode opératoire

Selon la méthode décrite par **Burits et Bucar (2000)**, 25µl de chacune des solutions acétonique et éthanolique et leur mixture de propolis testée à différentes concentrations (200µg/ml, 400µg/ml,600µg/ml, 800 µg/ml et 1000µg/ml) sont mélangées avec 2,5ml d'une solution méthanolique de DPPH (0,004%) qui est préparée par la solubilisation de 0,004g de DPPH poudre dans 100ml de Méthanol. Pour déterminer la cinétique de la réaction, l'absorbance a été lue à 517 nm à 30 min. Pour des fins de comparaison, l'inhibition du radical libre DPPH par la vitamine C a été également analysée avec les mêmes concentrations et dans les mêmes conditions. Tous les essais ont été effectués en triple.



Figure 23. Test de l'activité antioxydante des extraits de propolis **(Photos personnelles, 2025)**

3.9.3. Détermination de pourcentage d'inhibition

Le pourcentage d'inhibition est calculé à partir de l'équation suivante :

$$\mathbf{AA}\ (\%) = \frac{\mathbf{Abs\ (blanc)} - \mathbf{Abs\ (échantillon)}}{\mathbf{Abs\ (blanc)}}$$

AA : activité antiradicalaire, en %.

Abs (blanc) : absorbance du DPPH dissout dans le méthanol.

Abs (échantillon) : absorbance de l'échantillon (Extrait de propolis).

3.9.4. Détermination de l'IC50

La cinétique des réactions des propolis et de l'acide ascorbique avec le DPPH a été inscrite à chaque concentration examinée. A la fin des réactions, les pourcentages d'inhibition du radical DPPH en fonction des concentrations des extraits de propolis et en acide ascorbique ont été tracés pour obtenir à l'index IC50. Ce paramètre est défini comme la concentration d'antioxydant requise pour réduire 50% de la concentration initiale de DPPH **(Khoudali *et al*., 2014).** La CI50 a été déterminée graphiquement en utilisant la formule issue de la régression linéaire.

Résultats

III. Résultats

1. Extraction des substances bioactifs du Propolis par différents solvants

Grâce à l'utilisation de l'éthanol et de l'acétone comme solvants d'extraction, ainsi qu'à l'utilisation de l'évaporateur rotatif, nous avons pu obtenir des extraits variés en termes des caractéristiques physico-sensorielles comme illustré dans la **Figure 22** et le **Tableau 08.**



Figure 24. Aspect macroscopique des extraits obtenus **(photos personnelle, 2024).**

Tableau 12. Caractéristiques sensorielles des deux extraits (éthanolique et acétonique).

Extrait	Couleur	Odeur
Éthanolique absolu	Marron claire	Forte et agréable
Acétonique absolu	Marron foncé	Forte et agréable

1.1. Rendement de l'extraction par les deux solvants

Le calcul des rendements d'extraction a montré que l'extraction avec l'éthanol a donné un rendement plus élevé **(45,9%)** que celle avec l'acétone **(35,4 %) (Tableau 09).**

Tableau 13. Rendement de l'extraction des différents solvants

Type de l'extrait de propolis	Rendement de l'extrait (%)
L'extrait Éthanolique de propolis	45,9 %
L'extrait Acétonique de propolis	35,4 %

2. Récupération des souches bactériennes

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli, Staphylococcus aureus* et *Klebsiella pneumonie* ont été récupérées a partir des tubes de conservation avec succès après incubation à 37°C des milieux de culture correspondants. Une croissance bactérienne homogène a été observée pour l'ensemble des isolats.

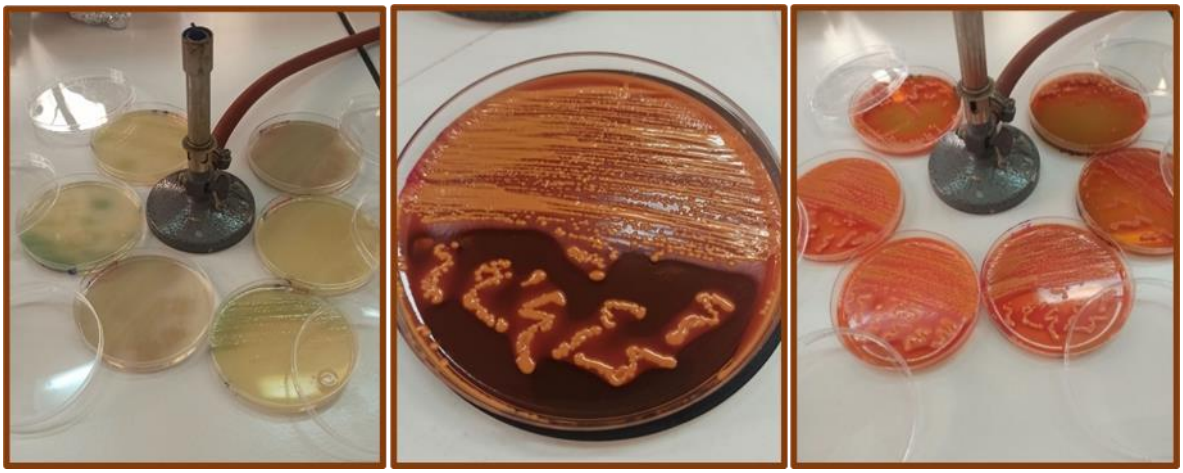


Figure 25. Isolats bactériens sur les milieux de culture appropriés **(photos personnelle, 2025)**

3. Activité antibactérienne des différents extraits

3.1. Activité antibactérienne de l'extrait acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

L'extrait acétonique absolu de propolis a montré une activité antibactérienne qui varie selon les trois souches de *Pseudomonas* et les différentes dilutions utilisées. On observe que les diamètres des zones d'inhibition ont varié entre **9 mm** et **15 mm**. Tandis que, la plus grande valeur a été enregistrée avec la souche **P1** avec la suspension mère **(15 mm),** suivie de la souche **P3** (**14 mm),** puis de la souche **P2** avec un diamètre de (**12 mm).** Ces résultats indiquent une efficacité modérée de l'extrait, surtout avec la concentration la plus élevée, tout en maintenant un effet à certaines dilutions **(Tableau 10 ; Figure 24).**

Tableau 14. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

Catégories des zones d'inhibition	**Extrait Acétonique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Pseudomonas aeruginosa***				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	0/3	2/3	3/3	1/3
>10mm et ≤ 15mm	3/3	3/3	1/3	0/3	1/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3
20>	0/3	3/3	0/3	0/3	0/3

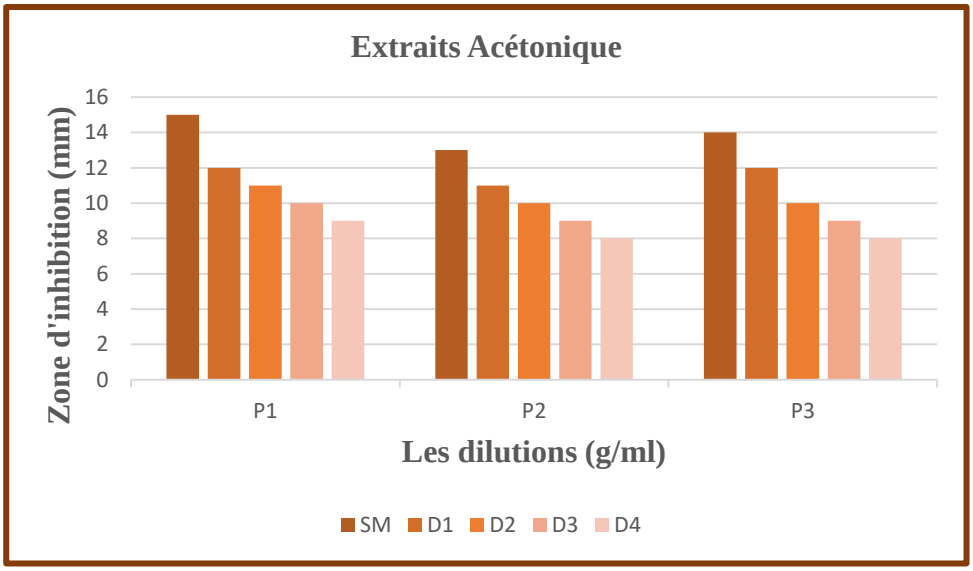


Figure 26. Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

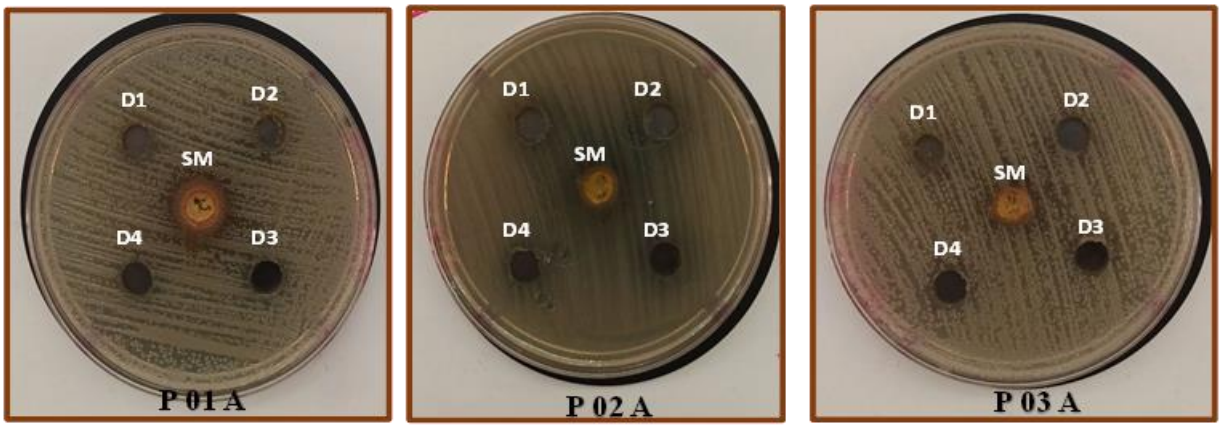


Figure 27. Zones d'inhibition de l'extrait Acétonique de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa* **(photos personnelle, 2025)**

3.2. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de la propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

L'extrait éthanolique absolu de propolis a montré une activité antibactérienne qui varie selon les trois souches de *Pseudomonas* et les différentes dilutions utilisées. On observe que les diamètres des zones d'inhibition ont varié entre **9 mm** et **13 mm**. Tandis que la plus grande valeur a été enregistrée chez la souche **P 1** avec la suspension mère **(13 mm),** suivie de la souche **P2 et** P3 avec un diamètre de **12 mm**. Ces résultats indiquent une efficacité modérée de l'extrait, surtout avec la concentration élevée **(SM)**, tout en maintenant un effet à certaines dilutions **(Tableau 11 ; Figure 26).**

Tableau 15. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

Catégories des zones d'inhibition	**Extrait Éthanolique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Pseudomonas aeruginosa***				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	0/3	2/3	1/3	3/3
>10mm et ≤ 15mm	3/3	3/3	1/3	2/3	0/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
20>	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

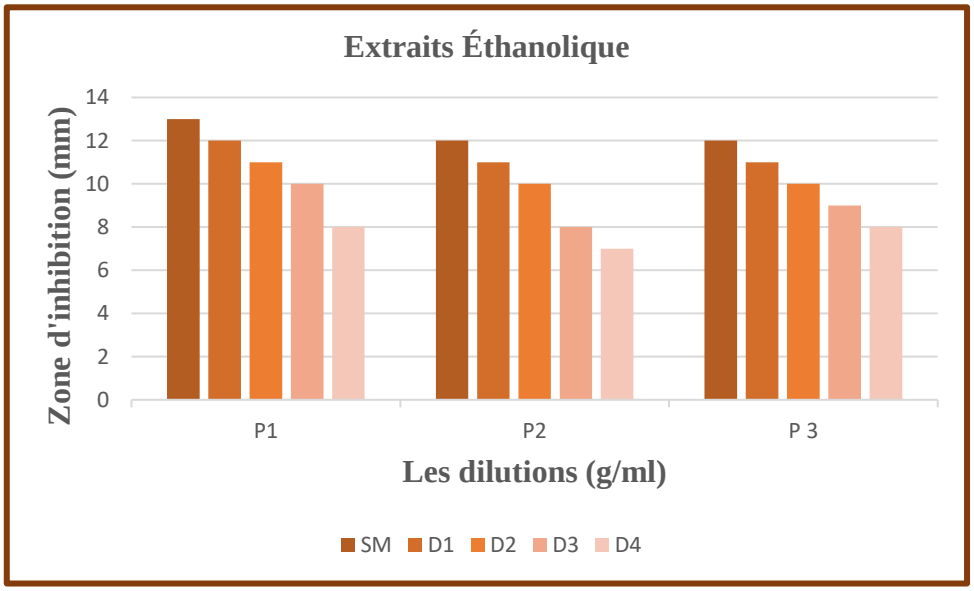


Figure 28. Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

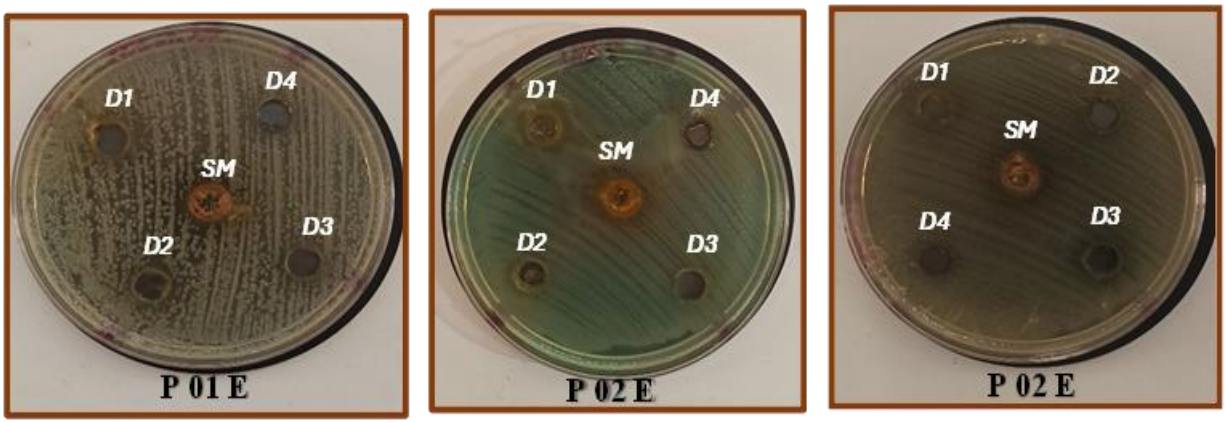


Figure 29. Zones d'inhibition de l'extrait éthanolique de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa* **(photos personnelle, 2025)**

3.3. Activité antibactérienne de l'extrait acetonique de la propolis sur *Staphylococcus aureus*

L'extrait acétonique absolu de propolis a montré une activité antibactérienne qui varie selon les trois souches de *Staphylococcus* et les différentes dilutions utilisées. On observe que les diamètres des zones d'inhibition ont varié entre **14 mm** et **30 mm**. Tandis que, la plus grande valeur a été enregistrée avec la souche **S1** avec la suspension mère **(30 mm)**, suivie de la souche **S2** avec un diamètre de **28 mm**, puis de la souche **S3** avec une valeur de **22 mm**. Cela indique que les souches utilisées présentent une très bonne sensibilité à la propolis, ce qui témoigne de l'efficacité de cette dernière sur ces bactéries, tout en maintenant un effet à certaines dilutions **(Tableau 12 ; Figure 28).**

Tableau 16. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur *Staphylococcus aureus*

Catégories des zones d'inhibition	Extrait Acétonique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Staphylococcus aureus*.				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>10mm et ≤ 15mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	1/3	1/3	2/3	2/3
20>	3/3	2/3	2/3	1/3	1/3

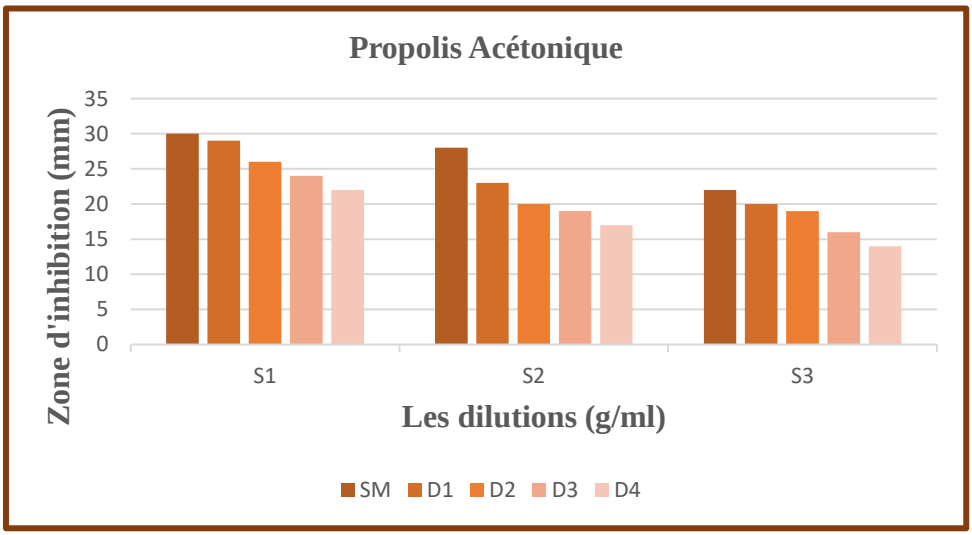


Figure 30. Activité antibactérienne de l'extrait Acétonique de propolis sur *Staphylococcus aureus*

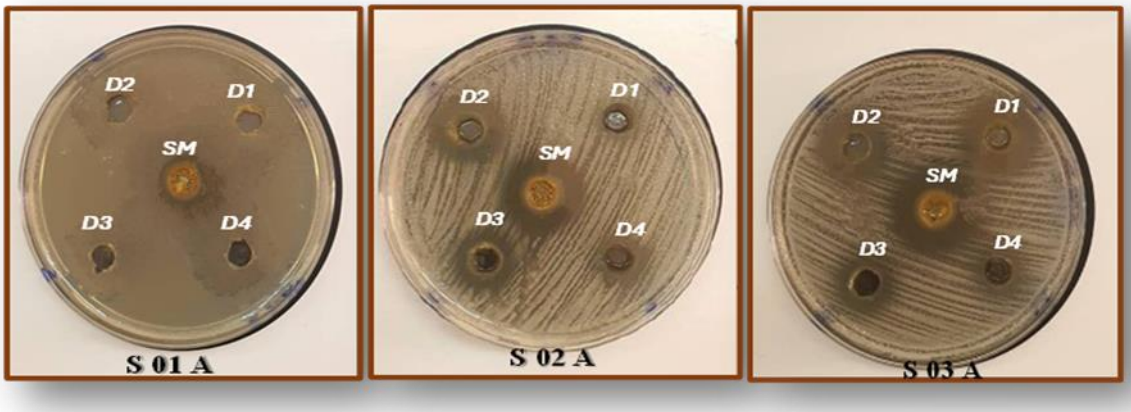


Figure 31. Zones d'inhibition de l'extrait Acetonique de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus* **(Photos personnelle, 2025)**

3.4. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de La propolis sur *Staphylococcus aureus*

L'extrait éthanolique absolu de propolis a montré une activité antibactérienne qui varie selon les trois souches de *Staphylococcus* et les différentes dilutions utilisées. On observe que les diamètres des zones d'inhibition ont varié entre **13 mm** et **29 mm**. Tandis que la plus grande valeur a été enregistrée avec la souche **S1** avec **(29 mm)**, suivie de la souche **S3** avec un diamètre de **25 mm**, puis de la souche **S2** avec une valeur de **22 mm.** Cela indique les souches utilisées présentent une bonne sensibilité à la propolis, ce qui témoigne de l'efficacité de cette dernière sur ces bactéries **(Tableau 13 ; Figure 30).**

Tableau 17. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur ***Staphylococcus aureus***

Catégories des zones d'inhibition	**Extrait Éthanolique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Staphylococcus aureus***				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>10mm et ≤ 15mm	1/3	0/3	0/3	1/3	1/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	1/3	2/3	1/3	0/3
20>	2/3	2/3	1/3	1/3	2/3

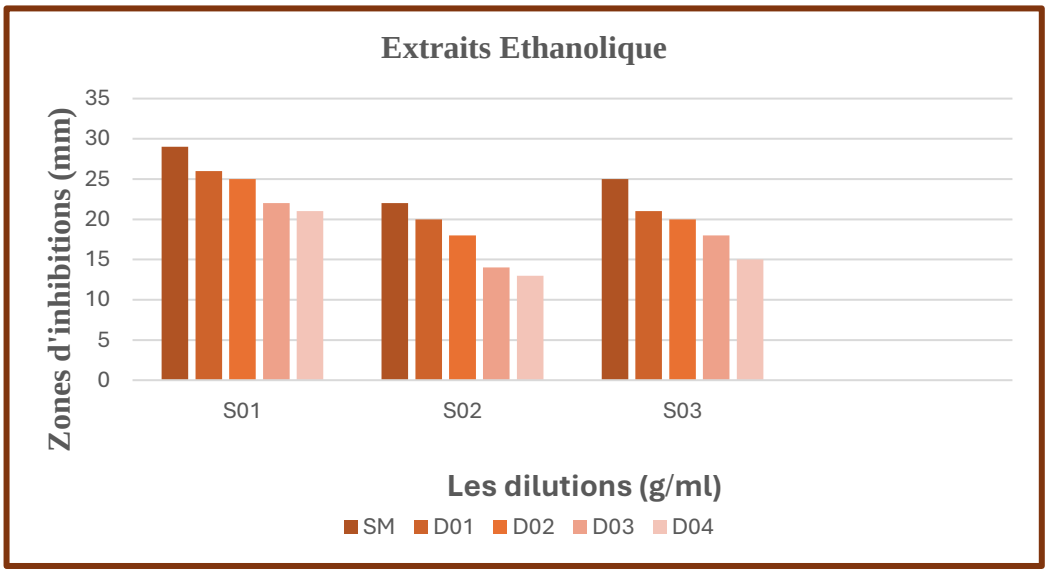


Figure 32. Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Staphylococcus aureus*

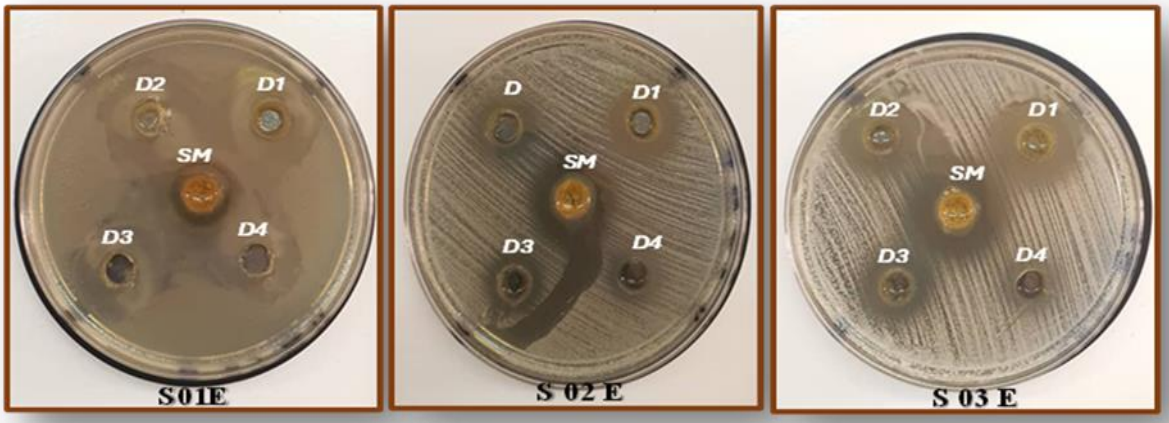


Figure 33. Zones d'inhibition de l'extrait Éthanolique de propolis enregistrées avec Staphylococcus aureus **(photos personnelle, 2025).**

3.5. Activité antibactérienne de l'extrait acétonique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

L'extrait acétonique absolu de propolis a montré une activité antibactérienne qui varie selon les trois souches d'E*scherichia coli* et une souche de *Klebsiella pneumonie* et les différentes dilutions utilisées. On observe que les diamètres des zones d'inhibition ont varié entre **11 mm** et **20 mm**. Tandis que, la plus grande valeur a été enregistrée chez la souche *E coli* **3** avec la suspension mère **(20 mm)**, suivie de la souche *E coli* **2** et E coli **1** avec des diamètres (**19 mm** et **16 mm)** respectivement. Un diametre de **12 mm** a ete enregistre avec la souche *Klebsiella*. Ces résultats indiquent une efficacité modérée de l'extrait, surtout à concentration élevée, tout en maintenant un effet de certaines dilutions **(Tableau 14 ; Figure 32).**

Tableau 18. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Acétonique de propolis sur ***Escherichia coli et Klebsiella pneumonie***

Catégories des zones d'inhibition	**Extrait Acétonique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie***				
	Suspension mère	**Dilution 1/2**	**Dilution 1/4**	**Dilution 1/8**	**Dilution 1/16**
≤6mm	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**
>6mm et ≤ 10mm	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**
>10mm et ≤ 15mm	**1/4**	**3/4**	**4/4**	**4/4**	**4/4**
>15mm et ≤ 20mm	**3/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**
20>	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**	**0/4**

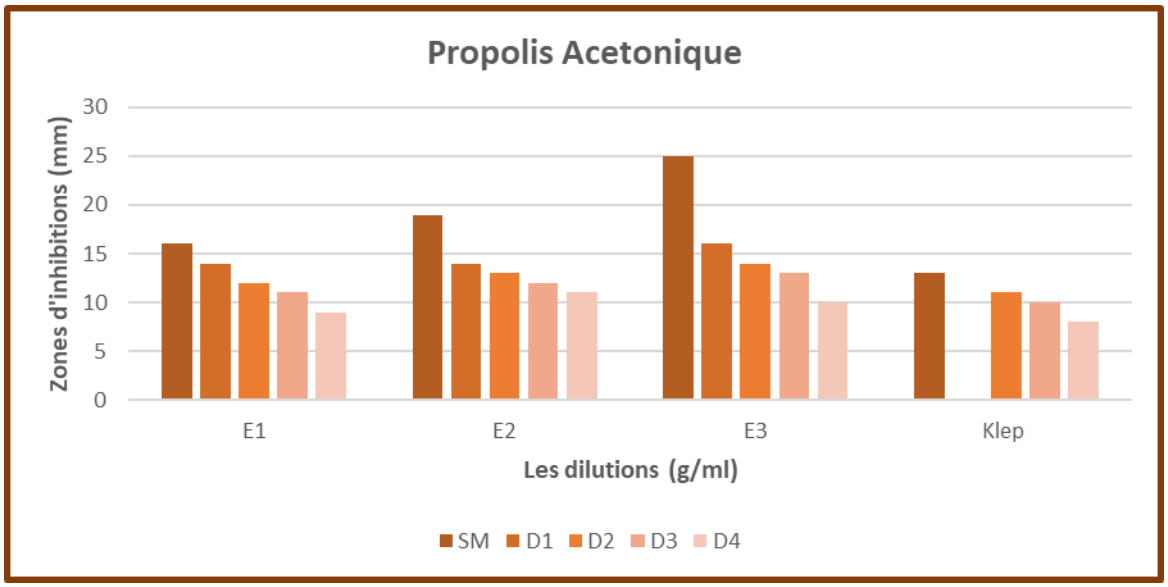


Figure 34. Activité antibactérienne de l'extrait acétonique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

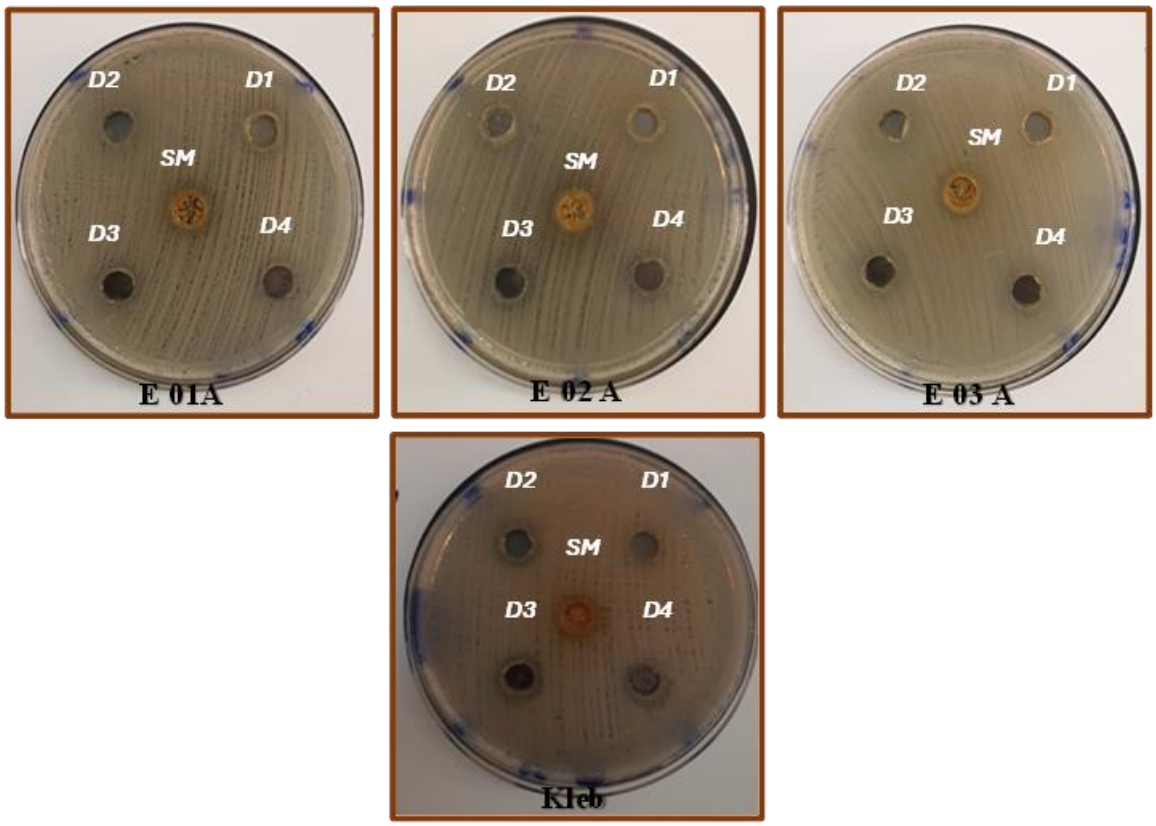


Figure 35. Zones d'inhibition de l'extrait Acétonique de propolis enregistrées avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* **(photos personnelle, 2025)**

3.6. Activité antibactérienne de l'extrait éthanolique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

L'extrait éthanolique absolu de la propolis a montré une activité inhibitrice contre *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie.*, On observe que le diamètre des zones d'inhibition les plus élevé est de **16 mm** et le plus faible est de **10 mm** chez la souche **E2**, suivie par la souche *Klebsiella pneumonie* dont la valeur maximale enregistrée était de **14 mm**, Ces diamètres correspond à une bonne activité antibactérienne **(Tableau 15 ; Figure 34).**

Tableau 19. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec l'extrait Éthanolique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

Catégories des zones d'inhibition	**Extrait Éthanolique absolu de propolis avec différentes dilutions sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie***				
	Suspension mère	**Dilution 1/2**	**Dilution 1/4**	**Dilution 1/8**	**Dilution 1/16**
≤6mm	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
>6mm et ≤ 10mm	0/4	0/4	1/4	0/4	0/4
>10mm et ≤ 15mm	4/4	1/4	3/4	4/4	3/4
>15mm et ≤ 20mm	0/4	1/4	0/4	0/4	0/4
20>	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

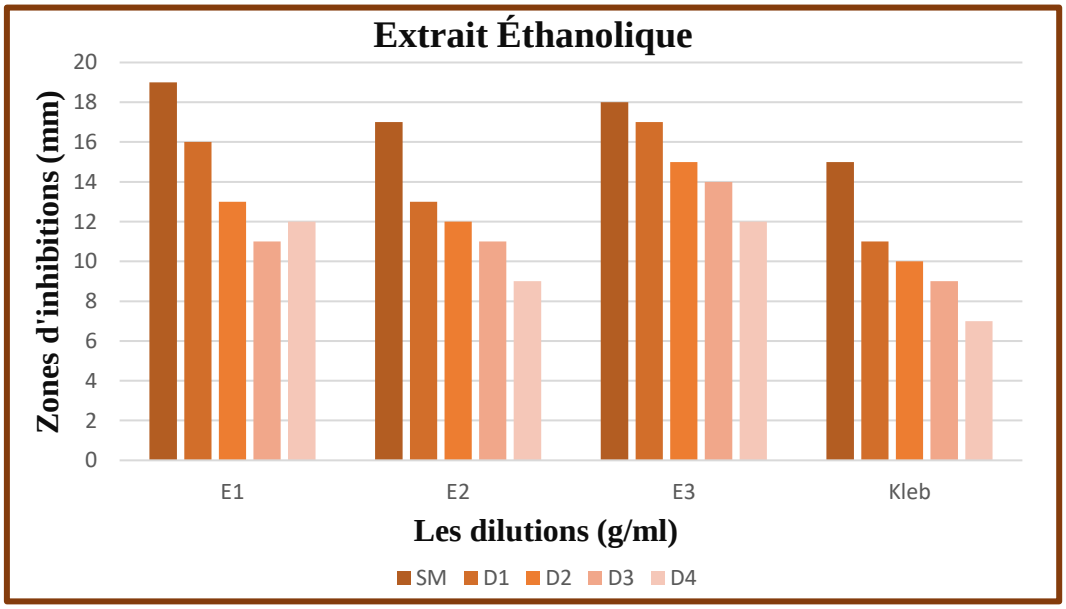


Figure 36. Activité antibactérienne de l'extrait Éthanolique de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

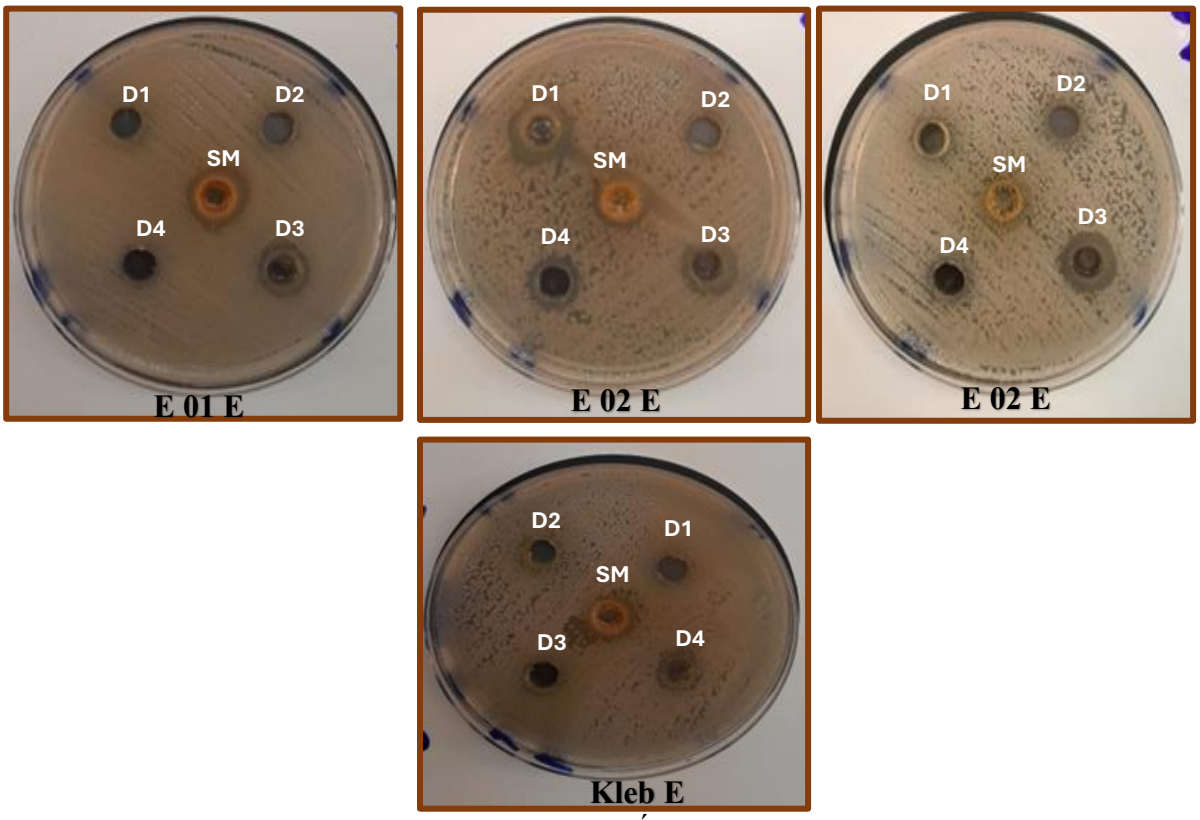


Figure 37. Zones d'inhibition de l'extrait Éthanolique de propolis enregistrées avec *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* **(photos personnelle, 2025).**

4. Activité antibactérienne de la mixture des extraits Acétonique et Éthanolique

4.1. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique et éthanolique sur *Pseudomonas aeruginosa*

La mixture des extraits acétonique et éthanolique de la propolis a montré une activité inhibitrice contre les trois souches de *Pseudomonas aeruginosa*, On observe que les diamètres des zones d'inhibition varient entre **9 mm** et **13mm**. La plus grande zone d'inhibition a été observée chez la souche P**1** avec Suspension mère, avec un diamètre de **13mm**, suivie par P**2 (12 mm)** puis **P3 (11 mm)**, Ces diamètres correspond à une bonne activité antibactérienne **(Tableau 16 ; Figure 36).**

Tableau 20. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits Éthanolique et acétonique de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

Catégories des zones d'inhibition	**La mixture des extraits (Acétonique et Éthanolique) de propolis avec différentes dilutions sur *Pseudomonas aeruginosa***				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	2/3	1/3	1/3	2/3
>10mm et ≤ 15mm	3/3	1/3	2/3	2/3	1/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
20>	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3

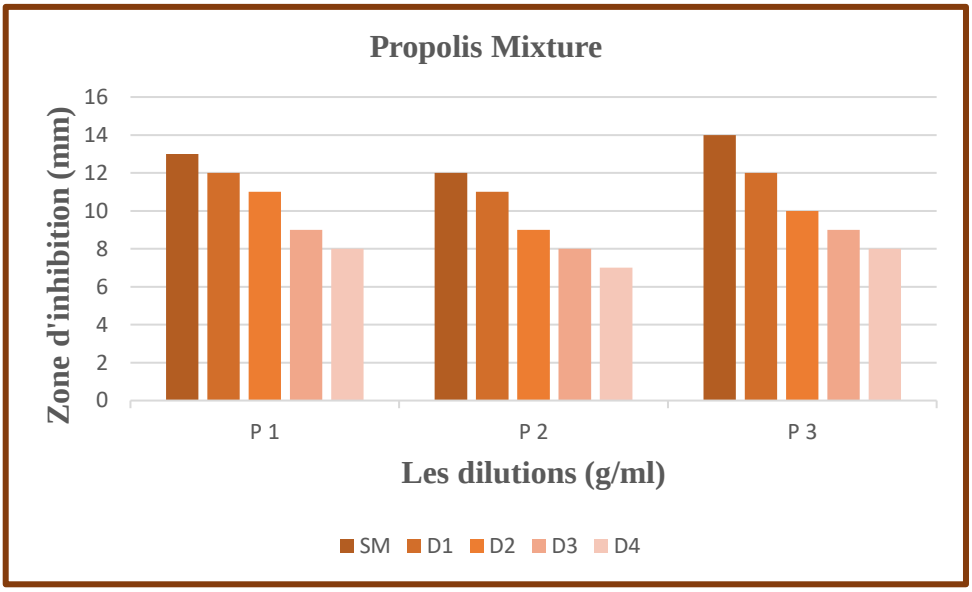


Figure 38. Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis sur *Pseudomonas aeruginosa*

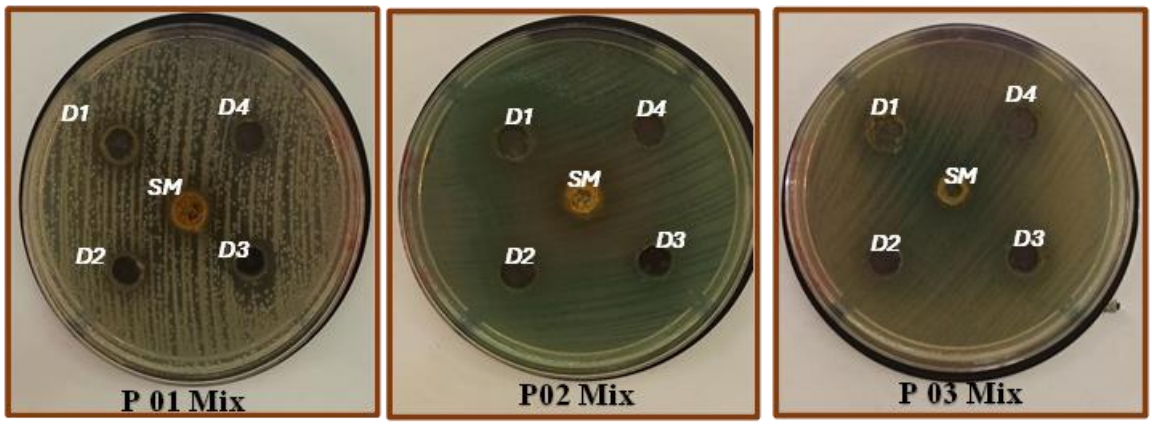


Figure 39. Zones d'inhibition de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Pseudomonas aeruginosa* **(photos personnelle, 2025).**

4.2. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique et éthanolique sur *Staphylococcus aureus*

La mixture des extraits (Acétonique et Éthanolique) de la propolis a montré une activité inhibitrice contre les trois souches de *Staphylococcus aureus*, On observe que les diamètres des zones d'inhibition varient entre **12mm** et **29mm.** La plus grande zone d'inhibition a été observée avec la souche **S1** et la suspension mère, avec un diamètre de **29mm**, suivie par **S3** (**26mm**) puis **S2** (**21 mm**), Ces diamètres correspond à une très bonne activité antibactérienne **(Tableau 17 ; Figure 38).**

Tableau 21. Catégories des zones d'inhibition de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur *Staphylococcus aureus*

Catégories des zones d'inhibition	La mixture des extraits (Acétonique et Éthanolique) de propolis avec différentes dilutions sur *Staphylococcus aureus*				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>6mm et ≤ 10mm	0/3	0/3	0/3	0/3	0/3
>10mm et ≤ 15mm	0/3	0/3	0/3	1/3	1/3
>15mm et ≤ 20mm	0/3	1/3	1/3	0/3	2/3
20>	3/3	3/3	2/3	2/3	0/3

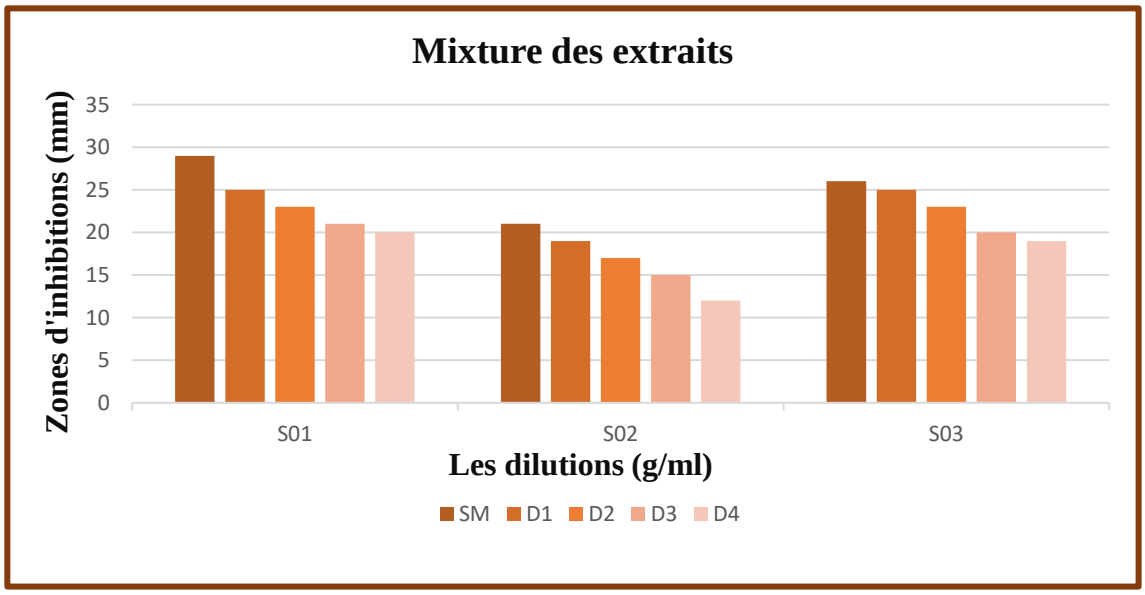


Figure 40. Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis sur *Staphylococcus aureus*

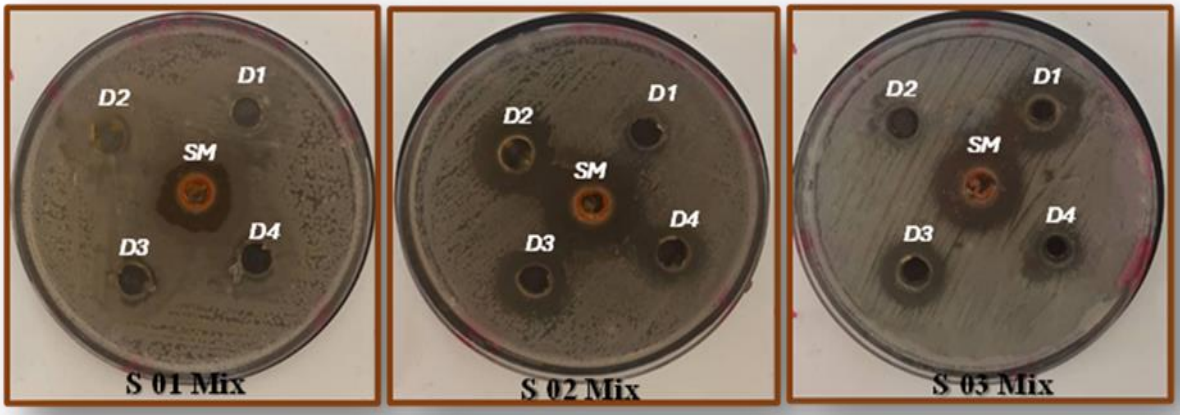


Figure 41. Zones d'inhibition de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Staphylococcus aureus* **(photos personnelle, 2025).**

4.3. Activité antibactérienne de la mixture des extraits acétonique et éthanolique sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

La mixture des extraits (Acétonique et Éthanolique) de la propolis a montré une activité inhibitrice contre les trois souches *d'Escherichia coli* et la souche de *Klebsiella pneumonie.* On observe que les diamètres des zones d'inhibition varient entre **9 mm** et **13 mm.** La plus grande zone d'inhibition a été observée chez la souche **E3** à la Suspension mère, suivie par *Klebsiella pneumonie.* Ces diamètres correspondent à une bonne activité antibactérienne **(Tableau 18 ; Figure 40).**

Tableau 22. Catégories des zones d'inhibitions de l'activité antibactérienne observé avec la mixture des extraits (Éthanolique et Acétonique) de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

Catégories des zones d'inhibition	La mixture des extraits (Acétonique et Éthanolique) de propolis avec différentes dilutions sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*				
	Suspension mère	Dilution 1/2	Dilution 1/4	Dilution 1/8	Dilution 1/16
≤6mm	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
>6mm et ≤ 10mm	0/4	2/4	2/4	2/4	2/4
>10mm et ≤ 15mm	4/4	2/4	2/4	4/4	2/4
>15mm et ≤ 20mm	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4
20>	0/4	0/4	0/4	0/4	0/4

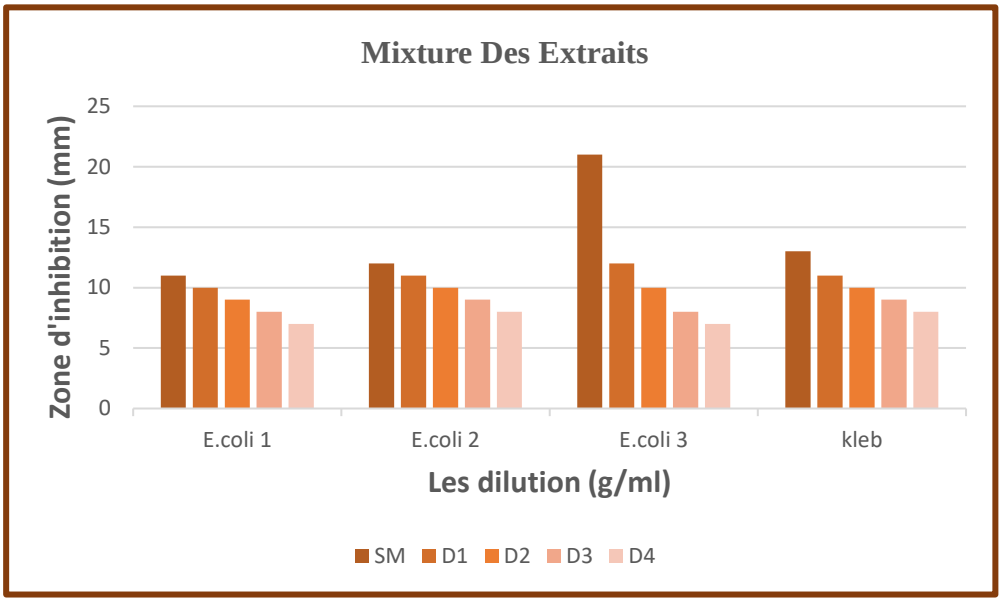


Figure 42. Activité antibactérienne de la mixture des extraits de propolis sur *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie*

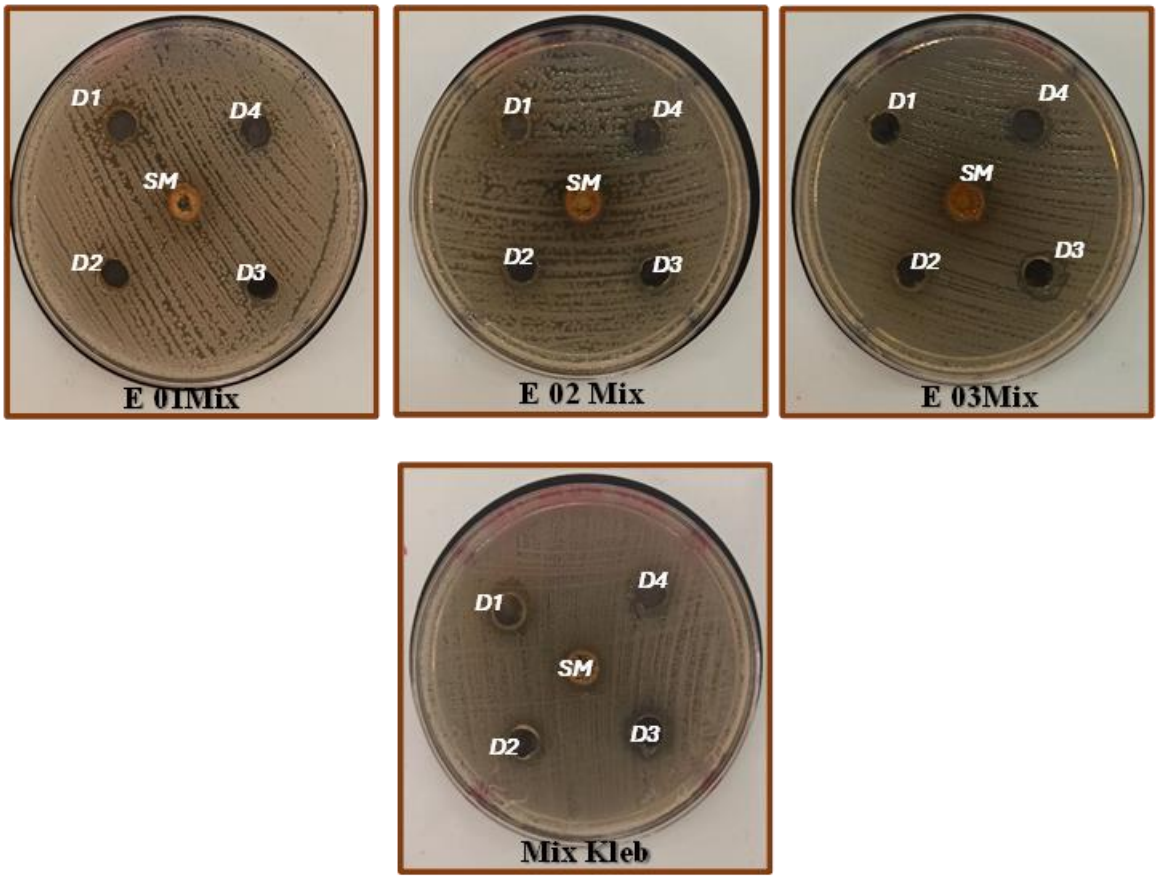


Figure 43. Zones d'inhibitions de la mixture des extraits de propolis enregistrées avec *Escherichia coli et Klebsiella pneumonie* **(Photos personnelle, 2025).**

5. Antibiogramme de différentes souches testées

5.1. Sensibilité des souches de *Pseudomonas* aux antibiotiques

Les souches de *Pseudomonas aeruginosa* étudiées ont montré une sensibilité variable aux antibiotiques. L'Aztréonam **(ATM)** s'est révélé le plus efficace, avec des diamètres d'inhibition allant de **18** à **22 mm**, indiquant une bonne sensibilité. Par contre, une faible sensibilité a la Colistine **(CS)** a été observée, avec des diamètres compris entre **7** et **9 mm**, ce qui suggère une résistance relative. Quant à la Ticarcilline **(TI)**, les souches ont présenté des diamètres **≤6** mm, reflétant une résistance marquée. Ces résultats mettent en évidence le profil de résistance des *Pseudomonas* et soulignent l'importance de réaliser un test de sensibilité pour un choix thérapeutique approprié **(Tableau 19 ; Figure 42).**

Tableau 23. Détermination du diamètre des zones d'inhibitions (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testées *Pseudomonas aeruginosa*

.

Les souches	Molécules d 'antibiotique testes		
	ATM	**CS**	**TI**
***Pseudo* 02**	S	R	R
***Pseudo* 03**	I	R	R
***Pseudo* 03**	I	R	R

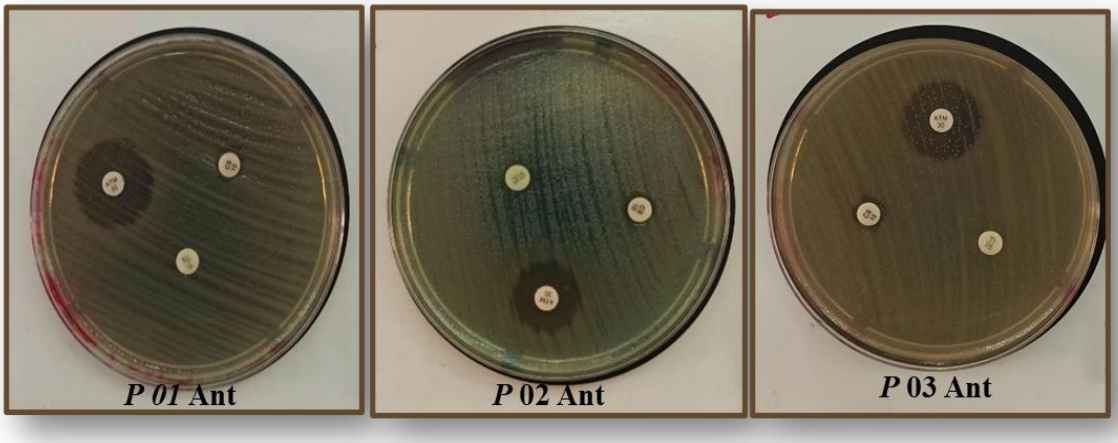


Figure 44. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Pseudomonas aeruginosa* **(Photos personnelles, 2025)**

5.2. Sensibilité des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques

Les souches de *Staphylococcus* **(S1, S, S3)** ont montré une résistance à la Cefoxitine **(FOX)** avec des diamètres d'inhibition **≤6 mm.** Les souches **S1**et **S2** étaient sensibles à la Gentamicine **(GN)** avec des diamètres de **23 mm** et **26 mm** respectivement, tandis que la souche

S3 était résistante. Toutes les souches ont présenté une sensibilité élevée à la Fosfomycine **(FC)** et à la Rifampicine **(RD)**, avec des diamètres allant de **26 mm** à **40 mm**. Pour l'Érythromycine **(E)**, la souche **S1** a présenté un diamètre de **20 mm**, la souche **S3** était résistante **(Tableau 20 ; Figure 44).**

Tableau 24. Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testées de *Staphylococcus aureus*

Les souches	Molécules d 'antibiotique testes				
	FOX	**GN**	**FC**	**RD**	**E**
S aureus 01	R	S	S	S	I
S aureus 02	R	R	S	S	R
S aureus 03	R	S	S	S	R

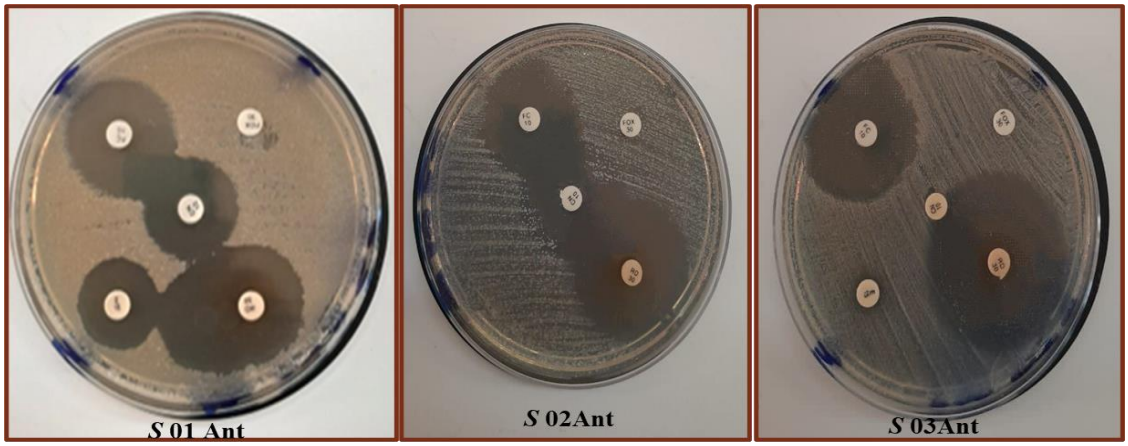


Figure 45. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Staphylococcus aureus* **(Photos personnelles, 2025)**

5.3. Sensibilité des souches d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* aux antibiotiques

Les souches **E1**, **E2**, **E3** et *Klebsiella* ont montré une résistance à la Cefoxitine **(FOX)** et à l'Augmentin **(AUG)** avec des diamètres d'inhibition **≤6 mm**. Pour la Cefotaxime **(Ctx),** les souches **E1**, **E3** et *Klebsiella* ont présenté un diamètre de **15 mm**, tandis que la souche **E2** était résistante **(≤6 mm)**. Concernant la Gentamicine **(CN)**, toutes les souches ont présenté des diamètres entre **17 mm** et **19 mm**. Enfin, les diamètres enregistrés pour l'Aztréonam **(ATM)** étaient élevés : **30 mm** pour **E1** et **E3**, **22 mm** pour **E2**, et **29 mm** pour *Klebsiella* **(Tableau 21 ; Figure 46).**

Tableau 25. Détermination du diamètre de la zone d'inhibition (mm) des antibiotiques vis-à-vis les différentes souches testes de *Escherichia coli* et *klebsiella*

Les souches	Molécules d 'antibiotique testes				
	CTX	FOX	GN	AUG	ATM
E coli 01	R	R	S	R	S
E coli 02	R	R	S	R	S
E coli 03	R	R	S	R	S
K.pneumonie	R	R	S	R	S

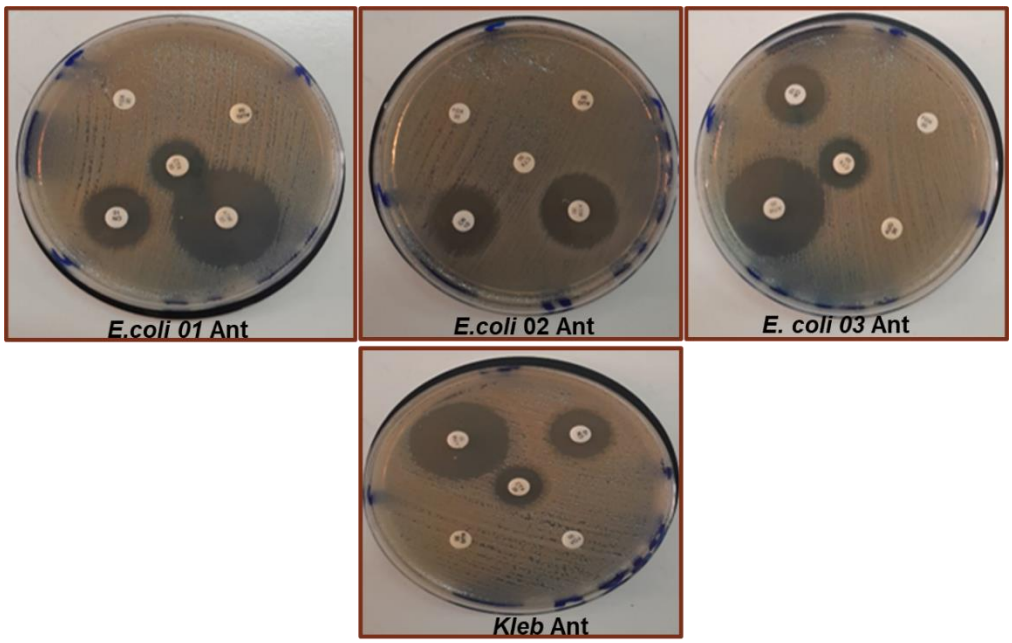


Figure 46. Zones d'inhibition des antibiotiques enregistrées avec les *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* **(Photos personnelles, 2025)**

6. Résultats de la détermination des profils de sensibilités aux antibiotiques

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a permis de déterminer les profils suivants : **(Tableaux 48, 49, 50).**

- **Le profil (R S S S I) avec une seule souche de *S. aureus*.**
- **Le profil (R S S S R) avec une seule souche de *S. aureus*.**
- **Le profil (R R S S R) avec une seule souche de *S. aureus*.**
- **Le profil (R R S R S) avec trois souches d ' *E.coli* .**
- **Le profil (R R S R S) avec la souche de *Klebsiella pneumonie*.**
- **Le profil (S R R) avec une seule souche de *Pseudomonas*.**

- **Le profil (I R R) avec deux souches de *Pseudomonas*.**

7. Etude comparative de l'activité des extraits et de la mixture

En résumé, l'extrait acétonique a montré une activité antibactérienne plus marquée, notamment contre *Staphylococcus* et *Pseudomonas* et *Escherichia coli* avec des zones d'inhibition **30** mm, **19** mm et **15** mm respectivement. Tandis que, l'extrait éthanolique s'est révélé légèrement plus efficace contre *Klebsiella pneumonie* (**14** mm).

L'extrait mixte (acétonique + éthanolique) a montré une forte activité qui a été observée contre *Staphylococcus aureus*, avec un diamètre de **29** mm, tandis qu'une activité faible à modérée a été notée avec *Pseudomonas aeruginosa* et *Escherichia coli*, avec des diamètres varie entre **9** et **13** mm. Ces résultats révèlent un effet sélectif de l'extrait en fonction des différents genres et d'une espèce a une entre dans le même genre.

En comparant les trois extraits (acétonique, éthanolique et mixte), l'extrait acétonique a montré la plus forte activité antibactérienne, notamment contre *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'extrait éthanolique s'est révélé plus efficace contre *Klebsiella pneumonie*. L'extrait de la mixture a montré une activité antibactérienne très proche de celle de l'extrait acétonique contre *Staphylococcus aureus* et *E. coli*. Tandis que, il a présenté une activité inférieure à celle de l'extrait éthanolique contre *Pseudomonas aeruginosa*. Ces résultats indiquent que l'activité de l'extrait varie selon le genre bactérien, avec une supériorité de l'extrait acétonique.

Tableau 26. Représente la comparaison entre les extraits Acétonique et Éthanolique et la mixture sur différentes souches bactériennes

Souches	L'extrait le plus efficace	Diamètre maximal du halo (mm)	Activité
Staphylococcus aureus	**Acétonique et mixture**	**30 mm**	**Très fortement inhibitrice**
Pseudomonas aeruginosa	**Acétonique et mixture**	**15 mm**	**Légèrement inhibitrice**
Escherichia coli	**Acétonique et miture**	**19 mm**	**Modérément inhibitrice**

Klebsiella pneumonie	**Éthanolique**	**14 mm**	**Légèrement inhibitrice**

8. Etude comparative de l'activité des extraits et des antibiotiques

L'évaluation comparative de l'effet antibactérien des extraits de propolis par rapport à celui des antibiotiques testés a révélé une activité notable, varient entre bonne et très bonne, vis a vis toutes les souches bactériennes étudiées, indépendamment de leur profil de résistance.

Tableau 27. Profils de sensibilité des *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques et aux extraits (Acétonique, Ethanolique, Mixture)

Souches testées	Molécules d'antibiotiques					Extrait utilisée			Activité
	Fox	GN	FC	RD	E	A	É	Mixture	
S. aureus 01	R	S	S	S	I	A	E	M	Bonne ; très bonne ; Excellente
S. aureus 02	R	R	S	S	R	A	E	M	Bonne ; très bonne ; Excellente
S. aureus 03	R	S	S	S	R	A	E	M	Bonne ; très bonne ; Excellente

Tableau 28. Profils de sensibilité des *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie* aux antibiotiques et aux extraits

Souches testées	Molécules d'antibiotiques					Extrait utilisée			Activité
	CTX	FOX	GN	AUG	ATM	A	É	Mixture	
Escherichia coli 01	R	R	S	R	S	A	E	M	Bonne ; très bonne ;Excellente
Escherichia coli 02	R	R	S	R	S	A	E	M	Bonne ; très bonne ; Excellente
Escherichia coli 03	R	R	S	R	S	A	E	M	Bonne ; très bonne ; excellente

Klebsiella pneumonie	**R**	**R**	**S**	**R**	**S**	**A**	**E**	**M**	**Bonne ; très bonne ; excellente**

Tableau 29. Profils de sensibilité des *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques et extraits bioactifs

Souches testées	**Molécules d'antibiotiques**			**Extraits utilisées**			**Activité**
	ATM	**CS**	**TI**	**A**	**É**	**Mixture**	
Pseudomonas aeruginosa 01	**S**	**R**	**R**	**A**	**E**	**M**	**Bonne ; très bonne ; excellente**
Pseudomonas aeruginosa 02	**I**	**R**	**R**	**A**	**E**	**M**	**Bonne ; très bonne ; excellente**
Pseudomonas aeruginosa 03	**I**	**R**	**R**	**A**	**E**	**M**	**Bonne ; très bonne ; excellente**

9. Validation des tests

Pour évaluer de manière rigoureuse l'activité antibactérienne des extraits de propolis, diverses souches bactériennes d'origine humaine ont été testées. Le diméthylsulfoxyde (DMSO) a servi de témoin négatif afin d'assurer la fiabilité et la validité des résultats obtenus **(Figure 47).**

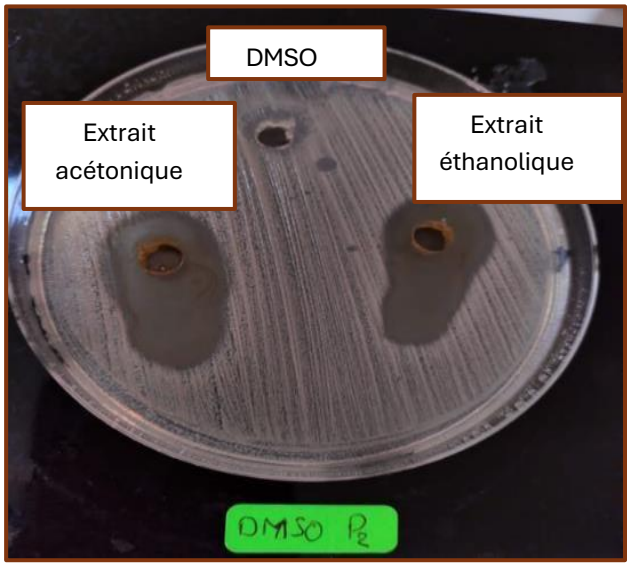


Figure 47. Résultats de validation des tests **(photo personnelle, 2025).**

10. Activité antioxydante des différents extraits

10.1. La rédaction de DPPH par l'acide ascorbique et les extraits de propolis

Les valeurs obtenues de nos extraits et de la Vitamine C ont permis de tracer des courbes présentées dans les figures 47 et 48. D'une manière générale, les absorbances enregistrées pour les extraits (éthanolique, acétonique ou leur mixture) et la Vitamine C diminuent positivement avec l'augmentation de la concentration. Quelle que soit la concentration utilisée, la réaction entre le DPPH et l'acide ascorbique (donneurs d'électrons) atteint l'équilibre rapidement après la concentration 400µg/m. Ensuite, l'évolution présente un comportement stationnaire jusqu'à la concentration 1000µg/m. En ce qui concerne les extraits de propolis, les résultats présentés dans la **figure 48** indiquent que quelle que soit l'extrait (éthanolique, acétonique ou leur mixture) l'absorbance diminue de manière progressive avec l'augmentation de la concentration des extraits. On observe également que l'intensité de la réaction est dépendante de la dose, aussi bien pour la Vitamine C que pour les extraits.

Il est également à noter que la mixture des deux extraits présente les valeurs d'absorbance les plus faibles à toutes les concentrations testées, ce qui suggère une synergie entre les deux solvants et une efficacité antioxydante supérieure par rapport aux extraits pris séparément.

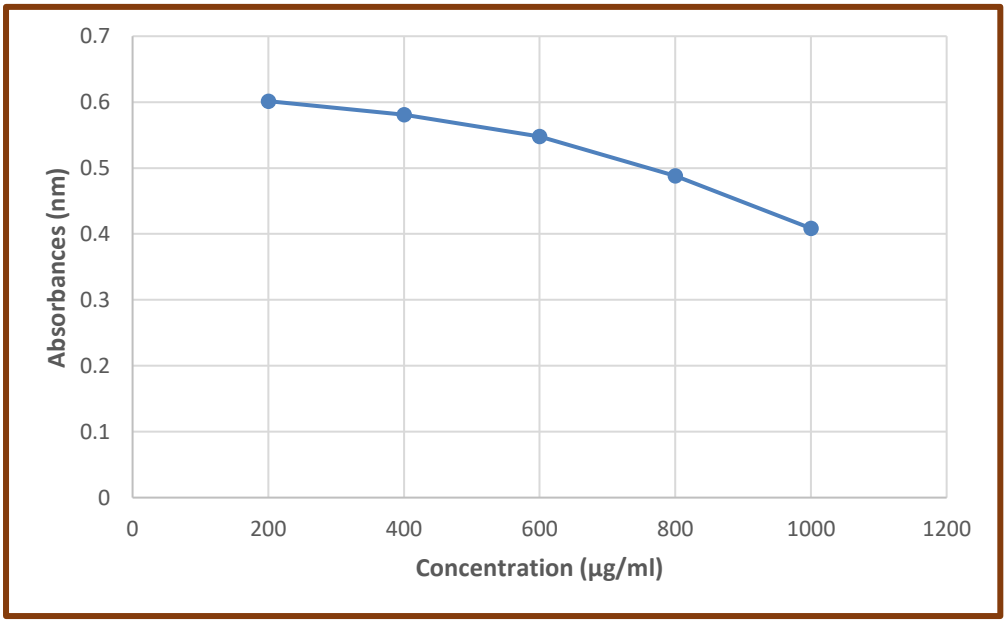


Figure 48. Réduction de DPPH par l'acide ascorbique (Vit C)

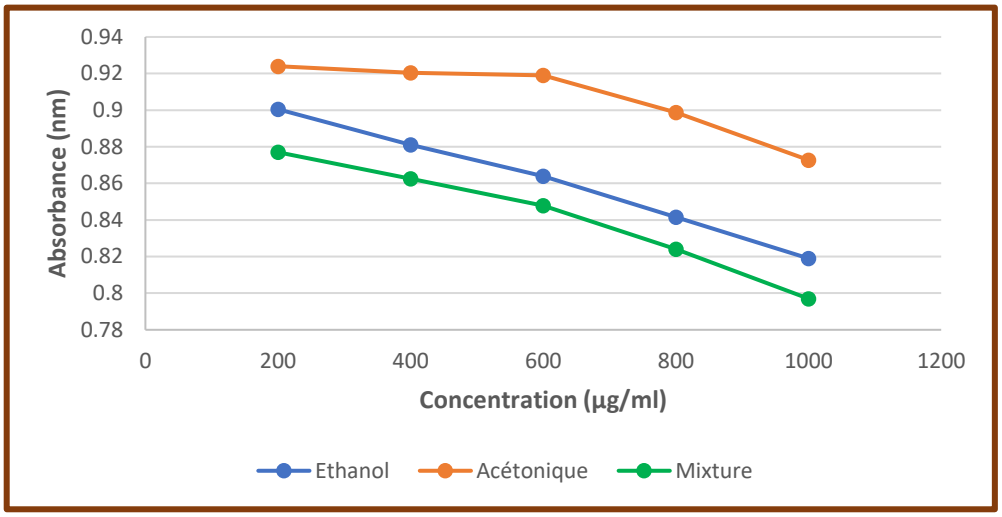


Figure 49. Réduction de DPPH par les extraits de la propolis

10.2. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH

Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été examiné pour chaque concentration des extraits et de vitamine C. Les résultats sont presentés dans le tableau ci- dessous **(tableau 51).** Le pourcentage d'inhibition du radical DPPH a été évalué en fonction des concentrations des extraits de propolis (éthanolique, acétonique et mixture), ainsi que de l'acide ascorbique (vitamine C). Les données obtenues montrent que le pourcentage d'inhibition augmente de manière proportionnelle à la concentration, pour l'ensemble des extraits testés, y compris la vitamine C. L'acide ascorbique affiche les pourcentages d'inhibition les plus élevés à chaque concentration, ce qui témoigne de son fort pouvoir antioxydant. Pour la concentration 1000 µg/ml, le taux d'inhibition du radical DPPH atteint environ **(90.689%)** pour la vitamine C, contre environ **(20.220 %)** pour la mixture des extraits de propolis**, (18.018 %)** pour l'extrait éthanolique, et seulement **(12.638%)** pour l'extrait acétonique**.** À la plus faible concentration testée 200 µg/ml, ces valeurs sont respectivement d'environ **(34.979%)** pour la vitamine C, **(12.212 %)** pour la mixture**, (9.859 %)** pour l'éthanolique**,** et **(7.507 %)** pour l'acétonique**.** Ces résultats confirment que, bien que les extraits de propolis présentent une activité antioxydante négligeable, celle-ci demeure nettement inférieure à celle de la vitamine C, en particulier pour l'extrait acétonique, dont l'efficacité reste relativement faible. La mixture des extraits semble bénéficier d'un effet synergique, ce qui pourrait expliquer son efficacité supérieure par rapport à chacun des extraits pris individuellement.

Tableau 51. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH par le vit C et Extraits de propolis

Concentration (µg/ml)	1000	800	600	400	200
Pourcentage D'inhibition Vit C %	**90.689**	**89.712**	**82.819**	**62.294**	**34.979**
Pourcentage d'inhibition d'extrait Acétonique %	**12.638**	**10.035**	**8.008**	**7.858**	**7.507**
Pourcentage d'inhibition d'extrait Éthanolique %	**18.018**	**15.766**	**13.514**	**11.812**	**9.859**
Pourcentage d'inhibition d'extrait Mixture %	**20.220**	**17.518**	**15.140**	**13.664**	**12.212**

10.3. Détermination de l'IC50 (Concentration inhibitrice 50%)

À des fins comparatives, nous avons évalué l'IC50 des deux composés (Extraits de propolis et leur Mixture, vit.C). Cet indicateur exprime la quantité d'antioxydant nécessaire pour faire décroitre la concentration initiale du $DPPH^{\bullet}$ à la moitié (50%).

L'IC50 est inversement liée à la capacité antioxydante d'un composé. Cela veut dire que la capacité antioxydante d'un composé est d'autant plus élevée que son IC50 est petite. Les valeurs de l'IC_{50} ont été déterminées graphiquement par la régression linéaire comme c'est illustré dans **les Figures (50 et 51)**.

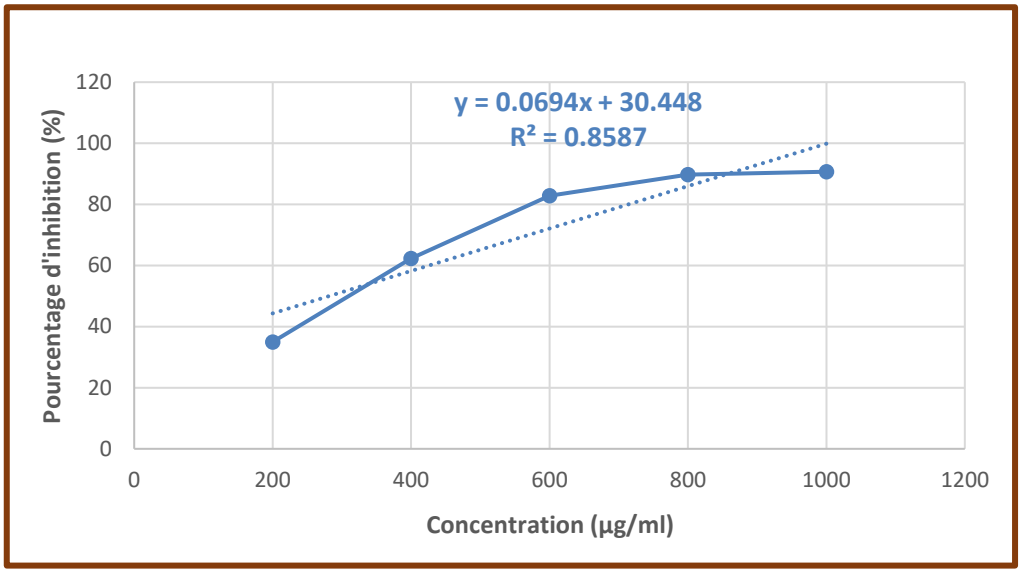


Figure.50 Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des concentrations de l'acide ascorbique (vit.C)

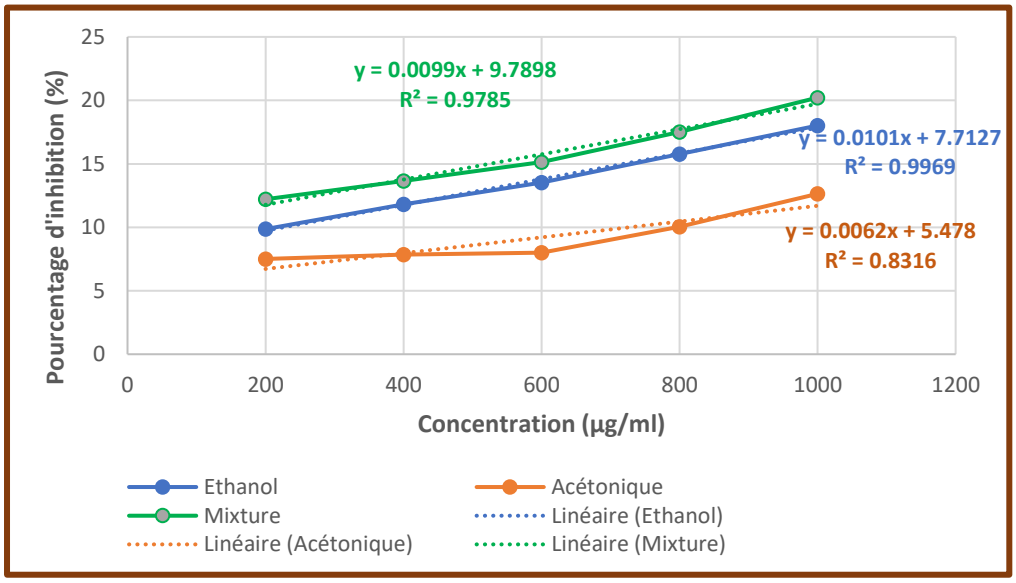


Figure 51. Pourcentage d'inhibition de radical DPPH en fonction des Concentrations des Extraits de propolis

Concernant les extraits de propolis, l'analyse des résultats montre que l'extrait éthanolique présente une valeur **d'IC_{50} de 4186.861µg/ml,** l'extrait acétonique une valeur plus élevée de **7180,9 µg/ml**, tandis que la mixture des deux extraits affiche une **IC_{50} de 4061.636 µg/ml**.

Ces valeurs indiquent que, bien que les extraits de propolis possèdent de très faible pouvoirs antioxydants, ceux-ci demeurent largement inférieurs à celui de l'acide ascorbique (vitamine C), qui présente une valeur **d'IC_{50} de 281.729 µg/ml**.

D'après ces résultats, les extraits de propolis démontrent des pouvoirs antioxydants très faible, comparativement à la molécule témoin la vitamine C, reconnue par son fort pouvoir antioxydant.

Discussion

IV. DISCUSSION

La propolis, reconnue pour ses effets antimicrobiens, est étudiée pour son rôle potentiel contre l'antibiorésistance **(Bankova *et al*., 2000)**. Le choix du solvant constitue un paramètre déterminant dans l'extraction des composés bioactifs de la propolis. Nos résultats ont montré que l'extrait éthanolique a généré un rendement d'extraction plus élevé, atteignant 45,9 % et 35,4 % pour l'extrait acétonique. Cela reflète la capacité supérieure de l'éthanol à extraire les composés polaires, notamment les flavonoïdes et les composés phénoliques **(Santos *et al*., 2003).** Ce résultat, est en accord avec les travaux de **Boutarfa *et al*. (2024)**, **Papova *et al.* (2015)** et **Ouammi (2021)**, qui ont confirmé que l'éthanol, en particulier à une concentration de 70 %, est l'un des solvants les plus efficaces pour l'extraction des substances bioactives. Cependant, d'autres études ont rapporté des résultats différents. En effet, **Cottica *et al*. (2011)** et **Bankova *et al*. (2000)** ont observé que l'acétone peut, dans certains cas, produire un rendement d'extraction supérieur à celui de l'éthanol, grâce à sa capacité à dissoudre un spectre plus large de composés, y compris ceux de polarité intermédiaire. Par ailleurs, **Wozniak *et al*. (2020)** ont montré l'absence de différences significatives entre les extraits obtenus par éthanol et par acétone dans certaines conditions d'extraction. Ils expliquent ce résultat par des facteurs externes tels que l'origine botanique de la propolis et les paramètres techniques d'extraction, soulignant ainsi l'importance d'un choix rationnel et contextuel du solvant selon les objectifs spécifiques de l'étude. Ainsi, la polarité du solvant influence non seulement la solubilité des composés cibles, mais également l'efficacité globale de l'extraction **(Sulaiman *et al*., 2011)**, soulignant la nécessité d'un choix rationnel et contextualisé du solvant selon les objectifs de l'étude.

Les propriétés antibactériennes des extraits de propolis suscitent un intérêt croissant ces dernières années, après avoir dépassé le cadre d'un usage traditionnel vers une étude scientifique rigoureuse fondée sur des preuves expérimentales. Dans ce contexte, nos résultats ont montré que toutes les souches bactériennes testées étaient sensibles aux extraits de propolis de la région de Bouandas (Skikda), avec une efficacité variable selon le type d'extrait. L'extrait acétonique a présenté la plus forte activité, notamment contre *S. aureus*, suivi de *P. aeruginosa* et *E. coli*, tandis que l'extrait éthanolique s'est révélé plus actif contre *K. pneumoniae*. L'extrait mixte (mixture) a montré une activité proche de celle de l'extrait acétonique. Des résultats similaires ont été observer par **Woźniak *et al*. (2020)**, **Boutarfa *et al.* (2024)** et **Garedew *et al.* (2004)**, qui ont mis en évidence l'efficacité des extraits acétoniques contre les bactéries à Gram positif. Des travaux opposés ont été signalés par **Biosard (2013)**, **Benchabane *et al*. (2020)** et

Boutarfa (2024) qui ont enregistré une efficacité plus marquée des extraits éthanoliques ou méthanoliques (de propolis. Ces extraits ont été testés contre différentes souches bactériennes). Contrairement à nos résultats, **Grange & Davey, (1990)** et **Velikova *et al.* (2000)** ont rapporté une absence totale d'activité (d'activité antimicrobienne des extraits de propolis) contre les bactéries à Gram négatif. De plus, une certaine efficacité des extraits éthanoliques de propolis qui ont montré une certaine efficacité contre les bactéries à Gram négatif, telles que Escherichia coli et Klebsiella pneumoniae. Ce qui met en évidence l'impact des facteurs géographiques, botaniques et des méthodes d'extraction sur la composition et l'activité de la propolis **(Marcucci *et al*. (2000)**, **Trusheva *et al*. (2010), Boutarfa, 2024)**. Plusieurs études indiquent que la propolis présente une activité faible, voire nulle, contre les bactéries à Gram négatif **Ghasemi *et al.* (2017)** expliquent cette faible efficacité par la difficulté des composés de la propolis à pénétrer la paroi cellulaire, en raison notamment de la présence de pompes d'efflux au niveau de la membrane plasmique **(Rahman *et al*., 2010)**. D'autres recherches, telles que celles de **Stepanović *et al*. (2003)** et de **Silici & Kutluca (2005)**, confirment également cette faible sensibilité. Nos résultats sont donc en accord avec plusieurs travaux antérieurs, notamment ceux de **Tegos *et al*. (2002)**, **Donadieu (2008)**, **Trusheva *et al*. (2010)** et **Ghasemi *et al.* (2017)**, qui soulignent tous la faible sensibilité des bactéries à Gram négatif aux effets antimicrobiens de la propolis.

Face à l'augmentation préoccupante de la résistance bactérienne aux antibiotiques, comme l'ont montré les résultats de l'antibiogramme, les souches de *Staphylococcus aureus* ont présenté une forte résistance à la céfoxitine (≤ 6 mm), ce qui confirme leur appartenance au type SARM (résistant à la méthicilline). Leur sensibilité à la gentamicine, la rifampicine et l'acide fusidique variait de modérée à élever (jusqu'à 40 mm), tandis qu'une résistance importante à l'érythromycine a été observée chez certaines souches. Les souches *d'Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* ont montré un profil de multirésistance, surtout envers les antibiotiques bêta-lactamines, avec de faibles diamètres d'inhibition pour la céfoxitine et l'amoxicilline/acide clavulanique (≤ 15 mm). En revanche, elles ont mieux réagi à la gentamicine et à l'aztréonam. De son côté, *Pseudomonas aeruginosa* a révélé une résistance marquée au ticarcilline et à la colistine (≤ 9 mm), malgré l'usage fréquent de ce dernier comme traitement de dernier recours.

Ces résultats reflètent une large résistance, mais ils mettent aussi en valeur l'efficacité prometteuse des extraits de propolis, qui ont montré une capacité notable à inhiber la croissance de la plupart des souches, y compris celles résistantes aux antibiotiques. **Cardinault *et al.***

(2012) ont indiqué certaines souches résistantes, voire multirésistantes, peuvent être sensibles à la propolis. Il a aussi été démontré que la propolis, en combinaison avec certains antibiotiques comme la streptomycine, l'ampicilline, la gentamicine ou la cloxacilline, peut en renforcer l'effet **(Stepanović *et al*., 2003).** Cela suggère que les composés actifs de la propolis agissent selon des mécanismes différents, ce qui ouvre la voie à des approches thérapeutiques alternatives ou complémentaires.

Quant, aux résultats du test DPPH ont montré que les extraits de propolis, qu'ils soient utilisés seuls (éthanolique ou acétonique) ou en mélange, présentent une capacité progressive à inhiber les radicaux libres, proportionnelle à la concentration. Cependant, le pourcentage d'inhibition maximal obtenu à la concentration de 1000 µg/mL est resté relativement faible (20, 220 % pour le mélange, 18,018 % pour l'extrait éthanolique et 12,638 % pour l'extrait acétonique), comparativement au taux très élevé obtenu avec la vitamine C (90,689 %). De plus, les valeurs de IC_{50} étaient (7180,9 ; 4186,861 et 4061,636 µg/mL) pour les extraits acetonique, ethanolique et la mixture de propolis respectivement, contre seulement 281,729 µg/mL pour la vitamine C, ce qui indique que la propolis a montré une activité antioxydante tres faible. Ces résultats sont en accord avec ceux de l'étude de **Bankova *et al*. (2000)**, qui a indiqué que l'activité antioxydante de la propolis peut être modérée et dépend fortement de sa composition chimique, de son origine botanique et du solvant utilisé. De même, l'étude de **Kumazawa *et al*. (2004)** a montré que la propolis japonaise présente une activité antioxydante moyenne à faible par rapport à la vitamine C ou E. À l'inverse, d'autres études telles que celles de **Búfalo *et al*. (2009)** et **Aliyazıcıoğlu *et al*. (2011)** ont montré que certains extraits de propolis notamment ceux riches en flavonoïdes et en polyphénols possèdent une activité antioxydante élevée, parfois comparable à celle de la vitamine C. (2024). Cette divergence peut être attribuée à l'origine géographique de la propolis, aux conditions d'extraction (type de solvant, température, durée de macération), ou encore à la diversité des composés chimiques influençant directement l'activité biologique **(Miguel, 2010).**

Conclusion

Et perspectives

V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Avec la recrudescence des échecs thérapeutiques due à la résistance bactérienne aux antibiotiques, l'exploration de sources naturelles à potentiel thérapeutique, comme la propolis, devient une priorité. Dans ce contexte, notre étude s'est inscrite, en évaluant l'activité antibactérienne et antioxydante de deux types d'extraits de propolis (acétonique et éthanolique), ainsi que de leurs mixtures sur des souches bactériennes isolées de pathologies humaines : *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumonie.*

- ✓ Le rendement d'extraction éthanolique absolu de propolis était le meilleur (45.9 %) que le rendement d'extraction acétonique (35.4 %).
- ✓ L'extrait acétonique s'est révélé le plus efficace contre les bactéries testées, notamment *S. aureus*, *P. aeruginosa* et *E. coli*, avec des zones d'inhibition atteignant 30 mm, l'extrait éthanolique a montré une efficacité légèrement supérieure contre *Klebsiella pneumonie* (14 mm) comparativement l'extrait acétonique, indiquant une spécificité de l'efficacite selon la souche bactérienne.
- ✓ La mixture des deux extraits (acétonique et éthanolique) a présenté une activité comparable à l'extrait acétonique contre *S. aureus* (29 mm) et contre *E.coli* et *Klebsiella pneumonie* (13 mm) et moins efficace contre *P. aeruginosa* (9 mm). Les résultats mettent en évidence un effet sélectif des extraits selon le type bactérien, ce qui souligne l'importance de la nature chimique des composés actifs.
- ✓ Les profils de sensibilite aux antibiotiques identifiés révèlent une grande variabilité de sensibilité entre les souches de *S. aureus*, *E. coli et Pseudomonas* ce qui souligne l'intérêt de solutions alternatives naturelles.
- ✓ Comparativement aux antibiotiques, les extraits de propolis ont montré un excellent effet inhibiteur sur les souches microbiennes testées de *S.aureus, E.coli, P. aeruginosa* et *K. pneumonie.*
- ✓ Les extraits acetonique, ethanolique et la mixture de propolisont montré une activité relativement faible comparativement à la vitamine C, avec une IC_{50} de (7180,9 ; 4186,861 et 4061,636 µg/mL) respectivement comparativement à la vit.C avec IC_{50} de 281,7 µg/mL pour la vitamine C. Malgré l'efficacité de nos extraits est inférieure à celle de la vitamine C, Ils restent des sources naturelles prometteuses antioxydantes.

A l'avenir, il serait intéressant de compléter le présent travail par :

- ❖ Caractérisation de la composition chimique de la propolis par HPLC et LC

- Identifier les molécules bioactifs responsables de l'effets antimicrobien et antioxydant.
- Introduire la propolis dans l'industrie pharmaceutique (pommades, gels, solutions buvables).

Références Bibliographiques

VII. Références Bibliographiques

A

Afsharpour, M., Amini, A., & Rahimi, H. (2019). Propolis as a complementary treatment in diabetes: a review. Journal of Diabetes & Metabolic Disorders, 18(1), 213-220. (p. 215)

Aliyazıcıoğlu, R., Sahin, H., Erturk, O., Ulusoy, E., Kolayli, S. (2011). Properties of phenolic content and biological activity of propolis from different regions of Turkey. International Journal of Food Science and Technology, 46(1), 85–92.

Agence Nationale de la Recherche. (**2014**). Biosynthèse de nouvelles molécules bioactives par biologie synthétique (Projet ANR-14-CE16-0003).

Agence Nationale de la Recherche. (**2017**). Molécules bioactives naturelles pour une conservation durable des produits laitiers (Projet ANR-17-ARM2-0003).

Agroscope. (n.d.). Écologie microbienne moléculaire dans les systèmes agricoles.

Anjum, S. I., Ullah, A., Khan, K. A., Attaullah, M., Khan, H., Ali, H., & Dash, C. K. (2019). Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. Saudi Journal of Biological Sciences, 26(7), 1695-1703.

Antioxidant properties of propolis in cosmetic applications. International Journal of Cosmetic Science, 33(2), 110-115. (p. 112).

Atanasov, A. G., Zotchev, S. B., Dirsch, V. M., & Supuran, C. T. (2021). Natural products in drug discovery: advances and opportunities. Nature Reviews Drug Discovery, 20(3), 200-216.

Atanasov, A. G., Waltenberger, B., Pferschy-Wenzig, E. M., et al. (2015). Discovery and resupply of pharmacologically active plant-derived natural products: A review. Biotechnology Advances, 33(8), 1582–1614.

B

Balunas, M. J., & Kinghorn, A. D. (2005). Drug discovery from medicinal plants. Life Sciences, 78(5), 431–441.

Bérdy, J. (2005). Bioactive microbial metabolites. *The Journal of Antibiotics*, 58(1), 1–26.

Benslama, A. (2016). *Les substances d'origine microbienne* [Présentation PowerPoint]. Université Mohamed Khider-Biskra, Faculté des sciences exactes et des sciences de la nature et de la vie, Département des sciences de la nature et de la vie, 9-41.

Boudra Abdellatif. Etude d'une greffe osseuse traitée couverte par la propolis chez les petits animaux. Thèse de Doctorat en Sciences Vétérinaires, Institut des Sciences Vétérinaires, Ministère de l'Enseignement Supérieur et de la Recherche Scientifique, 2019, P. 33.36.39.40.41.

Berreghioua, A. (2016). Investigation phytochimique sur des extraitsbioactifs de deux brassicaceae médicinales du sud algérien : Moricandia arvensis et Zilla macroptera. Thèse de doctorat en chimie organique. Faculté des sciences. Université ABOU BAKR BELKAID -TLEMCEN.

Bankova V.S., De Castro S.L et Marcucci M.C. (2000) Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie; 31:3-15. [17]: Al Marghitas L., Dezmirean D.S and Bobis O. (2013) Important developement in Romanian propolis research. Evidence-Based complemantary and Alternative Médicine, p: 9.

Bankova, V. S., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie, 31(1), 3-15. (Bankova et al., 2000).

Bouzahouane, H., Ayari, A., Guehria, I., & Riah, O. (2021). Propolis: Antimicrobial activity and chemical composition analysis. Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Sciences, 10(6), e3211.

Boutarfa, F., Benslimane, R., & Zerguine, L. (2025). Évaluation de l'activité antibactérienne des extraits de propolis algérienne. Mémoire de master non publié, Université Ferhat Abbas Sétif 1, Algérie

Benmerabet, A. (2017). *Isolement et caractérisation de quelques bactéries responsables d'infections nosocomiales à l'hôpital militaire de Constantine : Étude rétrospective de 16 mois* [Mémoire de Master, Université Mentouri Constantine 1].

Bankova, V. (2005). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of Ethnopharmacology, 100*(1-2), 114–117

Bankova, V., de Castro, S. L., & Marcucci, M. C. (2000). Propolis: recent advances in chemistry and plant origin. Apidologie, 31(1), 3–15.

Búfalo, M. C., Bordon-Graciani, A. P., Conti, B. J., de Assis Golim, M., & Sforcin, J. M. (2009). The effect of propolis on leukocyte viability and oxidative stress in human blood. Phytotherapy Research, 23(3), 368–371.

C

Cragg, G. M., & Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. Journal of Ethnopharmacology, 100(1-2), 72–79.

Chemat, F., Vian, M. A., & Cravotto, G. (2012). Green extraction of natural products: concept and principles. International Journal of Molecular Sciences, 13(7), 8615–8627.

Cuvillier, A. (2015). Miel, propolis, gelée royale : Les abeilles alliées de notre système immunitaire (Thèse de doctorat en pharmacie, Université de Lille 2). p. 27–28.

Castaldo, S., & Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia, 73(1), 1-6. (p. 3)

Couteau, C., Coiffard, L., & Paparis, E. (2008). Photoprotective properties of propolis extracts. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 90(2), 145-151. (p. 147)

Cardinault, N., Cayeux, M.-O., & Percie du Sert, P. (2012). La propolis : origine, composition et propriétés. Phytothérapie, 10(5), 298–304.

D

Donadieu Y. (1993) La propolis thérapeutique naturelle, 4° Edition, Paris, Maloine edit, 61p.

Donadieu, M. (2008). Utilisation de la propolis chez les animaux de compagnie. Revue de Médecine Vétérinaire, 159(8), 433-438. (pp.434-435)

Dumas, B., & Prigent-Combaret, C. (2024). *Biocontrôle des maladies des plantes : Avancées récentes et perspectives en matière de protection des plantes*. ISTE Editions
Djabou, N., Boukortt, F., Touati, A., & Touati, D. (2006). *Étude physicochimique et biologique de la propolis d'Algérie*. Bulletin de la Société de Pharmacie de Bordeaux, 145(1), 45–52., p. 47.
Donadieu, A. (2008). La propolis: un remède naturel. Éditions Guy Trédaniel.

E

El Abdani, S. (2016). *Évolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie* [Thèse de doctorat en pharmacie, Université Mohammed V de Rabat]. Université Mohammed V de Rabat.

F

Falcão, S. I., Negri, G., Salatino, A., & Message, D. (2010). Seasonal variation of the chemical composition and antimicrobial activity of Brazilian propolis samples. *Journal of Ethnopharmacology, 127*(2), 492–499.

G

Gregoris, E., Mazzon, G., & Favero, G. (2011). Antioxidant properties of propolis in cosmetic applications. International Journal of Cosmetic Science, 33(2), 110-115. (p. 112)

Ghosh, S., Mahapatra, N. R., & Chakraborty, N. (2019). Microbial Nano-Factories: Synthesis and Biomedical Applications. Current Clinical Microbiology Reports, 6(2), 86–95.
Ghasemi, F. S., Eshraghi, S. S., Andalibi, F., Hooshyar, H., Kalantar-Neyestanaki, D., Samadi, A., & Fatahi-Bafghi, M.*et al* (2017). Anti-bacterial effect of propolis extract in oil against different bacteria. Zahedan Journal of Research in Medical Sciences, 19(3), e7225.

H

Hossain, M. A., Nath, P., Basar, M. A., Olatunji, O. J., & Xian, Y. (2022). Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. Chinese Medicine, 17(1), 1–24. p.2
Hossain, R., Quispe, C., Khan, R. A., Saikat, A. S. M., Ray, P., Ongalbek, W. C. (2022). Propolis: An update on its chemistry and pharmacological applications. Chinese Medicine, 17(1), Article 100, pp. 1–60.

I

Institut Méditerranéen de Biodiversité et d'Écologie marine et continentale. (s.d.). Molécules naturelles bioactives : Apport de l'ethnopharmacologie et de l'écologie chimique.

K

Kumar, S., & Malik, S. (2021). Classification, Mode of Action and Uses of Various Immunomodulators. In Immunomodulators (1–24). Springer

Khan, M. I. R., Fatma, M., Per, T. S., Anjum, N. A., & Khan, N. A. (2015). Salicylic acid-induced abiotic stress tolerance and underlying mechanisms in plants. *Frontiers in Plant Science, 6*, 462

Khan, M. A., Khan, M., Liu, J., Xu, C., Wang, Q., Farooq, U., & Ullah, R. (2020). Frontiers | Plant in vitro Culture Technologies; A Promise Into Factories for Secondary Metabolite Production. Frontiers in Plant Science, 12, 610194.

Kel, H. (1996). Propolis: Chemical composition and therapeutic properties (pp. 45-50).

Krell, R. (1996). Value-added products from beekeeping. Food & Agriculture Organization. (p. 120)

Kubiliene, L., Laugaliene, V., Pavilonis, A., Zvirblis, G., Rekertas, A., & Savickas, A. (2015). Alternative preparation of propolis extracts: comparison of their composition and biological activities. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15, 156.

Kumazawa, S., Hamasaka, T., & Nakayama, T. (2004). Antioxidant activity of propolis of various geographic origins. Food Chemistry, 84(3), 329–339.

L

Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., & Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. Pharmacognosy Reviews, 4(8), 118-126.

Larbi, S., & Hamdi, L. (2018). Étude de synthèse sur les travaux réalisés sur la propolis en Algérie (Mémoire de fin d'études, Institut des Sciences Vétérinaires, Université Saad Dahleb de Blida). p. 4.9.11.17.27.

M

Moudir, A. (2004). Les polyphénols de la propolis algérienne (Mémoire de Magister, Université Mohamed Boudiaf de M'Sila, Algérie). Université de M'Sila. Page 62.

Miłek, M., Bonikowski, R., & Dżugan, M. (2024). The effect of extraction conditions on

N

Newman, D. J., & Cragg, G. M. (2020). Natural Products as Sources of New Drugs over the Nearly Four Decades from 1981 to 2019. Journal of Natural Products, 83(3), 770-803.

P

Peighambardoust, S. H., Karami, Z., Pateiro, M., & Lorenzo, J. M. (2021). A Review on Health-Promoting, Biological, and Functional Aspects of Bioactive Peptides in Food Applications. Biomolecules, 11(5), 631.

Preziosi, L. M. (2024). Exploration des potentiels thérapeutiques des produits de l'abeille corse : la propolis vers de nouvelles perspectives médicales. Thèse de doctorat en pharmacie, Faculté de Pharmacie de Marseille, p. 14.29.30.
Potier, F. (2014). La propolis, propriétés et intérêt thérapeutique.Université de Lorraine. (pp. 15.34. 35.43.).
Przybyłek, I., & Karpiński, T. M. (2019). Antibacterial properties of propolis. Molecules, 24(11), Article 2047. (p.1-5.).
Photoprotective properties of propolis extracts. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, 90(2), 145-151. (p. 147) Gregoris, E., Mazzon, G., & Favero, G. (2011).

R

Regnault-Roger, C. (2017). *Communication chimique, une stratégie du biocontrôle*. Jardins de France.
Rahman, M. M., & Richardson, A. (2010). Antibacterial mechanisms of action of propolis. In Propolis: Properties, Application and Its Potential (pp. 1–20). Nova Science Publishers

S

Sanders, M. E., Merenstein, D. J., Reid, G., Gibson, G. R., & Rastall, R. A. (2019). Probiotics and prebiotics in intestinal health and disease: From biology to the clinic. Nature Reviews Gastroenterology & Hepatology, 16(10), 605–616.
Soltani EL-Khamsa, Mme. (2017). Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles, cas de la propolis. Thèse de Doctorat en Sciences, option Génie des procédés pharmaceutiques, Faculté de technologie, Université Ferhat Abbas – Sétif 1, 2017, p.1 2.5.11.
Segueni, N. (2011). Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis (Thèse de doctorat en pharmacochimie, Université Mentouri de Constantine). p. 19.
Soltani, N. (2017).** Contribution à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis (Thèse de doctorat, Université Frères Mentouri Constantine 1, Algérie), pp. 21–31.
Soltani, N. (2017). *Étude de la composition chimique et des activités biologiques de la propolis* (Mémoire de Master, Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen). Dspace Université Abou Bekr Belkaid Tlemcen, **p**.45.
Sulaiman, S. A., Gan, S. H., & Hashim, N. H. (2011). Evaluation of the antioxidant and antimicrobial activities of Malaysian propolis extract. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 3(2), 1–5.
Stepanović, S., Antić, N., Dakić, I., & Svabić-Vlahović, M. (2003). In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. Microbiological Research, 158(4), 353–357.

Silici, S., & Kutluca, S. (2005). Chemical composition and antibacterial activity of propolis collected by three different races of honeybees in the same region. Journal of Ethnopharmacology, 99(1), 69–73

Silva-Carvalho, R., Baltazar, L. M., & Almeida-Aguiar, C. (2015). Propolis: A complex natural product with a plethora of biological activities that can be explored for drug development. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 2015*, Article ID 206439.

T

Touil, W. (2021). *Substance végétale bioactive* [Polycopié de cours en vue de l'habilitation universitaire]. Université Chadli Bendjedid – El Tarf, Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie, Département des Sciences Biologiques, 8-31.

Tegos, G. P., Stermitz, F. R., Lomovskaya, O., & Lewis, K. (2002). Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 46(10), 3133–3141.

Trusheva, B., Popova, M., Bankova, V., Simova, S., Marcucci, M. C., Miorin, P. L., & Tsvetkova, I. (2010). Bioactive constituents of Brazilian red propolis. Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, 7(3), 275–279.

U

Université de tous les savoirs. (2002). *Le Cerveau, le Langage, le Sens N°05*

V

Verpoorte, R. (2000). Secondary metabolism. In B. Bahrami (Ed.), Biotechnology: Secondary metabolites (Vol. 2, pp. 1–29). Wiley-VCH.

W

Wink, M. (2015). Modes of action of herbal medicines and plant secondary metabolites. Medicines, 2(3), 251–286.

Waksman, S. A. (1947). Microbial antagonisms and antibiotic substances. The Commonwealth Fund.

Woźniak, M., Mrówczyńska, L., Kwaśniewska-Sip, P., Waśkiewicz, A., Nowak, P., & Ratajczak, I. (2020). Effect of the solvent on propolis phenolic profile and its antifungal, antioxidant, and in vitro cytoprotective activity in human erythrocytes under oxidative stress. Molecules, 25(18), 4266.

Woźniak, M., Kwaśniewska-Sip, P., Waśkiewicz, A., Cofta, G., & Ratajczak, I. (2020). The possibility of propolis extract application in wood protection. Forests, 11(4), 465.



VII. Annexes

Annexes 01 : composition des milieux de culture utilisées

□ Gélose nutritive

Formule en g/l d'eau distillée

Typotone	5g
Extrait de viande	3g
Agar bactériologique1	5g
Ph	7.0 + 0.2

Gélose de Chapman

Formule en g/l d'eau distillée

Digestif pancréatique de caséine	5.0g
Extrait de viande	1.0g
Digestif protéique de tissu animale	5.0
D-Mannitol	10.0g
Chlorure de sodium	75.0g
Rouge de phénol	0.025g
Agar bactériologique	15.0g
Ph	7+0.2
180 ML	2-8°C

□ Gélose Mueller Hinton

Formule en g/l d'eau distillée

Acide caséine peptone	17.5g
Infusion de bœuf	2.0g
Amidon	1.5g
Agar bactériologique	17.0g
Ph	7.3+0.2

180 ML	2-8°C

- **Gélose HEKTOEN**

Formule en g/l d'eau distillée

peptone	12,00 g
Extrait de levure	3,00 g
Sels biliaires N° 3	9,00 g
Lactose	12,00 g
Saccharose	12,00 g
Salicine	2,00 g
Chlorure de sodium	5,00 g
Thiosulfate de sodium	5,00 g
Citrate ferrique ammoniacal	1,50 g
Bleu de bromothymol	0,065 g
Fuchsine acide	0,10 g
Agar	14,00 g
Ph	7,5 ± 0,2
180 ML	25°C

Annexes 02 : Les différents liquides utilisées

- ✓ DMSO
- ✓ Eau physiologie

- ✓ Ethanol absolu
- ✓ Acétone absolu
- ✓ Methanol absolu

