



Université Djillali Liabes de Sidi Bel Abbès  
Faculté des sciences de la nature et de la vie  
Département des sciences de l'environnement  
Laboratoire d'écodéveloppement des espaces

## Thèse

Pour l'obtention du diplôme de

### Doctorat 3<sup>ème</sup> Cycle

En *Sciences de l'Environnement*

Option : Gestion, Valorisation des Ressources Naturelles et  
Développement Durable

### THÈME

*Analyse pollinique et activités biologiques de la propolis de  
l'Ouest Algérien*

Présentée Par:

Melle Debab Mokhtaria

Soutenu le:

Devant le jury composé de:

**Présidente:** Mme Megherbi Aicha

MC-A, UDL SBA

**Examineurs:** Mr Hasnaoui Okkacha

Pr, Université de Saida

Mme Kanoun Khedoudja

MC-A, UDL SBA

Mr Bouzidi Mohammed Ali

MC-A, UDL SBA

**Directeur de thèse:** Mme Toumi Benali Fawzia

Pr, UDL SBA

**Co- directeur:** Mme Koudache Fatiha

Pr,UDL SBA

Année universitaire : 2019-2020

# Remerciements

*Nous tenons à remercier d'abord Dieu de nous avoir donné le privilège et la chance d'étudier et de suivre le chemin de science.*

*Je tiens à exprimer toutes mes reconnaissances à Madame Toumi Benali Fawzia, professeur à l'université de Djillali Liabes et Directeur de cette thèse, pour l'accueil qu'elle m'a accordé dans son laboratoire, pour sa générosité, sa gentillesse, son encouragement, son soutien et de m'avoir fait confiance tout au long de la préparation de ce travail, qu'elle trouve ici toute ma gratitude et ma sympathie.*

*J'exprime mes profonds remerciements, ma vive reconnaissance et ma sincère gratitude à Melle Koudache Fatiha, professeur à l'université de Djillali Liabes pour avoir accepté de co-encadrer et pour ses précieuses orientations tout au long de ce travail.*

*J'adresse mes sincères remerciements à Mme Megherbi Aicha, Maitre de conférence de classe A de l'université de Djillali Liabes pour avoir accepté de présider le jury.*

*Je tiens à remercier Mr Hasnaoui Okkacha, professeur de l'université de Saida, Mr Bouzidi Mohammed Ali, maitre de conférence de classe A, et Mme Kanoun Khedoudja, Maitre de conférence de classe A de l'université de Djillali Liabes, pour avoir accepté de juger ce modeste travail.*

*Un remerciement particulier à Mr Kechar Kaddour, vice-président de l'association des apiculteurs de la wilaya de Sidi Bel Abbés, pour l'aide qu'il m'a proposé dans les moments difficiles, je le remercie pour sa bienveillance et ces conseils.*

*À toute la promotion de doctorat « **Gestion et valorisation des ressources naturelles et développement durable** »*

*Enfin je remercie énormément toute personne qui a contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.*

# *Dédicace*

*Je dédicace ce modeste travail :*

*À mon très cher père et ma mère, qui sont représentés le guide vigilant pendant toute mon men enfance et jusqu'à l'écriture de ces petites lignes.*

*À mes frères : Mokhtar, Kada et Mohammed*

*À tous les familles Debab et Bouchrit*

*Et*

*À tous mes collègues*

## Résumé

La propolis est une substance résineuse que les abeilles butineuses collectent à partir des bourgeons et des résines de certaines plantes. Elle est utilisée par les abeilles à l'intérieure de la ruche pour protéger leurs colonies, du fait de leurs propriétés biologiques et physico chimiques qu'elle caractérise.

Le présent travail a pour but d'étudier l'origine botanique, et d'évaluer quelques activités biologiques des échantillons de la propolis collectés dans différentes régions de l'ouest Algérien (Sidi Bel Abbés et Mascara), sur des modèles *in vitro* et *in vivo*, notamment l'activité antioxydante, cicatrisante, antimicrobienne, antimitotique, y compris l'activité antigerminalif, et l'inhibition de la croissance du système racinaire, l'activité anthelminthique, et l'activité antiparasitaire contre le parasite de varroa.

Le dosage des composés phénoliques, par la méthode de spectrophotométrie, des extraits hydrosolubles et alcoolosolubles des échantillons de la propolis a montré qu'il dépend des méthodes d'extraction et l'origine géographique de la propolis. Les quantités les plus remarquables ont été obtenues au niveau des extraits hydrosolubles qui ont révélé une teneur très importante en phénols totaux, oscillée entre  $244,33 \pm 0,43$  mg GAE/g (propolis commerciale) et  $177,94 \pm 4,41$  mg GAE/g (propolis de Beni Talla). Par contre, les extraits alcoolosolubles ont révélé une teneur importante en flavonoïdes, rangée entre  $163,68 \pm 0,73$  mg EC/g (propolis de Sidi Dahou) et  $137,08 \pm 10,01$  mg EC/g (propolis de Sfisef). Aussi en tanins, avec une teneur oscillée entre  $27,53 \pm 2,78$  mg EC/g (Propolis de Mascara2) et  $4,86 \pm 0,12$  mg EC/g (propolis de Sidi Dahou).

Par ailleurs, l'activité antioxydante des extraits bruts de la propolis, par la Méthode de DPPH, a montré que les extraits alcoolosolubles ont un pouvoir antioxydant très important, notamment les valeurs d'IC<sub>50</sub> de la propolis de Mascra2 qui est de 0,045 mg/ml et 19,95 mg/ml pour la propolis de Sidi Dahou.

Cependant, l'activité antimicrobienne des extraits bruts de la propolis sur le *Staphylococcus aureus*, s'avère avoir un pouvoir intéressant, avec un diamètre d'inhibition oscillé entre 9mm (propolis de Sidi Dahou) et 15mm (propolis de Mascara1), et un diamètre d'inhibition oscillée entre 8,5mm (propolis de Telagh) et 10,5mm (propolis de Ain Trid, Mascara1 et Mascara2) pour *Candida albicans*. Par contre, les bactéries à Gram négative telle que *E.coli* ont présenté une certaine résistance.

Quant à l'activité antimitotique, les extraits étudiés ont prouvé leur effet antigerminatif avec des valeurs de la CMI (concentration minimale inhibitrice) rangées entre 0,01 mg/ml (extrait hydrosoluble de Telagh) et 0,28 mg/ml (extrait hydrosoluble de Sidi Dahou). L'étude de l'activité d'inhibition de la croissance racinaire a montré que le taux d'inhibition ainsi que l'indice de mitose dépendaient des concentrations et de l'origine géographique des extraits, où les valeurs de la CMI enregistrées allant de 0,44 mg/ml à 0,22 mg/ml. Comme l'a confirmé l'étude cytogénétique du méristème racinaire.

L'activité anthelminthique des extraits de propolis s'avère avoir un pouvoir intéressant, où les valeurs de la CMI sont oscillées entre 0,89 mg/ml et 1,78 mg/ml.

La pommade préparée à base de l'extrait brut de propolis de Ain Trid a montré un pouvoir cicatrisant considérable sur la surface brûlée des tissus épidermiques des rats wistar et plus efficace que celle d'une pommade commercialisée à base de sulfadiazine argentine.

L'étude de l'effet de la fumée de la propolis brute a montré un pouvoir antiparasitaire puissant équivalent à celle de l'extrait. De même, la fumée de la propolis brute de Sidi Dahou a prouvé son effet antiparasitaire contre le parasite de varroa, avec une efficacité de 77,65% lorsqu'on l'utilise en synergie avec les feuilles du thym.

Pour l'analyse pollinique, les échantillons de la propolis ont montré que la propolis de l'ouest algérien, à l'exception de la propolis commerciale, est riche en grains de pollen, et que leurs spectres polliniques sont très diversifiés (répartis sur 62 taxons polliniques).

**Mots clés :** propolis – activités biologiques – analyse polliniques – ouest algérien.

## Abstract

Propolis is a resinous substance that foraging bees collect from the buds and resins of certain plants. It is used by bees inside the hive to protect their colonies, facts of their biological and physicochemical properties it characterizes.

The present work aims to study the botanical origin, and to evaluate some biological activities of propolis samples collected in different regions of western algeria (Sidi Bel Abbés and Mascara), on models in vitro and in vivo, including antioxidant activity, wound healing activity, antimicrobial activity, antimitotic activity, including anti-germinative activity, and inhibition of root growth, anthelmintic activity, and acaricide activity against the varroa parasite.

The determination of phenolic compounds, by the spectrophotometric method, of water-soluble and alcohol-soluble extracts of the propolis samples has shown that it depends on the extraction methods and the geographical origin from which the propolis comes. The water-soluble extracts showed a very high total phenolics content, ranging from  $244,33 \pm 0,43$  mg GAE / g (commercial propolis) to  $177,94 \pm 4,41$  mg GAE / g (Beni Talla propolis). In contrast, the alcohol-soluble extracts revealed a high content of flavonoids, ranged between  $163,68 \pm 0,73$  mg EC/g (propolis of Sidi Dahou) and  $137,08 \pm 10,01$  EC mg / g (propolis of Sfifef). And in condensed tannins, with a content oscillated between  $27,53 \pm 2,78$  mg EC / g (Propolis of Mascara2) and  $4,86 \pm 0,12$  mg EC / g (propolis of Sidi Dahou).

Moreover, the antioxidant activity of propolis extracts, by the DPPH Method, showed that the alcohol-soluble extracts have a very important antioxidant power, where the  $IC_{50}$  values of propolis of Mascara2 which is 0,045 mg / ml and 19,95 mg / ml for Sidi Dahou propolis.

However, the antimicrobial activity of crude propolis extracts on *Staphylococcus aureus*, appears to have an interesting power, with an inhibition diameter oscillating between 9mm (propolis from Sidi Dahou) and 15mm (propolis from Mascara1), and a inhibition diameter oscillated between 8,5mm (Telagh propolis) and 10,5mm (Ain Trid propolis, Mascara1 and Mascara2) for *Candida albicans*. In contrast, Gram-negative bacteria such as *E.coli* showed some resistance.

As for antimitotic activity, the extracts studied have proven their anti-germination effect with MIC values (minimum inhibitory concentration) ranged between 0,01 mg / ml (water-soluble extract of Telagh) and 0,28 mg / ml (water-soluble extract by Sidi Dahou). And, the study of the inhibition activity of root growth showed that the inhibition rate as well as the mitosis index depended on the

concentrations and the geographical origin of the extracts, where the values of the MIC recorded ranging from 0,44 mg / ml to 0,22 mg / ml. As confirmed by the cytogenetic study of the root meristem.

The anthelmintic activity of propolis extracts appears to have an interesting power, where the values of the MIC are oscillated between 0,89 mg / ml and 1,78 mg / ml.

The ointment prepared from the crude propolis extract of Ain Trid has shown considerable healing power on the burned surface of the epidermal tissues of wistar rats and is more effective than that of an ointment marketed based on silver sulfadiazine.

Whereas, the study of the smoke effect of raw propolis has shown that it has a powerful inhibitory power equivalent to that of the extract. Likewise, the smoke of Sidi Dahou's raw propolis has proven its antiparasitic effect against the varroa parasite, with an efficacy of 77,65% when used in synergy with the leaves of thyme.

For the pollen analysis, the propolis samples showed that propolis from western Algeria, with the exception of commercial propolis, is rich in pollen grains, and that their pollen spectra are very diverse (distributed over 62 pollen taxa).

**Key words :** propolis – biological activities – pollen analysis – western algeria.

## الملخص

البروبوليس هو مادة صمغية يجمعها النحل من براعم وراتنجات بعض النباتات. يتم استخدامه من قبل النحل داخل الخلية لحماية مستعمرته، بفضل خصائصه البيولوجية والفيزيائية والكيميائية التي يتميز بها.

يهدف هذا العمل إلى دراسة المصدر النباتي، وتقييم بعض الأنشطة البيولوجية لعينات البروبوليس التي تم جمعها في مناطق مختلفة من غرب الجزائر (سيدي بلعباس ومعسكر)، بما في ذلك نشاط مضاد الأكسدة، نشاط شفاء الحروق، نشاط مضاد الميكروبات، نشاط مضاد التفتل، بما في ذلك النشاط المضاد لإنتاش البذور، وتثبيط نمو الجذر، نشاط مضاد للديدان، ونشاط مبيد لقراد الفاروا.

وقد أظهر تحديد المركبات الفينولية، من خلال الطريقة الطيفية، للمستخلصات القابلة للذوبان في الماء والقابلة للذوبان في الكحول من عينات البروبوليس أن ذلك يعتمد على طرق الاستخلاص والمنشأ الجغرافي للبروبوليس. أظهرت المستخلصات القابلة للذوبان في الماء نسبة عالية جداً من كمية الفينولات، تتراوح ما بين  $0,43 \pm 244,33$  ملغ GAE / جم (البروبوليس التجاري) إلى  $4,41 \pm 177,94$  ملغ GAE / جم (بروبوليس بني تالة) في المقابل، كشفت المستخلصات القابلة للذوبان في الكحول عن وجود نسبة عالية من الفلافونويد، التي تتراوح ما بين  $0,73 \pm 163,68$  ملغم EC / جم (بروبوليس سيدي دحو) و  $137,08 \pm 10,01$  ملغ EC / جم (بروبوليس سفيزف). وفي العفص كذلك، مع تأرجح الكمية ما بين  $27,53 \pm 2,78$  ملغ EC / جم (بروبوليس معسكر 2) و  $4,86 \pm 0,12$  ملغ EC / جم (بروبوليس سيدي دحو).

علاوة على ذلك، فإن نشاط مضاد الأكسدة لمستخلصات البروبوليس، بواسطة طريقة DPPH، أظهر أن المستخلصات القابلة للذوبان في الكحول لها نشاط مضاد للأكسدة عالي جداً، بحيث تتراوح قيم  $IC_{50}$  بين  $0,045$  مجم / مل (بروبوليس معسكر 2) و  $19,95$  ملغ / مل (بروبوليس سيدي دحو).

من ناحية أخرى، تبين أن النشاط المضاد للميكروبات لمستخلصات البروبوليس لها فعالية جيدة، حيث يبلغ قطر التثبيط ما بين 9 ملم (بروبوليس سيدي دحو) و 15 ملم (بروبوليس معسكر 1) بالنسبة لـ *Staphylococcus aureus*. ويتأرجح بين 8,5 ملم (بروبوليس تلاغ) و 10,5 ملم (بروبوليس عين ثريد، معسكر 1 ومعسكر 2) بالنسبة لـ *Candida albicans*. في حين أظهرت البكتيريا سالبة الجرام والممثلة في (*E. coli*) بعض المقاومة.

أما بالنسبة للنشاط المضاد للتفتل، فقد أثبتت المستخلصات التي تمت دراستها تأثيرها المضاد لإنتاش البذور بقيم CMI (التركيز المثبط الأدنى) التي تتراوح بين  $0,01$  مجم/مل (المستخلص القابل للذوبان في الماء لتلاغ) و  $0,28$  مجم/مل (المستخلص القابل للذوبان في الماء لسيدي دحو). في المقابل، أظهرت دراسة نشاط تثبيط نمو الجذور أن معدل التثبيط ومؤشر الانقسام يعتمدان على التراكم المستخدمة والمنشأ الجغرافي للمستخلصات، حيث تراوحت قيم CMI من  $0,44$  ملغ / مل إلى  $0,22$  ملغ / مل. كما أكدت هذه النتائج الدراسة الخلوية لمرستيم الجذر.

لقد ثبت أن النشاط المضاد للديدان لمستخلصات البروبوليس لها تأثير فعال، حيث تتأرجح قيم CMI بين  $0,89$  ملغم / مل و  $1,78$  ملغم / مل.

أظهر المرهم المحضر من مستخلص البروبوليس لمنطقة عين ثريد قدرة شفاء كبيرة على السطح المحروق لأنسجة البشرة لجرذان ويستار وأكثر فعالية من المرهم التجاري الذي يعتمد على سلفاديازين الفضة.

من ناحية أخرى، أظهرت دراسة تأثير دخان البروبوليس الخام أن لديها قوة تثبيط قوية تعادل تلك الموجودة في المستخلصات. وبنفس الطريقة، أثبت دخان البروبوليس الخام لمنطقة سيدي دحو تأثيره المضاد للطفيليات ضد طفيل الفاروا، بكفاءة علاجية قدرها 77،65٪ عند استخدامه بالتأزر مع أوراق الزعتر.

أظهر تحليل حبوب اللقاح لعينات البروبوليس أن بروبوليس غرب الجزائر، باستثناء البروبوليس التجاري، غني بحبوب اللقاح وأن أطيف حبوب اللقاح لديها متنوع للغاية (موزعة على 62 نوع من حبوب اللقاح).

**الكلمات المفتاحية:** بروبوليس – الأنشطة البيولوجية – تحليل حبوب اللقاح – الغرب الجزائري.

# TABLE DES MATIERES

<b>Introduction</b> .....	1
---------------------------	---

## **Chapitre I : Apithérapie et produits de la ruche**

<b>I. Apithérapie et produits de la ruche</b> .....	<b>3</b>
1.1. Définition de l'Apithérapie.....	3
1.2. Avantages de l'apithérapie.....	4
1.3. Produits de l'apithérapie (produits de la ruche).....	4
a) Le miel.....	5
b) Le pollen.....	5
c) La gelée royale.....	6
d) La cire d'abeille.....	6
e) Le venin d'abeille.....	7
f) La propolis.....	7

## **Chapitre II : Etat de connaissance sur la propolis**

<b>II. Notions d'ensemble sur la propolis</b> .....	<b>9</b>
2.1. Définition de la propolis.....	9
2.2. Utilisation de la propolis par les abeilles.....	10
2.3. Butinage de la propolis.....	11
2.4. Récolte de la propolis par l'apiculteur.....	14
2.5. Composition de la propolis.....	14
2.6. Propriétés physico chimiques de la propolis.....	18
2.7. Conservation de la propolis.....	19
2.8. Teintures officinales.....	20
2.9. Les extraits.....	20
2.10. Lyophilisation.....	20
2.11. Sécurité alimentaire et contrôle de qualité de propolis.....	20
2.12. Propriétés pharmacologiques de la propolis.....	20
a) propriétés antioxydantes.....	21
b) propriétés cicatrisantes.....	23
c) propriétés antimicrobiennes.....	23

d) Effets anticancéreux et cytotoxiques.....	24
e) Effets antiparasitaires.....	25
f) Action anesthésique de la propolis.....	26
g) Effets toxiques et allergiques de la propolis.....	26

### **Chapitre III matériels et méthodes**

<b>III. Matériels et Méthodes.....</b>	<b>27</b>
3.1. Matériel biologique et échantillonnage.....	27
3.2. Méthodologie adoptée.....	29
3.2.1. Extraction et dosage des composés bioactifs.....	29
a. Extraction des composés phénoliques.....	29
b. Dosage des composés phénoliques.....	30
b.1. Les phénols totaux.....	30
b.2. Les flavonoïdes.....	30
b.3. Les tanins condensés.....	31
3.2.2. Evaluation des activités biologiques des extraits bruts de la propolis.....	31
A) Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante.....	31
B) Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne.....	33
C) Méthode d'évaluation de l'activité antimittotique.....	33
D) Méthode d'évaluation de l'activité anthelminthique.....	35
E) Méthode d'évaluation de l'activité cicatrisante.....	36
F) Méthode d'évaluation de l'activité antiparasitaire de la fumée de la propolis brute contre le varroa (effet acaricide).....	39
3.2.3. Analyse pollinique de la propolis.....	42
3.2.4. Analyse statistique.....	43

### **Chapitre IV Résultats et discussions**

<b>IV. Résultats et discussions.....</b>	<b>44</b>
4.1. Résultats de l'étude phytochimique.....	44
4.2. Résultats des activités biologiques.....	47
4.2.1. Activité antioxydante.....	47
4.2.2. Activité antimicrobienne.....	50
4.2.3 . Activité antimittotique.....	53
4.2.4. Activité anthelminthique.....	59
4.2.5. Activité cicatrisante.....	65

4.2.6. Activité antiparasitaire de la fumée de la propolis brute contre le varroa (effet acaricide).....	69
4.3. Résultats de l'analyse pollinique de la propolis.....	72
<b>Conclusion générale.....</b>	<b>82</b>
<b>Références bibliographiques.....</b>	<b>84</b>

## Liste des Figures

<b>Figure n° 01</b> : Les produits de l'abeille.....	4
<b>Figure n° 02</b> : abeilles porteuses de propolis dans la colonie.....	9
<b>Figure n° 03</b> : un crâne de souris enrobé de propolis trouvé dans une colonie d'abeilles mellifères dans un rucher de l'Université de Minnesota.....	11
<b>Figure n° 04</b> : abeille recueillant les matériaux de surface de fruit de <i>Macaranga tanarius</i> (famille des Euphorbiaceae), pour les ramener dans son nid comme propolis.....	13
<b>Figure n° 05</b> : composition de la propolis.....	15
<b>Figure n° 06</b> : répartition géographique des stations de collecte de la propolis.....	27
<b>Figure n° 07</b> : échantillons des propolis collectés des différentes stations.....	28
<b>Figure n° 08</b> : schéma représentatif de la préparation des extraits (filtrat – résidu) à partir de la propolis.....	29
<b>Figure n° 09</b> : principe du dosage des tanins condensés.....	31
<b>Figure n° 10</b> : rat anesthésié et brûlé.....	38
<b>Figure n° 11</b> : application de la pommade à base de l'extrait de propolis d'origine Ain Trid.....	38
<b>Figure n° 12</b> : application de la crème d'Hebermine.....	38
<b>Figure n° 13</b> : incision de la peau du rat.....	39
<b>Figure n° 14</b> : prélèvement de la partie brûlée de la peau.....	39
<b>Figure n° 15</b> : modes d'application de la fumée de propolis.....	41
<b>Figure n° 16</b> : teneurs en phénols totaux des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.....	44
<b>Figure n° 17</b> : dosage des phénols totaux des extraits hydrosolubles.....	44
<b>Figure n° 18</b> : dosage des phénols totaux des extraits alcoolosolubles.....	44
<b>Figure n° 19</b> : teneurs en flavonoïdes des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.....	45
<b>Figure n° 20</b> : dosage des flavonoïdes des extraits alcoolosolubles.....	45
<b>Figure n° 21</b> : dosage des flavonoïdes des extraits hydrosolubles.....	45

<b>Figure n° 22</b> : teneurs des tanins condensés des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.....	46
<b>Figure n° 23</b> : valeurs d'IC <sub>50</sub> en mg/ml des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.....	47
<b>Figure n° 24</b> : activité antioxydante d'extrait alcoolosoluble de Mascara1.....	47
<b>Figure n° 25</b> : activité antioxydante d'extrait alcoolosoluble de Telagh.....	47
<b>Figure n° 26</b> : activité antioxydante d'extrait hydrosoluble de Mascara1.....	47
<b>Figure n° 27</b> : diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches microbiennes testées.....	50
<b>Figure n° 28</b> : diamètres des zones d'inhibition du <i>C. albicans</i> .....	50
<b>Figure n° 29</b> : diamètres des zones d'inhibition du <i>S.aureus</i> .....	50
<b>Figure n° 30</b> : diamètres des zones d'inhibition d' <i>E.coli</i> .....	50
<b>Figure n° 31</b> : taux d'inhibition de la germination des graines de lentille en pourcentage selon le mode d'extraction et l'origine géographique de la propolis.....	53
<b>Figure n° 32</b> : valeurs de la CMI (mg/ml) de différents extraits de la propolis appliquées en fonction du mode d'extraction et l'origine géographique.....	53
<b>Figure n° 33</b> : taux de germination des graines de lentille de l'extrait alcoolosoluble de Mascara1 à différentes concentrations.....	54
<b>Figure n° 34</b> : taux de germination des graines de lentille de l'extrait hydrosoluble de Mascara1 à différentes concentrations.....	54
<b>Figure n° 35</b> : pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire de la lentille germée en fonction des différentes concentrations des extraits bruts de la propolis.....	55
<b>Figure n° 36</b> : indice mitotique de la croissance racinaire de la lentille germée en fonction des différentes concentrations des différents extraits bruts de la propolis.....	56
<b>Figure n° 37</b> : taux de croissance racinaire des graines de la lentille en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut de Mascara1 .....	56
<b>Figure n° 38</b> : analyse cytogénétique du méristème racinaire de lentille, traité par différentes concentrations des extraits bruts de la propolis (grossissement X1000).....	57
<b>Figure n° 39</b> : effets des différentes concentrations des extraits bruts de la propolis à différentes provenances sur la paralysie des vers de terre.....	60

<b>Figure n° 40</b> : traitement des vers de terre par l'extrait brut de la propolis de Ain Trid à différentes concentrations.....	61
<b>Figure n° 41</b> : traitement des vers de terre par la fumée de la propolis de différentes provenances géographiques.....	62
<b>Figure n° 42</b> : effet des extraits bruts des propolis et de la fumée sur la viabilité des vers de terre (temps de mortalité).....	63
<b>Figure n° 43</b> : changements macroscopiques de la cicatrisation des brûlures pour différents groupes.....	65
<b>Figure n° 44</b> : évolution du pourcentage de contraction des brûlures des groupes étudiés.....	65
<b>Figure n° 45</b> : observations microscopiques des coupes histologiques des groupes étudiés (grossissement X 100).....	67
<b>Figure n° 46</b> : nombre de varroas chutés dans le groupe traité par la fumée de propolis.....	69
<b>Figure n° 47</b> : nombre de varroas chutés dans le groupe traité par la fumée de propolis et les feuilles du thym ( <i>Thymus sp</i> ).....	70
<b>Figure n° 48</b> : efficacité du traitement dans les groupes étudiés.....	70
<b>Figure n° 49</b> : taux du couvain à 80%.....	71
<b>Figure n° 50</b> : taux du couvain à 50%.....	71
<b>Figure n° 51</b> : spectre pollinique de la 1 <sup>ère</sup> classe.....	74
<b>Figure n° 52</b> : spectre pollinique de la 2 <sup>ème</sup> classe.....	74
<b>Figure n° 53</b> : observation microscopique des grains de pollen dominants de la propolis de la première et la deuxième classe, et la propolis commerciale (grossissementX200).....	75
<b>Figure n° 54</b> : observation microscopique de quelques grains de pollen dans les échantillons de la propolis étudiés (grossissementX200).....	75
<b>Figure n° 55</b> : spectre pollinique des grains de pollen dominants dans les zones d'étude.....	76
<b>Figure n° 56</b> : interaction entre l'analyse pollinique et activités biologiques de la propolis.....	79

## Liste des tableaux

<b>Tableau n° 01</b> : composition quantitative de la propolis.....	16
<b>Tableau n° 02</b> : solvants organiques utilisés pour l'extraction des composés actifs de la propolis.....	19
<b>Tableau n° 03</b> : résultats des diamètres des zones d'inhibition selon l'origine géographique de la propolis.....	51
<b>Tableau n° 04</b> : spectre pollinique de la propolis de l'ouest algérien.....	72
<b>Tableau n° 05</b> : répartition des taxons polliniques dominants dans les zones d'étude.....	76
<b>Tableau n° 06</b> : variables et individus utilisés pour le test de l'ACP.....	80
<b>Tableau n° 07</b> : corrélation entre les variables et les axes principaux .....	81

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

قال تعالى

﴿ وأوحى ربك إلى النحل أن اتخذي من الجبال بيوتاً

ومن الشجر ومما يعرشون

ثم كلي من كل الثمرات فاسلكي سبل ربك ذللاً يخرج

من بطونها شراباً مختلفاً ألوانه فيه شفاء للناس إن في

ذلك لآية لقوم يتفكرون ﴿ صدق الله العظيم

سورة النحل الآيات 68-69

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

# ***Introduction***

Le secret de l'abeille et de ses produits fait partie du domaine des sciences naturelles, mais pour le déchiffrer, il a fallu à l'homme beaucoup de temps et d'efforts. C'est en fait une longue histoire qui a commencé par la chasse aux abeilles sauvages qui ont été ensuite élevées dans le système traditionnel d'abord, puis par les méthodes modernes (Jin et *al.*, 1994).

Les produits naturels, en particulier ceux d'origine végétale, constituent une source importante d'agents thérapeutiques. Actuellement, environ 25 % à 30 % de tous les médicaments thérapeutiques disponibles sont dérivés de composés naturels, de plantes, de microbes ou d'animaux. Des données récentes provenant de l'industrie thérapeutique montrent que pour certaines maladies complexes, les produits naturels représentent une source extrêmement précieuse pour la production de nouveaux composés chimiques. Dans ce contexte, les produits obtenus à partir d'*Apis mellifera*, tels que le miel, la gelée royale, le pollen ou la propolis, ont été largement utilisés depuis l'Antiquité pour leurs propriétés thérapeutiques (Rocha et *al.*, 2013).

Plus récemment, les produits de l'abeille ont été incorporés dans la pratique médicale moderne, où l'attention se concentre principalement sur la maladie et sa prévention. Parmi les modalités de la médecine complémentaire et alternative, certains compléments alimentaires montrent des preuves positives relativement fortes de leur efficacité dans la prévention de certaines maladies courantes. Certaines études suggèrent que les personnes qui utilisent des thérapies alternatives, notamment des compléments alimentaires à base de plantes, de minéraux et biologiques (y compris l'apithérapie), semblent moins susceptibles que les non-utilisateurs de recevoir des soins préventifs standard. De plus, les utilisateurs des compléments alimentaires ont plus tendance à adopter des comportements sains et semblent constituer un groupe plus soucieux de leur santé (Trumbeckaite et *al.*, 2015).

Les abeilles produisent des aliments à haute qualité, des matériaux de construction et des armes chimiques sans précédent. La propolis est l'un des produits les plus fascinants à la fois pour les matériaux de construction et les substances défensives (Bankova et *al.*, 2014). En tant que cas d'automédication par les colonies d'abeilles, la propolis joue un rôle dans l'immunité sociale des abeilles, réduisant le risque de transmission des maladies et des parasites à travers la colonie (Huang et *al.*, 2014). Elle est utilisée depuis les temps primordiaux en raison de ses propriétés thérapeutiques. Au cours des dernières années, ce produit a fait l'objet de diverses études et revues qui confirment de manière scientifique leurs propriétés biologiques et pharmacologiques telles que antibactérien, antiviral, antioxydante, hépato protecteur, cariostatique et anticancéreux (Feás et *al.*, 2014).

Dans le même contexte, l'objectif de ce travail de thèse consiste à l'évaluation des activités biologiques, ainsi que l'analyse pollinique des échantillons de la propolis provenant de différentes régions de l'ouest algérien, notamment la Wilaya de Sidi Bel Abbés et la Wilaya de Mascara. Les principaux axes de l'évaluation de cette substance sont cités ci-contre, selon leur présentation dans le manuscrit :

- Dosage des composés phénoliques et activité antioxydante des extraits de la propolis ;
- Activité antimicrobienne, à travers l'effet des extraits de la propolis sur les souches bactériennes à Gram positive (*Staphylococcus aureus*), à Gram négative (*Escherichia coli*), et sur une souche fongique (*Candida albicans*) ;
- Activité antimitotique, en déterminant l'effet des extraits de propolis sur la germination des graines d'une fabacée (activité antigerminatif), et sur l'inhibition de la croissance racinaire de ses graines (il s'agit des graines de lentilles (*Lens culinaris*)), suivie d'une analyse cytogénétique du méristème racinaire traitée ;
- Activité anthelminthique, en évaluant l'effet des extraits et des fumées de la propolis brute contre les vers de terre (*Lumbricus terrestris*) ;
- Évaluation de l'activité cicatrisante in vivo via la préparation d'une pommade à base de propolis appliquée sur les rats Wistar, ainsi que l'étude histopathologique des peaux brûlées ;
- Activité antiparasitaire de la fumée de propolis brute et les feuilles du thym contre le parasite du varroa (*Varroa sp*), appliquée directement sur les ruches ;
- Analyse pollinique de la propolis, permettant de déterminer l'origine botanique de la propolis, par l'identification des grains de pollen et le taux de leur dominance dans chaque échantillon étudié.

Ce travail pratique est suivi par des résultats interprétés et une conclusion générale, suivi par une liste globale de toutes les références consultées pour la préparation de ce document.

**Partie**

***Bibliographique***

# Chapitre I

## *Apithérapie et produits de la ruche*

## **I. Apithérapie et produits de la ruche**

### **1.1. Définition de l'Apithérapie**

Les produits naturels ont été utilisés pendant plusieurs années dans la médecine populaire. Une telle médecine naturelle est l'apithérapie ; qui est l'utilisation médicale du miel, de la propolis, du pollen, de la gelée royale, du venin d'abeille, etc. Les propriétés curatives des abeilles et de leurs produits reçoivent une attention renouvelée et croissante des scientifiques. Les développements scientifiques nous ont permis de mieux comprendre les ingrédients présents dans les produits apicoles et ont suscité un grand intérêt pour son utilisation dans les traitements médicaux (Gupta et *al.*, 2014).

Ces produits apicoles favorisent la guérison en améliorant la circulation, en diminuant l'inflammation et en stimulant une réponse immunitaire saine. Par conséquent, l'apithérapie est une méthode simple, pratique et disponible, est pratiquée dans les soins traditionnels de la santé et est également prometteuse pour le traitement des maladies parodontales, des ulcères de la bouche et d'autres maladies de la cavité buccale (Gupta et *al.*, 2014).

Les origines de l'apithérapie sont anciennes : la première ordonnance connue prescrivant du miel a été inscrite sur une tablette d'argile retrouvée dans la vallée de l'Euphrate et remontée à 2100 et 2000 av. J.-C. Il existe des documents de l'antiquité égyptienne et indienne qui suggèrent d'utiliser du miel pour soigner les blessures. Hippocrate, ancien médecin Grec et « père de la médecine » a énuméré les effets physiques du miel : « Il produit de la chaleur, nettoie les plaies et les ulcères, ramollit les ulcères durs des lèvres, et soigne les anthrax et les plaies qui coulent. ». Tous les textes religieux importants mentionnent le miel et ses pouvoirs curatifs. Pour les juifs, la terre promise est décrite comme un « pays où abondent l'huile d'olive et le miel », dans les Védas sanscrits de l'Inde ancienne, le miel est un remède contre de nombreux désordres. Chez les chrétiens, la Bible le mentionne fréquemment et pour l'Islam, le miel est un médicament précieux. La Surat 16 du Coran mentionne l'origine du miel et de ses qualités thérapeutiques : « **Il provient de leur ventre : un liquide multicolore, avec des propriétés thérapeutiques pour l'humanité** » (Bradbear, 2011).

Il existe une différence majeure entre l'apithérapie et l'utilisation des produits de la ruche dans des situations médicales définies. Les apithérapeutes croient que ces produits peuvent être utilisés pour guérir la plupart des maladies. Cependant, l'utilisation des produits de la ruche en médecine conventionnelle est limitée à certaines indications où ils ont montré des effets égaux ou supérieurs à ceux des traitements standards, par exemple, dans le traitement des plaies et des brûlures et comme une approche intéressante dans l'arthrite (Hellner et *al.*, 2008).

## 1.2. Avantages de l'apithérapie

- Une médecine proche de l'homme et bio disponible ;
- Une médecine verte et écologique idéale ;
- Des produits efficaces sans effet d'accoutumance ni de résistance acquise ;
- Une parfaite synergie : Les matières apicoles ne sont pas composées de matières actives isolées, mais ont une synergie de composants qui se renforcent les uns les autres : on a identifié plus de 800 composants dans la propolis et plus de 300 dans la gelée royale. Mais on ne les connaît pas encore tous. Ce qui est sûr, c'est que nous ne pourrions jamais reproduire dans nos laboratoires de tels complexes. Cette synergie maximale permet un large spectre d'action avec seulement quelques ingrédients apicoles de base (Ballot, 2010) (voir figure n°01).

isolées, mais ont une synergie de composants qui se renforcent les uns les autres : on a identifié plus de 800 composants dans la propolis et plus de 300 dans la gelée royale. Mais on ne les connaît pas encore tous. Ce qui est sûr, c'est que nous ne pourrions jamais reproduire dans nos laboratoires de tels complexes. Cette synergie maximale permet un large spectre d'action avec seulement quelques ingrédients apicoles de base (Ballot, 2010) (voir figure n°01).

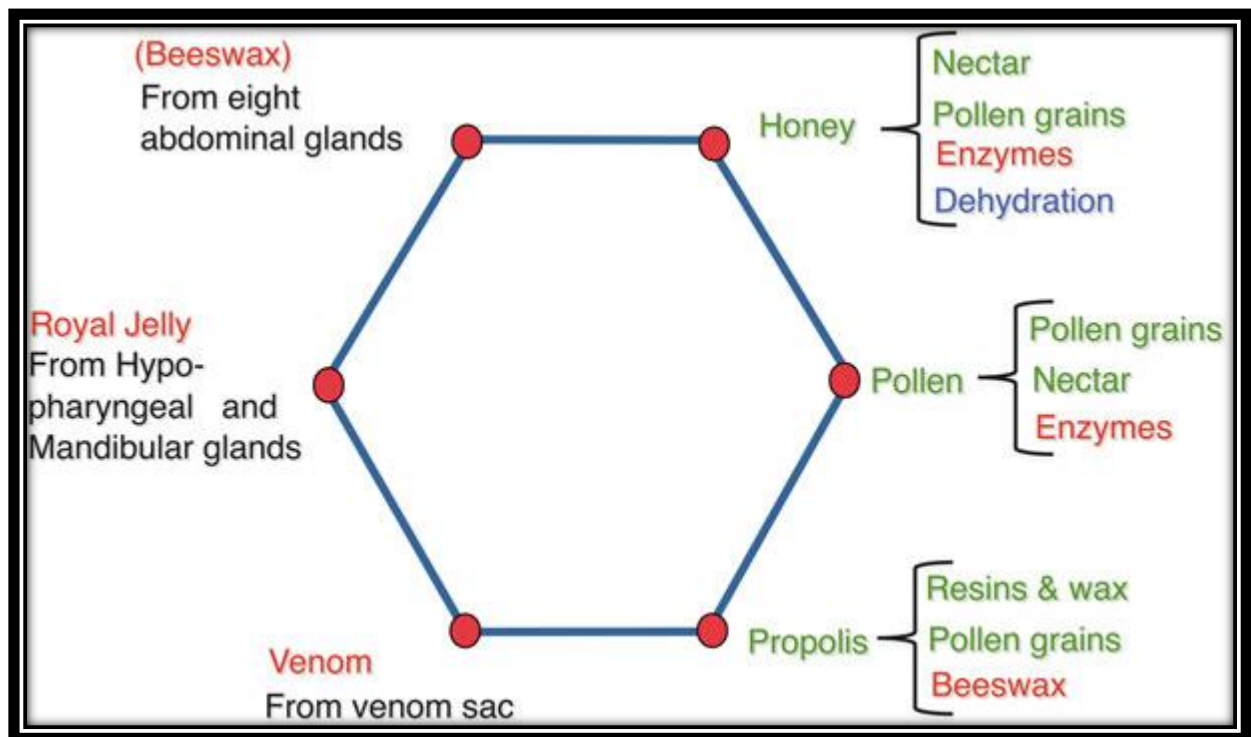


Figure n° 01 : Les produits de l'abeille (Cherbuliez, 2013).

● sécrétion      ● collection      ● modification

## 1.3. Produits de l'apithérapie (produits de la ruche) :

Les abeilles sont des ingénieurs chimistes. Leurs succès dans le règne animal sont largement dus à la chimie et à l'application de leurs produits : miel, cire d'abeille, venin, propolis, pollen et gelée royale. Trois de ces produits, la cire d'abeille, le venin et la gelée royale sont synthétisés chimiquement par les abeilles elles-mêmes. Les trois autres sont dérivés des plantes et sont modifiés

et manipulés par les abeilles pour leur propre usage. L'utilisation de ces produits explique le succès étonnant des abeilles (Shmidt, 1997).

**a) Le miel**

Le miel est le seul produit au monde qui soit consommé par l'homme et fabriqué par un insecte. rare, de couleur et de saveurs variées, parées de mille vertus, il parvient sur notre table telle que les infatigables ouvrières l'ont élaboré en prélevant les ressources dans leurs environnements sans ajout ni transformation naturel et authentique (Clément et Chesnais, 2009).

Le miel est le fruit d'une longue transformation enzymatique opérée par les abeilles sur les nectars récoltés des fleurs. Depuis la nuit des temps, le miel est considéré comme le premier produit naturel nourrissant et bénéfique pour la santé humaine (Lokossou et *al.*, 2017). Il est constitué de 75 % de fructose, de glucose et de saccharose et de 15-21 % d'eau. Parmi les constituants chimiques, on note une importante quantité d'acide glucuronique produit par les sucres sous l'effet du glucose oxydase. Son acidité va d'un pH de 3,2 à 4,5 (Goetz, 2009). Ses sucres sont facilement assimilables, ses qualités antibactériennes, antiinflammatoires et antioxydantes, dont l'inhibition de la formation des radicaux libres, en font un aliment de premier plan. Il améliore la rétention du calcium et du magnésium, ainsi que la teneur du sang en hémoglobine. En milieu hospitalier, il est utilisé aussi pour la cicatrisation des plaies (Bruneau et *al.*, 2003).

**b) Le pollen**

Le pollen des fleurs est en fait la cellule sexuelle mâle de la plante. Il provient de la poudre fine présente sur les étamines récoltée par les abeilles (Strant, 2014). Dans la ruche, le pollen collecté, humidifié de salive et fragmenté par des abeilles, emballé dans des cellules du nid. Ensuite, la surface du pollen collecté est recouverte d'une fine couche de miel et de cire. La substance créée est du pain d'abeille qui subit une fermentation anaérobique et se conserve grâce à la formation d'acide lactique. Le pain d'abeille constitue la source de protéines de base de la colonie d'abeilles. De plus, c'est aussi la source de substances nutritives et minérales pour la gelée royale produite par les abeilles ouvrières (Komosinska et *al.*, 2015). Le pollen est un aliment naturellement riche et complet. Il est parfaitement équilibré en matière d'apport calorique, de glucide (environ 55 %), de lipides (environ 30 %) et de protéines (environ 15 %). Le pollen contient également des microéléments essentiels tels que l'ensemble des vitamines du groupe B, de la vitamine C, D et E. Il renferme de nombreux minéraux tels que le magnésium et le sélénium, ce dernier étant notamment utile pour la protection de l'organisme contre les radicaux libres (Webmaster1).

C'est un Aliment de croissance pour la larve et l'abeille, le pollen est aussi un aliment de choix pour l'homme. On le décrit comme un aliment énergétique idéal pour redonner un coup de

fouet aux plus fatigués et en ne lui connaît guère de contre – indications en dehors de son caractère laxatif, ce qui pour certains est justement un intérêt essentiel (Goût et Jardel, 2008).

Le pollen aurait, selon certaines études, des activités bactériostatiques et bactéricides et inhiberait la croissance des souches d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa* et d'autres micro-organismes pathogènes. Il déclenche une forte sécrétion gastrique d'acide lors de son ingestion. Egalement, la microflore apportée par celui-ci aiderait à l'équilibre de la flore intestinale et assurerait le transit grâce à la présence d'amidon et de fibres alimentaires cellulosiques. De plus, il exercerait une action anti-inflammatoire selon une étude menée chez les rats (Al Hamidi, 2017).

### **c) La gelée royale**

La gelée royale est un mélange de sécrétions des glandes hypopharyngiennes et mandibulaires des abeilles ouvrières, sans aucun additif. C'est un produit exclusivement animal. Elle constitue la nourriture des reines au stade larvaire et au stade adulte. Il s'agit d'un aliment brut et naturel, non transformé et exempt d'additifs (Fayet, 2015). La gelée royale contient 70 % d'eau. Son pH est de 3 à 4. Ses autres composants : des protéines et huit acides aminés libres pour la moitié de sa matière sèche (13 % de son poids), des glucides comme le glucose et le fructose pour 14 % de sa matière sèche et 4,5 % d'acides gras, dont l'acide hydroxytransdécénoïque, antibactérien, antifongique et antigerminatif. La gelée royale est un concentré de minéraux (calcium, fer, potassium) et de vitamines dont l'acide pantothénique. Une substance active, l'acétylcholine, est un vasodilatateur et un médiateur de l'influx nerveux. La gelée royale contient également un facteur antibactérien actif sur les bactéries du genre *Proteus* et les colibacilles, mais aussi des hormones (estradiol, testostérone et progestérone) et une gammaglobuline (Ballot, 2009).

### **d) La cire d'abeille**

Les abeilles ont besoin de cire comme matériau de construction. Ils le produisent dans leurs glandes de cire, qui sont entièrement développées chez les ouvrières de 12 à 18 jours. Chez les abeilles plus âgées, les glandes de cire diminuent leurs activités, cependant, dans les situations d'urgence, la synthèse de cire peut être réactivée. Les plus grandes quantités de cire sont produites pendant la phase de croissance des colonies d'abeilles mellifères, dans des conditions climatiques modérées, d'avril à juin, dans les climats tempérés (Bogdanov, 2004). Elle a des propriétés antibiotiques et peut être utilisée pour traiter l'arthrite et les inflammations nasales (Hilmi et al., 2011). La cire est utilisée dans les industries de village pour la fabrication des bougies, et en tant que composant des pommades, savons et encaustiques. Elle est très demandée sur le marché mondial. On recense plus de 300 utilisations industrielles de la cire d'abeille. Les industries

cosmétiques et pharmaceutiques, qui sont les principaux utilisateurs, à raison de 70 pour cent du commerce mondial, utilisent de la cire d'abeille de très haute qualité qui n'a pas été surchauffée. Les autres principaux utilisateurs sont les industries apicoles des pays industrialisés où la cire d'abeille entre dans la composition des fonds de teint en cosmétique et des bougies (Bradbear, 2005).

Pour diverses raisons, la cire d'abeille est une excellente denrée de rapport ou d'exploitation au profit des consommateurs ruraux :

- La transformation de la cire est un procédé simple ;
- Le transport et le stockage de la cire d'abeille sont faciles parce qu'aucun emballage particulier n'est nécessaire ;
- La cire de l'abeille ne se détériore pas avec le temps (Bradbear, 2005).

#### **e) Le venin d'abeille**

Apitoxine ou venin d'abeille, est un mélange de protéines : mélitine (composant principal à 52 %), apamine, adolapine, phospholipase A2, hyaluronidase, histamine, dopamine et inhibiteur de protéase. Il s'agit d'un liquide amer et incolore de masse volumique de 1,1313 g/cm<sup>3</sup> et de pH de 5,0–5,5. Il est utilisé depuis au moins 22 siècles, en particulier en Asie orientale. Une abeille domestique (*Apis mellifera L.*) peut injecter 0,012–0,1 mg de venin via son aiguillon (Buchta et al., 2014). Le venin est synthétisé par les abeilles en tant qu'agent défensif contre les prédateurs, principalement les grands mammifères et d'autres vertébrés. Afin d'avoir une valeur défensive, le venin doit induire des douleurs, causer des dommages ou avoir une autre activité pharmacologique ou sensorielle chez le prédateur potentiel (Shmidt, 1997). Il est utilisé dans le traitement de différents syndromes de douleur et de troubles neurologiques tels que la douleur au cou, la lombalgie, la hernie discale, les maladies articulaires, les entorses et la polyarthrite rhumatoïde. Il a été démontré que l'injection du venin d'abeille dans l'acupoint de Zusanli a produit un effet anti-inflammatoire et anti-nociceptif significativement plus puissant que l'injection dans un non-acupoint dans un modèle d'arthrite rhumatoïde induite par adjuvant de Freund (Tekeoglu et al., 2016).

#### **f) La propolis**

Tous les apiculteurs connaissent cette matière résineuse que les abeilles utilisent pour colmater les fissures et consolider les cadres. On utilisait la propolis pour soigner les plaies et certaines maladies de peau. Les vertus cicatrisantes de cette résine sont un peu oubliées, c'est dommage, car la propolis pourrait remplacer avantageusement beaucoup d'autres médicaments (Fronty, 1984). La propolis, une substance résineuse utilisée par les abeilles pour assainir et renforcer leur ruche, a longtemps été reconnue pour ses propriétés antibactériennes et

antifongiques. Souvent appelée « colle d'abeille », la propolis a été utilisée par voie topique pour guérir les infections fongiques, les aphtes et les plaies et a également été utilisée pendant des siècles comme remède contre le rhume, parmi de nombreuses autres maladies (Paska, 2014).

# Chapitre II

## *Etat de connaissance sur la propolis*

## **II. Notions d'ensemble sur la propolis**

### **2.1. Définition de la propolis**

Propolis en français, en anglais propolis, en arabe البروبوليس، أو العكبر، أو صمغ النحل.

La propolis (du grec pro : devant, à l'entrée et polis : ville) est une substance naturelle élaborée par des abeilles ouvrières spécialisées (Ghedira et *al.*, 2009). La propolis provient de résines végétales sécrétées par certains végétaux pour se protéger. Ces résines peuvent avoir plusieurs fonctions : protection contre les pathogènes (champignons) et contre le froid. C'est un produit naturel d'origine mixte (animale et végétale) issu de la récolte par l'abeille de ces résines végétales provenant de bourgeons de feuilles, de tiges ou de fleurs, auxquelles elles ajoutent leurs propres sécrétions, cire et sécrétions des glandes salivaires et hypopharyngiennes ( $\beta$ -glucosidase), afin de pouvoir les utiliser comme protection dans la ruche (Bruneau, 2015) (voir figure n° 02).



**Figure n° 02** : abeilles porteuses de propolis dans la colonie  
(Finstorm et Spivak, 2010).

La propolis est vieille comme le miel, et elle a été utilisée par l'homme pendant des siècles. Il y a des documents suggérant d'utiliser la colle d'abeilles par les anciens Égyptiens, les Perses et

les Romains (Kuropatnicki et *al.*, 2013). Des abeilles fabriquant de la propolis étaient représentées sur des vases de l'Égypte ancienne où le symbole des abeilles était souvent imbriqué avec les titres des rois et utilisées comme motif sur les ornements présentés comme récompenses pour la valeur. Les anciens Égyptiens utilisaient la propolis pour aider à corriger de nombreuses maladies (Wade, 1992).

Aristote, Plin et Avicenne ont cité dans leurs écrits ses qualités curatives et cicatrisantes des plaies. Elle a été utilisée au même titre que le miel pour les blessures des soldats. À la suite de la découverte de nombreux médicaments de synthèse, elle tomba généralement dans l'oubli (Philippe, 2006). La propolis est retrouvée également dans les livres de Géorgie à partir du 12e siècle où elle rentra dans la préparation de nombreux remèdes (Webmaster 2). Les pharmacopées londoniennes du 17e siècle ont été classées la propolis comme médicament officiel. Entre le 17e et le 20e siècle, le médicament est devenu très populaire en Europe en raison de son activité antibactérienne (Castaldo et Capasso, 2002). Au début du 19e siècle, la propolis a été étudiée et décrite par Nicolas Louis Vauquelin, pharmacien et chimiste français, Vauquelin dit que la propolis ou le mastic d'abeille est collecté par les abeilles. C'est une substance résineuse, ductile et odorante de couleur brun rougeâtre (Kuropatnicki et *al.*, 2013). À la fin du XIXe siècle, la propolis était largement utilisée en raison de ses propriétés curatives et, au cours de la Seconde Guerre mondiale, elle était utilisée pour le traitement de la tuberculose en raison du déclin des problèmes pulmonaires et de la récupération de l'appétit. Le premier travail scientifique sur la propolis a été publié en 1908, y compris ses propriétés chimiques et sa composition, qui ont ensuite été indexées sur des résumés chimiques (Castaldo et Capasso, 2002). En 1928, le scientifique allemand Rösh, sur la base des observations méticuleuses, a confirmé l'hypothèse de Plinius que la propolis provient des bourgeons des plantes. Le chercheur russe Popravko a prouvé cette théorie en comparant la composition de la résine des bourgeons et de la propolis (Webmaster2).

## **2.2. Utilisation de la propolis par les abeilles**

En raison de sa nature cireuse et de ses propriétés mécaniques, les abeilles utilisent la propolis pour la construction et la réparation de leurs ruches (Wagh, 2013). Lorsque cette substance se solidifie dans les fissures et les ouvertures, elle agit pour contrôler l'environnement interne tout en renforçant et protégeant contre des intrus (Wade, 1992), plus important encore, pour empêcher la décomposition des créatures qui ont été tuées après une invasion (Marcucci, 1994).

Les abeilles ont des techniques dignes de l'hygiène médicale en ce qui concerne la propreté de leur colonie. La propolis entre en jeu pour une grande part (Gharbi, 2011) : les ouvrières tapissent la ruche avec ce mastic pour l'assainir et la protéger de l'humidité et des courants d'air, et pour

aseptiser les alvéoles avant l'utilisation (Ballot, 2010). Fabriquée à partir de la résine butinée des arbres voisins, cette substance a généralement des caractéristiques antibactériennes et antifongiques qui aident à garder les choses propres dans la ruche (Paska, 2014) (voir figure n°03).



**Figure n° 03** : un crâne de souris enrobé de propolis trouvé dans une colonie d'abeilles mellifères dans un rucher de l'Université de Minnesota (Finstorm et Spivak, 2010).

### **2.3. Butinage de la propolis**

#### **- Définition des butineuses**

Ce sont des ouvrières destinées à récolter le nectar, le pollen, la propolis et l'eau. Leur rayon d'action est théoriquement, de cinq (05) km environ (Biri, 2003).

Le premier vol des futures butineuses s'exécute en groupe d'une vingtaine à une centaine. Devant la ruche, les abeilles tout en volant, se tournent face au trou de vol : c'est le vol stationnaire appelé aussi « soleil d'artifice ». La nouvelle butineuse devient une pourvoyeuse de la colonie (qui fournisse le nectar et le pollen). Elle recherche en premier lieu un secteur de butinage puis l'ayant trouvé, elle l'exploite (Prost, 1987).

- **Le butinage**

On peut grouper sous le nom de butinage, l'ensemble des activités extérieures de l'abeille (Louveaux, 1958).

Le butinage des abeilles domestiques est une entreprise sociale dans laquelle 10 000 à 25 000 butineuses par colonie travaillent étroitement ensemble pour trouver à exploiter de riches sources de nectar, miellat ou pollen. Une abeille ne butine qu'une seule espèce durant les voyages suivants tant que son rendement énergétique reste supérieur ou équivalent à celui qui offrirait le butinage d'une autre espèce florale (Janssens et *al.*, 2006).

- **Les lois de butinage**

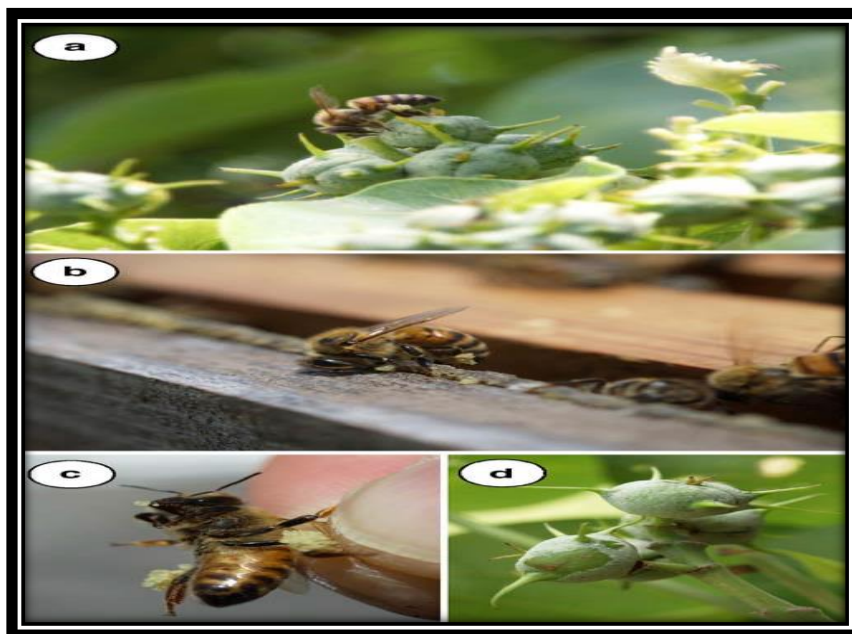
- la récolte du nectar est prioritaire sur les autres récoltes, car les besoins en nectar sont continus ;
- la récolte simultanée de nectar et de pollen est réalisée chaque fois que la possibilité existe, c'est la règle du rendement maximum ;
- La récolte exclusive d'eau, de pollen et de propolis ne s'effectue qu'en cas d'urgence ;
- Le butinage d'une espèce de plante s'effectue normalement jusqu'à l'épuisement des ressources ; c'est le phénomène de Constance des abeilles (Webmaster 3).

La collecte de la résine se fait par des butineuses spécialisées. Ce sont généralement des abeilles plus âgées, leurs glandes cireuses sont rétrécies et atrophiées (Tew, 2006). Cependant, les indices utilisés pour reconnaître la source de cette substance sont inconnus. Une hypothèse majeure est suggérée que les composés volatils libérés de la résine jouent un rôle important dans leur localisation (Finstorm et Spivak, 2010) (voir figure n° 04).

Le besoin de propolis dans la colonie est détecté par la présence de lacunes, de crevasses ou d'irrégularités dans l'architecture du nid qui permettent l'entrée des microbes, des intrus, des courants d'air et de la lumière du soleil. Une fois que la quête de résine a été initiée par une ou plusieurs abeilles, il est possible que celles-ci utilisent des danses comme un signal de recrutement au niveau des colonies, de même façon que les butineuses utilisent les danses comme signaux de communication pour recruter d'autres butineuses. Il a été constaté que 26 % des 77 butineuses de résine observées ont dansé près des sites de construction, au plus profonds de la ruche (Finstorm et Spivak, 2010).

L'abeille mord et arrache des morceaux de résine de plante avec ses mandibules et les entasse dans les corbeilles à pollen de ses pattes antérieures. Chaque corbeille peut transporter 10 mg de résine. Parfois, les abeilles ramassent des matériaux faits par l'homme et les utilisent de la

manière que la vraie propolis. Ainsi, elles ramasseront de la peinture en train de sécher, du goudron routier ou du vernis. Ces substances ont sans doute une consistance et une odeur qui ressemble à celle des résines de plantes (Bradbear, 2011). Lorsqu'il s'agit de collecte et de dispersion de la propolis, il y a une réelle division du travail entre les abeilles dans les différentes parties de la ruche. Une abeille porteuse de propolis retourne à la ruche d'une façon différente de celle qui transporte le pollen. La porteuse de pollen cherche une cellule vide dans laquelle dépose sa cargaison. Mais la porteuse de la propolis se dirige vers une zone de construction où il y a besoin de cette substance et montre aux autres abeilles ce qu'elle a récolté. Si les ouvrières ont besoin de propolis, elles s'approchent de la porteuse et prennent ce dont elles ont besoin de sa corbeille. Ensuite, elles la mélangent immédiatement avec la cire, en formant un adhésif collant qu'elles utilisent dans le processus de construction. Le point frappant est que la porteuse de propolis n'est pas impliquée dans les travaux de construction, mais elle attend que ses collègues entreprennent leur tâche pour décharger sa corbeille. Chaque membre de la colonie a un travail particulier qui lui est propre. Chacune d'elles s'occupe dans son propre devoir, et les abeilles ne donnent un coup de main à un autre travail que s'il y a des problèmes. Pour cette raison, une abeille n'est pas impliquée dans la collecte de la résine et en même temps dans la réparation et la momification, ou encore dans l'expulsion hors de la ruche de ce qui a été momifié (Oktar, 1994).



**Figure n° 04** : abeille recueillant les matériaux de surface de fruit de *Macaranga tanarius* (famille des Euphorbiaceae), pour les ramener dans son nid comme propolis. **a** : abeilles mellifères ramassant le matériau de surface des fruits, **b** : les abeilles attachant la propolis au nid, **c** : une abeille avec un morceau de propolis sur sa jambe, **d** : matériel de surface des fruits restants après la collecte par les abeille (Kamazawa et *al.*, 2008).

La récolte de la propolis par les abeilles dépend de nombreux facteurs :

➤ **Saisonnier** : la récolte a lieu, selon les cas, soit en début de saison, c'est-à-dire au printemps, mais le plus souvent et principalement à la fin de la miellée ou à l'approche de l'automne, au moment où la colonie commence ses préparatifs d'hivernage ;

➤ **Géographiques** : c'est ainsi, entre autres, que les ruches situées dans les régions boisées propolisent davantage que les ruches de plaines ;

➤ **Climatique** : les abeilles récolteuses de propolis déploient en général leur activité au cours des journées chaudes (température supérieure à 20 °C) et en outre, pendant les heures les mieux exposées à cette chaleur (soit entre 10 h et 15 h 30mn) ceci du fait que les substances ramassées sont trop dures pour être exploitées en dehors de ces horaires (Webmaster 2).

## **2.4. Récolte de la propolis par l'apiculteur**

La propolis peut se récolter par grattage des cadres ou des parties de la ruche qu'en porte.

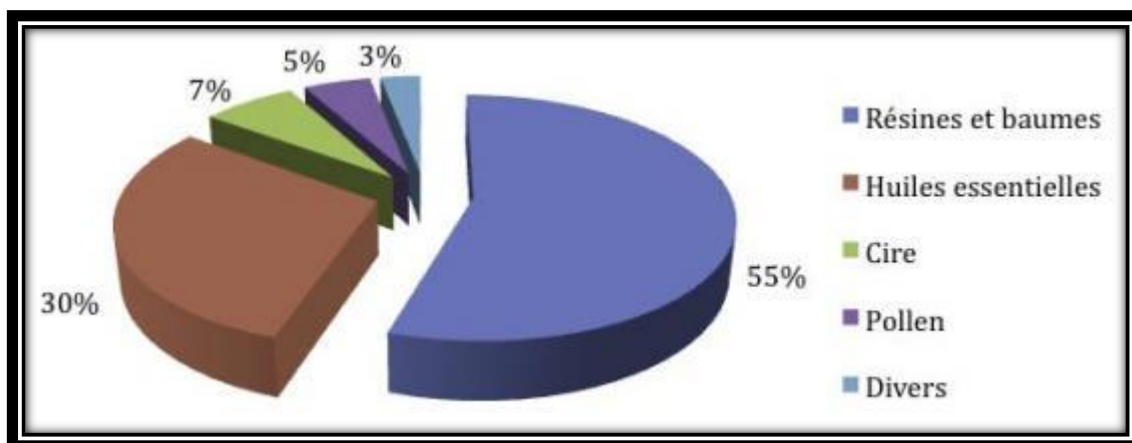
Mais, la propolis obtenue est de mauvaise qualité à cause des impuretés qu'elle contient. Les abeilles ont tendance à boucher les interstices dans leurs nids. Une méthode pratique et propre consiste à placer une grille métallique ou de plastique au-dessus du nid, d'attendre que les abeilles en remplissent les interstices de propolis, puis d'enlever cette grille. On la place ensuite au congélateur pour que la propolis devienne bien cassante, puis on tord la grille de façon à faire tomber la propolis. La préparation de la propolis brute en vue de son emploi domestique passe par plusieurs opérations : nettoyage à l'eau, séchage, triage, passage au congélateur pour la durcir et broyage (Ferhoum, 2010).

## **2.5. Composition de la propolis**

Comme la propolis n'est pas facilement fractionnée, au début du XXe siècle, seule sa composition brute avait été déterminée (résine, cire, composants volatils et matière insoluble). Les premiers composés à identifier étaient l'alcool cinnamylique et l'acide cinnamique, la vanilline et ensuite la chrysin. À partir des années 1960, les flavonoïdes et autres composés phénoliques ont été identifiés. Avec l'avènement des techniques chromatographiques modernes fréquemment associées à la spectrométrie de masse, de nombreux composés ont été isolés et identifiés dans la propolis, amenant le nombre de composants connus à des centaines (Sawaya et al., 2004). La composition de la propolis dépend principalement de la végétation de la zone d'où elle a été collectée (Midorikawa et al., 2001). La propolis des régions tempérées (dérivée du peuplier) contient principalement des flavonoïdes, des acides aromatiques et leurs esters. La propolis méditerranéenne de Croatie, d'Algérie, de Grèce et de Chypre présente un profil chimique de type peuplier, tandis

que les échantillons de Crète sont riches en diterpènes. La propolis de Taiwan et d'Okinawa contient des flavanones en tant que constituants majeurs. La propolis des régions tropicales contient une diversité de composés phénoliques : dérivés de l'acide cinnamique, flavonoïdes, benzophénones et lignanes, et autres classes de constituants (Righi *et al.*, 2013).

Pour comprendre ce qui cause les différences de composition chimique, il faut garder à l'esprit l'origine botanique de la propolis. Pour la production de propolis, les abeilles utilisent des matériaux issus de divers processus botaniques dans différentes parties des plantes. Ce sont des substances activement sécrétées par les plantes ainsi que des substances exsudées par les plaies des plantes : matières lipophiles sur les feuilles et les bourgeons, gommés, résines, latex, etc. (Ahuja, 2011) (voir figure n°05). Sa composition chimique dépend de nombreux facteurs (type d'abeille, gestion de l'environnement de la flore, saison, végétation et zone géographique de collecte). Pour cette raison, il n'a pas de formule chimique spécifique, certaines analyses de propolis indiquent qu'il contient principalement : résine 55 %, cire 35 %, huile, matière organique, minéraux tels que l'aluminium, cobalt, fer, nickel, calcium, silicium, zinc, pollen et impuretés mécaniques. Leur rapport est variable et dépend du temps de collecte ainsi que des plantes résineuses et des abeilles (Rios *et al.*, 2014).



**Figure n° 05** : composition de la propolis (Webmaster 4).

Plus de 300 composés ont été identifiés dans la propolis, ont divers effets pharmacologiques, y compris antioxydant, antimicrobien, anti-inflammatoire, hépatoprotecteur et immunomodulateur.

Les principales composantes de la propolis ont été identifiées comme polyphénols (flavonoïdes, les acides phénoliques et leurs esters), les terpénoïdes, les stéroïdes et les acides aminés et autres composants (Mihai *et al.*, 2012). Les composés phénoliques forment un très vaste ensemble de substances qui l'est difficile de définir simplement. L'élément structural fondamental

qui les caractérise est la présence d'au moins un noyau benzénique auquel est directement lié à un groupe hydroxyle libre ou engagé dans une autre fraction : éther, ester, ou hétéroside (Saihi, 2011).

Contrairement aux composés phénoliques, la composition des huiles volatiles différait de manière significative. Différents groupes de composés ayant été trouvés dans les huiles essentielles de la propolis. Ces huiles consistent principalement en terpénoïdes. Dans ce groupe prédominent les hydrocarbures sesquiterpénoïdes, accompagnés de certains monoterpènes, principalement des alcools. Une autre partie des substances volatiles semblait être des alcools principalement aromatiques, des phénols, des aldéhydes et des acides cétoniques. Une série des alcanes ont été trouvés accompagnés de benzènes alkylés et de manière surprenante par le naphthalène. Deux éthers vinyliques ont également été trouvés (Bankova et al., 1993) (voir tableau n° 01).

**Tableau n° 01** : composition quantitative de la propolis (Nicolay, 2014).

Structure	composants
<b>Alcools</b>	Méthylbenzène, alcool cinnamique, glycérol, $\alpha$ -glycérophosphate, hydroquinone, isobutenol, alcool phénéthylique, alcool prénylique.
<b>Aldéhydes</b>	Benzaldéhyde, hexanal, p-hydroxybenzaldéhyde, isovanilline, protocatechualdéhyde, vanilline.
<b>Acides et esters aliphatiques</b>	Acide acétique, acide angélique, acide butyrique, acide crotonique, acide fumarique, acide isobutyrique, acide méthylbutyrique, acétate d'isobutyle, acétate d'isopentyle, acétate d'isopentenyle
<b>Acides aminés</b>	Alanine, $\beta$ -alanine, acide $\alpha$ -aminobutyrique, acide $\delta$ -aminobutyrique, arginine, asparagine, acide aspartique, cystine, cystéine, acide glutamique, glycine, histidine, hydroxyproline, isoleucine, leucine, lysine, méthionine, ornithine, phénylalanine, proline, acide pyroglutamique, sarcosine, sérine, thréonine, tryptophane, tyrosine, valine.
<b>Phénols</b>	Acide benzoïque, acide caféique, acide cinnamique, acide coumarique, acide 3,4-diméthoxycinnamique, acide férulique, acide gallique, acide dihydrobenzoïque, acide hydroxycinnamique, acide phydroxybenzoïque, acide férulique, acide 4 méthoxycinnamique, acide protocatechuique, acide salycique, acide vanillique, acide veratrique.
<b>Esters aromatiques</b>	Acétate de benzyle, benzoate de benzyle, caféate de benzyle, coumarate de benzyle, benzyl-3,4-diméthoxycinnamate, benzyl ferulate, benzyl isoferulate, benzyl salicylate, butenyl caffeate, butyl caffeate, cinnamyl benzoate, cinnamyl caffeate, butyl caffeate, cinnamyl coumarate, cinnamyl isoferulate, ethyl benzoate, ethyl caffeate, methyl benzoate, 2- methyl-2-butenyl caffeate, 3-methyl-2-butenyl coumarate, 3-methyl- butenylferulate, 3-methyl-3-butenyl ferulate, 2-methyl-2-butenyl isoferulate, 3-methyl-3-butenylisoferulate, methyl salicylate, phenyl ethyl caffeate, phenyl ethylcoumarate, phenylethylisoferulate

	pentyl caffeate, pentenyl caffeate, pentenyl ferulate, prenylcaffeate, prenyl coumarate, prenyl ferulate, prenyl isoferulate.
<b>Chalcones et dihydrochalcones</b>	Alpinetine chalcone, naringenine chalcone, pinobanksine chalcone, Pinobanksine-3-acétate chalcone, pinocembrine chalcone, pinostrobine chalcone, sakuranetine chalcone, 2, 6, a-trihydroxy-4-méthoxychalcone, 2,6-dihydroxy-4-méthoxydihydrochalcone, 2,4,6-trihydrodihydrochalcone.
<b>Flavanones</b>	Naringenine, pinobanksine, pinobanksine-3-acétate, pinobanksine-3-butyrate, pinobanksine-3-hexanoate, pinobanksine-3-méthyl éther, pinobanksine-3-pentanoate, pinobanksine-3-pentenoate, pinobanksine-3-propanoate, pinocembrine, pinostrobine, sakuranetine, 3,7-dihydroxy-5-méthoxyflavanone, 2,5-dihydroxy-7-méthoxyflavanone
<b>Flavones et flavonols</b>	Acacetine, apigénine, apigénine-7-méthyl éther, chrysine, fisetine, galangine, galangine-3-méthyl éther, izalpinine, isorhamnetine, kaempferide, kaempferol, kaempferol-3-méthyl éther, kaempferol-7-méthyl éther, kaempferol-7,4-diméthyl éther, pectolinarigenine, quercetine, quercetine-3,7-diméthyl éther, ramnetine, ramnocitrine, tectocrisine.
<b>Alcanes, esters, éthers, cires hydrogénées</b>	Heneicosane, hentriacantane, heptacosane, hexacosane, nonacosane, pentacosane, tricosane, tripentacantane, tritriacantane, dotriacontylhexadecanoate, dotriacontyl-[(Z)-octadec-9-enoate], hexacosylhexadecanoate, hexacosyl-[(Z)-octadec-9-enoate], octacosylhexadecanoate, octacosyl-[(Z)-octadec-9-enoate], tetracosylhexadecanoate, tetracosyl-[(Z)-octadec-9-enoate], tetratriacontylhexadecanoate, tetratriacontyl-[(Z)-octadec-9-enoate], triacontylhexadecanoate, triacontyl-[(Z)-octadec-9-enoate].
<b>Acide carboxylique</b>	Acide arachidonique, acide béhénique, acide cérotique, acide laurique, acide linoléique, acide lignocérique, acide montanique, acide myristique, acide oléique, acide palmitique, acide stéarique
<b>Cétones</b>	Acétophénone, <i>p</i> -acétophenolacétophenone, dihydroxyacétophénone, methylacétophénone, hept-5-en-2-one, 6-méthylcétone.
<b>Terpenoïdes et autres composants</b>	$\alpha$ -acétoxibétulenol, $\beta$ -bisabolol, 1,8-cinéole, $\alpha$ -copaène, cymène, limonène, pterostilbène, styrène, xanthorreol, xylitol, naphthalène, 4-hexanolactone, sesquiterpène alcool, sesquiterpène diol.
<b>Stéroïdes</b>	Acétate de calinasterol, acétate de $\beta$ -dihydrofucosterol, acétate d'ucostérol, acétate de stigmastérol.
<b>Sucres</b>	Fructofuranose, $\alpha$ -D-glucopyranose, $\beta$ -D-glucopyranose.
<b>Minéraux</b>	Aluminium, calcium, manganèse, silicium.

- **Profils chimiques de la propolis Algérienne :**

L'analyse spectrométrique de la propolis collectée dans la région de Jijel (Nord Est algérien), a identifié des structures de 04 flavones : pectolinargénine, ladaneine, chrysine et apégénine (Segueni et *al.*, 2011). Ainsi, l'analyse de la chromatographie sur couche mince des deux extraits éthanoliques de la propolis de la région d'Annaba a révélé la présence des flavonoïdes suivant : pectolinargénine, pilosine, ladaneine, chrysine, Apigénine, acide caféique, 5,4-dihydroxy-7,3-methoxyflavone (Segueni et *al.*, 2014). Parmi les composés identifiés dans les extraits éthanoliques de la propolis de l'Ouest algérien : acide caféique, acide férulique, Apigénine, phenethyl cafféate, cinnamyl cafféate et techtochrysin (Benhanifia et *al.*, 2013). Acide chicorique, acide caféique, et acide caftarique, qui sont identifiés dans les extraits de la propolis de la région du Constantine, par la technique de la chromatographie sur colonne (Segueni et *al.*, 2010 a).

L'analyse de la composition chimique des extraits éthanoliques de la propolis des zones de montagne, de plaine, et de la steppe, par chromatographie sur couche mince (CCM), a indiqué la présence des composés de la famille des acides aliphatiques et celle des acides phénoliques dans la propolis des trois régions. Pour l'identification des flavonoïdes, il a été constaté la présence de pinosombrine, chrysine, et l'acide caféique dans les extraits de propolis de montagne et de la plaine (Ferhoum, 2010).

Cinquante-quatre composés volatiles identifiés dans les huiles essentielles de la propolis de Jijel et Mila : 2-hexenal, acide myristique, acide linoléique, spathulénol, isooctane, undecane, hexadecane, p-cymène, acide palmitique, 4-terpinéol, carvacrol, alphacedrol, etc...(Segueni et *al.*, 2010 b).

## **2.6. Propriétés physico chimiques de la propolis**

Les caractéristiques organoleptiques (couleur, odeur, goût) et la composition physico-chimique de la propolis peuvent varier selon la flore, les conditions saisonnières d'une région géographique déterminée, l'heure et la date de récolte et la technique employée (Puker et *al.*, 2010).

La propolis se présente sous l'aspect d'une substance de consistance variable en fonction de la température : dure et friable à 15°C, elle devient molle et malléable aux alentours de 25 à 45°C et collante ou gluante en dessus, jusqu'à fondre vers 60°C – 70°C en moyenne. Mais le point de fusion peut aller jusqu'à 100°C et au-delà. D'odeur variable selon son origine, en général arôme agréable et douceâtre mélangé à celui du miel, de la cire et d'autres produits (cannelle, vanille). Si elle est brûlée, elle dégage une odeur d'encens très délicate et très recherchée par rapport aux résines aromatiques (Marcucci, 1994). Compte tenu de la structure complexe de la propolis, celle-ci ne peut

être utilisée directement (Ahnagari et *al.*, 2018). La propolis est insoluble dans l'eau et partiellement soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme, le propylène glycol, le benzène, le diméthylsulfoxyde, etc. En fonction de la température, non seulement la vitesse de dissolution varie mais aussi la solubilité des fractions sont différentes, exemple : la cire est dissoute dans l'alcool chaud mais est peu soluble dans l'alcool froid (Sosnowski, 1984) (voir tableau n° 02). Après macération dans l'éthanol, la propolis brute est séparée en trois fractions distinctes : une contenant des composants insolubles tels que des composés inorganiques : pollen, grains, terre et autres, une autre contenant de la cire et une troisième contenant les composés solubles dans l'éthanol. Cette troisième fraction, appelée extrait éthanolique de propolis (EEP), contient des composés très étudiés à travers le monde pour leurs nombreuses activités pharmacologiques (Cunha et *al.*, 2006).

**Tableau n° 02** : solvants organiques utilisés pour l'extraction des composés actifs de la propolis (Wagh, 2013).

Eau	Méthanol	Ethanol	Chloroforme	Dichlorométhane	Ether	Acétone
Anthocyanine	Anthocyanines	Tannins	Terpenoides	Terpenoides	Alcaloïdes	Flavonoïdes
Tanins	Terpénoides	Polyphénols	Flavonoïdes	Tanins	Terpenoides	
Terpénoides	Saponines	Polyacétylènes		Polyphénols	Coumarines	
Polypeptides	Tanins	Terpenoides		Polyacétylènes	Acides gras	
	Xantholin	Stéroïls		Stéroïls		
	Totarol	alcaloïdes		Alcaloïdes		
	Quassinoides					
	Lactones					
	Flavones					
	Polyphénols					
	Polypeptides					

## 2.7. Conservation de la propolis

La conservation de la propolis est facile, sans aucun impératif particulier pour la plupart de ses présentations. L'exposition prolongée à la chaleur et à la lumière est tout de même déconseillée.

Le stockage de longue durée ne semble pas diminuer sa teneur en composants actifs ni son action antibactérienne (Gharbi, 2011).

## **2.8. Teintures officinales**

Les teintures officinales sont obtenues par dilution de la propolis dans une solution d'alcool à 70 %. L'alcool peut ensuite être évaporé. Les cires, peu solubles dans l'alcool à basse température sont éliminées. Les teintures contiennent de 3 – 30 % de propolis. Il est également possible de réaliser des solutions aqueuses de propolis (Gharbi, 2011).

## **2.9. Les extraits**

Les extraits mous sont obtenus après reconcentration de la teinture officinale par évaporation partielle. Les principes actifs sont présents à fortes concentrations et les cires absentes. Ils peuvent être utilisés comme tel redilués dans de l'alcool ou de l'eau, ou en association avec d'autres matières actives. Les extraits secs sont obtenus par évaporation totale de la teinture (Gharbi, 2011).

## **2.10. Lyophilisation**

La lyophilisation de la propolis conserve ses constituants actifs et ses propriétés biologiques.

La poudre conserve indéfiniment sous vide et se dissout instantanément dans l'eau (Gharbi, 2011).

## **2.11. Sécurité alimentaire et contrôle de qualité de la propolis**

À cause de ses propriétés antioxydantes et antimicrobiennes, la contamination par les germes pathogènes des produits à base de propolis est presque impossible, si les extraits rentrant dans la composition du produit, ont une quantité optimale d'extrait de propolis (entre 0,5 à 3 % exprimée en résidu sec). Il n'existe pas de normes en ce qui concerne la qualité internationale de la propolis. Les limites maximums et minimums de certains composés chimiques sont exigées, et quelques tests standardisés sont effectués pour déterminer la quantité des flavonoïdes et des phénols se trouvant dans l'extrait. Un contrôle par HPLC (chromatographie en phase liquide à haute performance) est souhaitable tous les ans, si on fait une seule extraction annuelle (Webmaster 5).

## **2.12. Propriétés pharmacologiques de la propolis**

La médecine populaire recommande l'utilisation de la propolis en raison de ses effets antibactériens, antifongiques et antiviraux et de ses propriétés hépatoprotectrices et anti-inflammatoires, pour augmenter la résistance aux infections et traiter les ulcères gastro-duodénaux. (Barra *et al.*, 2015). Les applications actuelles de la propolis comprennent les préparations à base de propolis pour traiter le syndrome du froid (infections des voies respiratoires supérieures), le rhume et la grippe, le traitement des brûlures, l'acné, l'herpès simple, les organes génitaux et la neurodermatite (Ramanuskienė *et al.*, 2013). En cosmétique, les extraits de la propolis sont généralement incorporés dans la préparation des dentifrices, des shampooings, des savons de

toilette, des crèmes, des comprimés et des chocolats. Une solubilité accrue dans l'eau de plusieurs des composants bioactifs, peut être obtenue en formant un complexe de propolis avec des cyclodextrines (Fontana et *al.*, 2004).

Bien que la propolis ait des valeurs nutritionnelles limitées par rapport à la gelée royale et au miel, environ 1 % de son contenu est constitué d'acides aminés dont l'arginine et la proline représentent environ la moitié de cette quantité (Fontana et *al.*, 2004).

**a) Propriétés antioxydantes**

Les dérivés réactifs de l'oxygène (ROS) et les radicaux libres sont des sous-produits du métabolisme cellulaire normal dans la vie aérobie, où l'oxygène moléculaire est omniprésent. Les ROS sont générés lors de l'irradiation par la lumière ultraviolet, par les rayons X et par les rayons gamma ; ils sont des produits de réactions catalysées par des métaux ; présents comme polluants dans l'atmosphère ; ils sont aussi produits par les neutrophiles et les macrophages pendant l'inflammation ; et sont des sous-produits des réactions de transport d'électrons catalysées par les mitochondries et d'autres mécanismes (Gülçin et *al.*, 2010).

Il a été signalé que les ROS peuvent contribuer à des dommages oxydatifs des lipides, des protéines et des acides nucléiques dans les cellules vivantes. Il est bien connu que les radicaux libres ou les dérivés réactifs de l'oxygène jouent un rôle important dans le développement de nombreuses maladies chroniques, telles que le vieillissement, les maladies cardiaques et le cancer (Gülçin et *al.*, 2010). L'oxydation des lipides dans les systèmes biologiques par l'intermédiaire de réactions radicalaires en chaînes non contrôlées aboutit à de nombreux types de lésions cellulaires (Laguerre et *al.*, 2007)..

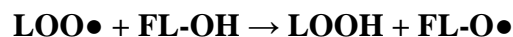
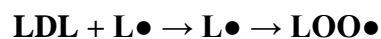
Dans les membranes, l'oxydation des lipides et la réaction des produits d'oxydation avec les autres constituants membranaires vont altérer certaines fonctions biologiques cruciales telles que la perméabilité, la fluidité ou encore l'activité de récepteurs et d'enzymes. Dans les LDL (lipoprotéine de basse densité), l'oxydation des lipides joue un rôle majeur dans le développement de l'athérosclérose. Les LDL oxydés se comportent en effet comme de véritables « chevaux de Troie », en introduisant dans les macrophages des produits d'oxydation qui participent « par des mécanismes encore partiellement élucidés » à la formation de cellules spumeuses et de stries lipidiques concomitantes. L'oxydation des lipides pose également de sérieux problèmes pour les industries agroalimentaires et cosmétiques qui utilisent de plus en plus d'acides gras polyinsaturés, très sensibles à l'oxydation. Dans le domaine alimentaire et au-delà de l'altération des qualités gustatives (rancissement) et nutritionnelles (pertes en vitamines et acides gras essentiels), l'oxydation des

lipides en composés hautement réactifs et toxiques (lipoperoxyradicaux, malondialdéhyde...) représente un danger réel pour le consommateur (Laguerre et al., 2007).

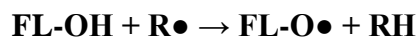
Des antioxydants synthétiques tels que l'hydroxyanisole butylé (BHA), le gallate de propyle (PG), l'hydroxytoluène butylé (BHT) utilisés pour prévenir l'oxydation ont provoqué des hémorragies internes et externes chez le rat et le cobaye à forte dose. L'attention est donc portée sur l'utilisation d'antioxydants naturels bioactifs tels que les flavonoïdes qui ont une grande importance en raison de leur origine indigène et de leur grande efficacité pour piéger les radicaux libres (Erum et al., 2015).

La propolis est l'une des sources les plus riches en composés phénoliques (flavonoïdes et acides phénoliques), généralement connus sous le nom d'antioxydants plutôt puissants. Comme la composition de la propolis varie avec son origine (elle dépend principalement de la végétation de la zone où elle a été prélevée), l'intensité de l'activité antioxydant devrait également être variable (Jasprica et al., 2007).

Les flavonoïdes inhibent les réactions d'oxydation lipidique des radicaux libres, dans lesquelles le cuivre agit comme catalyseur, permet l'oxydation des lipoprotéines LDL, selon la réaction suivante (Kurek et al., 2013):



En raison de leur faible potentiel redox, Les flavonoïdes et les acides phénoliques sont capables de réagir thermodynamiquement avec des formes d'oxygène hautement réactives en faisant don d'un atome d'hydrogène (Kurek et al., 2013):



Où  $\text{R}\bullet$  : un sulfoxyde, un radical anionique, un radical hydroxyle, un alcoxyle, ou un radical lipidique.

Les polyphénols abaissent le niveau des ROS qui contribuent à la peroxydation des lipides. En outre, la lipophilie de ces composés, qui leur permet de pénétrer dans les bicouches lipidiques, en inhibant leur peroxydation. Les flavonoïdes peuvent également, par influence directe, stabiliser les membranes biologiques, les rendant plus résistantes à l'oxydation en diminuant leurs perméabilités (Kurek et al., 2013).

**b) Propriétés cicatrisantes**

Les brûlures sont des lésions thermiques extrêmes causées par une exposition courte ou longue à un agent physique, chimique ou biologique (Pessolato et *al.*, 2011). La plupart des cas de brûlure sont causés par des incendies de bâtiments, touchant l'eau bouillie, la vapeur d'eau et les gaz inflammables (Hashemi et *al.*, 2015). Le traitement des brûlures est un problème important de la médecine clinique. Au début du 20ème siècle, le traitement local des brûlures était limité à l'application des antiseptiques et de leurs propriétés antibactériennes. Les micro-organismes trouvent des conditions extrêmement favorables au développement intensif d'une brûlure et les lésions cutanées, qui constituent une barrière protectrice naturelle, entraînent une dénaturation des protéines, une nécrose et un exsudat, avec une zone entourée d'œdème. En conséquence, les mécanismes défensifs, à la fois humoraux et cellulaires, sont altérés. Une évaluation correcte de la profondeur de brûlure détermine la décision concernant le traitement local, soit conservateur ou chirurgical (Stojko et *al.*, 2013). L'utilisation des remèdes traditionnels à base de plantes médicinales dans le traitement des brûlures et des plaies est un aspect important de la gestion de la santé et constitue en même temps un moyen efficace de proposer des options de soins de santé moins coûteuses (Shailajana et *al.*, 2011).

La propolis possède des propriétés anti-inflammatoires qui accélèrent le processus de guérison, elle est largement utilisée dans les remèdes populaires. Ces effets sont associés à ses composants chimiques. L'acide caféique est l'un des composés responsables de l'action anti-inflammatoire et de l'accélération de la cicatrisation des plaies chirurgicales chez le rat, signalant que cet acide inhibe de manière significative l'hydrolyse de l'acide arachidonique et la production de prostaglandine dans les cultures cellulaires. Ces facteurs sont de puissants médiateurs inflammatoires (Barroso et *al.*, 2011). L'application de Propolis augmente le taux de cicatrisation et la réépithélialisation des plaies diabétiques chez les rongeurs. Elle a également des rôles supplémentaires dans la diminution de l'infiltration des neutrophiles et la normalisation de l'influx de macrophages dans les tissus de la plaie (McLennan et *al.*, 2008). Appliquée à l'extérieur, la Propolis est associée à l'amélioration de divers types de dermatites causées par des bactéries et des champignons. En outre, une pommade contenant de la propolis semble être bénéfique pour favoriser la guérison des lésions d'herpès génital et réduire les symptômes locaux associés (Zedan et *al.*, 2009).

**c) Propriétés antimicrobiennes**

Le développement des agents pathogènes multi résistants a été associé à l'apparition de doses excessives et insuffisantes d'antimicrobiens. Une stratégie employée pour surmonter les mécanismes

de résistance est l'utilisation de combinaisons de médicaments et de plusieurs extraits de plantes, qui ont présenté une activité synergique contre les micro-organismes. Parmi les sources naturelles d'agents antimicrobiens utilisés pour traiter les maladies infectieuses, la propolis et les huiles essentielles de plantes aromatiques ont été étudiées de manière exhaustive (Probst et *al.*, 2011). En 1987, des chercheurs ont étudié si les combinaisons d'antibiotiques ou de médicaments antimycotiques avec la propolis étaient capables d'intensifier leur effet sur les souches de *Candida albicans*. Ils ont constaté que certaines combinaisons augmentaient l'activité et que la réduction maximale du niveau de résistance était observée dans un cas clinique de *C. albicans* traité avec une combinaison natamycine / propolis (Ota et *al.*, 2000).

La propolis possède une substance antibiotique hydrosoluble et alcoolosoluble. Cette substance n'a pas d'action inhibitrice vis-à-vis d'*Escherichia coli* et de *Pseudomonas*, elle est très active sur *Proteus vulgaris* et *Bacillus alvei*. La propolis possède en outre des propriétés anti germinatives puissantes vis à vis des grains de pollen et des grains des végétaux supérieurs. L'extrait de propolis est d'autre part le seul antifongique puissant de la ruche (Lavie, 1960 a). Il a été rapporté que l'activité antibactérienne de la propolis est attribuée à un certain nombre de composés phénoliques, principalement des flavonoïdes, des acides phénoliques et leurs esters (Darwish et *al.*, 2010). Les composants actifs de la propolis ayant un effet antibactérien comprennent la pinocembrine, la galangine, l'acide caféique et l'acide férulique. Les composants antifongiques comprennent la pinocembrine, la pinobanksine, l'acide caféique, l'ester benzylique et le ptérostilbène. Les composants antiviraux incluent l'acide caféique, la lutéoline et la quercétine (Ozcan et *al.*, 2004).

#### **d) Effets anticancéreux et cytotoxiques**

L'intérêt de développer de nouveaux médicaments anticancéreux et de concevoir des traitements combinés avec peu ou pas d'effets secondaires offre une nouvelle portée aux composés phytochimiques traditionnels dans la chimio prévention et la thérapie (Vit et *al.*, 2015). Les extraits éthanoliques de propolis ont démontré des activités antiprolifératives sur les lignées cellulaires de carcinome du côlon humain, et ont provoqué une inhibition de la croissance dépendante de la dose. Les extraits d'hexane et de dichlorométhane de la propolis ont présenté des activités antiprolifératives et cytotoxiques sur des lignées de cellules cancéreuses dérivées du cancer du sein, carcinome pulmonaire indifférencié, carcinome gastrique et adénocarcinome du côlon. En outre, la propolis turque était cytotoxique pour les cellules cancéreuses de la vessie en diminuant la division cellulaire. Récemment, une étude pilote sur l'effet de la propolis sur la santé bucco-dentaire chez patients atteints d'un cancer de tête et du cou a montré qu'un extrait aqueux de propolis prévient et guérit efficacement la mucosité induite par la radiothérapie (Utispan et *al.*, 2017).

Différentes fractions et formes de propolis naturelle récemment développées peuvent être appliquées aussi bien par voie orale que par voie parentérale et, ayant une meilleure résorption, on pense qu'elles possèdent une efficacité médicale améliorée. Il a été signalé que l'effet antitumoral de la propolis était dû aux flavonoïdes inhibant l'incorporation de thymidine, d'uridine et de leucine dans les cellules de carcinome (Eroglu et *al.*, 2008).

Parmi les composés actifs trouvés dans la propolis, le CAPE et la chryisine, qui semblent jouer un rôle clé. L'ester caféate de phénéthyl (CAPE) a des forts effets antitumoraux sur les cellules cancéreuses orales, y compris le cou et la langue. De nombreuses protéines impliquées dans le processus apoptotique sont affectées par le CAPE. Les mécanismes d'inhibition de l'activité de la protéine kinase activée par un mitogène p53, p21, p38 et de la kinase N-terminale c-Jun dans les cellules tumorales par CAPE, semblent résulter de l'inhibition de facteur nucléaire amplificateur de chaîne légère kappa des cellules B activées qui est associé à la régulation, et à la baisse des inhibiteurs de protéines apoptotiques, telles que l'expression de cIAP-1 (inhibiteur cellulaire de l'apoptose1) et cIAP-2. La chryisine, une autre composante bioactive du miel qui se trouve également à des concentrations plus élevées dans la propolis, s'est avérée avoir des propriétés biologiques et pharmacologiques significatives incluant des effets antioxydants et anti-inflammatoires, ainsi qu'une propriété anticancéreuse. La chryisine influence le processus apoptotique dans de nombreux types de lignées cellulaires, en particulier la leucémie, et induit une apoptose dans ces cellules par activation des caspases, suppression des protéines anti-apoptotiques, protéine inhibitrice cellulaire, phosphoinositide 3-kinase (PI3K) et l'inhibition de la kinase IKB (Tanachai et Chanchao, 2014).

#### **e) Effets antiparasitaires**

Des études cliniques et expérimentales ont été menées dans de nombreux pays pour étudier l'effet thérapeutique de la propolis, l'extrait éthanolique de propolis obtenu à partir de Kayseri (Turquie) était efficace contre leishmaniose et plus efficace que le stibogluconate de Sodium et sans effets secondaires (El Masoudi et *al.*, 2015).

Des études menées *in vitro* sur l'efficacité de l'extrait éthanolique de la propolis sur la croissance des trophozoïtes de *Giardia duodenalis* (*parasite intestinal*), il inhibe la croissance des trophozoïtes et le niveau d'inhibition varie en fonction des concentrations de l'extrait, et du temps d'incubation. La plus forte réduction de la croissance parasitaire a été observée dans les cultures exposées à 125, 250 et 500 mg / ml pendant toutes les périodes d'incubation (24, 48, 72 et 96 h). Une réduction de croissance de 50% a été observée dans les cultures traitées à 125 mg / ml, tandis

que les concentrations de 250 et 500 mg / ml ont pu inhiber la croissance de plus de 60%. La propolis a également inhibé l'adhésion des parasites et toutes les concentrations de propolis testées ont favorisé le détachement des trophozoïtes (Freitas et *al.*, 2006).

Les propriétés anti-protozoaires de différents extraits de propolis ont été étudiées pour *Trypanosoma cruzi* et son interaction avec les cellules hôtes. Les extraits éthanoliques et de diméthylsulfoxyde étaient tous les deux actifs contre les trois formes du parasite, le premier étant plus actif que le second contre les formes vertébrées, les amastigotes et les trypomastigotes. Une lyse totale des trypomastigotes circulants a été observée après 24 h en présence des extraits éthanoliques à une concentration de 100 µg / ml (Higashi et De Castro, 1994).

#### **f) Action anesthésique de la propolis**

L'extrait alcoolique à 4% de la propolis, dilué avec de l'eau à une concentration de 0,25%, a été signalé comme produisant une anesthésie complète de la cornée du lapin. L'effet a duré une heure, soit 3 fois celui observé pour la cocaïne et 52 fois celui de la procaine. Un effet synergique de la propolis et de la procaine a également été observé. À 0,03%, la solution (eau et alcool) ajoutée à une solution à 0,25% de procaine était 14 fois plus efficace que la procaine seule. Dans une expérience sur l'anesthésie par conduction chez les grenouilles, une solution à 1% de propolis s'est révélée 4 fois plus efficace que la procaine. On a conclu que l'extrait de propolis était essentiellement un anesthésique de surface (Ghisalberti, 1979).

#### **g) Effets toxiques et allergiques de la propolis**

Contrairement aux utilisations bénéfiques de la propolis, elle présente également certains inconvénients des effets toxiques et des effets allergiques. Concernant leur toxicité, des travaux bien détaillés ont conclu que la propolis est relativement non toxique, avec un niveau sans effet de 1440 mg / kg / jour chez les souris (Banskota et *al.*, 2001).

Il a déjà été mentionné que la propolis consiste principalement des différentes colles végétales, mais occasionnellement les abeilles apportent des substances dangereuses dans le matériau, par exemple de l'asphalte dans la propolis provenant des sites de construction et de routes. De même, des métaux lourds tels que le fer, le zinc, le cuivre et le magnésium ont été signalés dans la propolis Cubaine et d'autres métaux tels que le plomb ont été détectés dans la propolis Brésilienne. L'environnement est le principal facteur influençant la présence des métaux. Il existe plusieurs rapports sur l'incidence de l'effet allergique de la propolis et l'acide caféique 1,1-diméthyle allylique a été identifié comme responsable de l'allergie (Banskota et *al.*, 2001).

**Partie**

***Expérimentale***

# Chapitre III

## *Matériels Et Méthodes*

### III. Matériels et méthodes

Dans le cadre des travaux visant la valorisation des substances naturelles, notre travail repose sur trois parties distinctes :

- La première partie concerne l'étude phytochimique basée sur la détermination quantitative des composés actifs des extraits alcoolosolubles et hydrosolubles des échantillons de la propolis de différentes régions de Sidi Bel Abbès et de Mascara.
- La deuxième partie se repose sur l'évaluation des activités pharmaco – biologiques in vitro et in vivo suivantes : l'activité antioxydante, l'activité antimicrobienne, activité antimitotique, activité anthelminthique, activité cicatrisante et activité antiparasitaire.
- La troisième partie est consacrée à la détermination de l'origine botanique de la propolis, via l'étude de l'analyse pollinique des échantillons de la propolis collectés.
- Toutes les analyses ont été effectuées au sein du laboratoire d'écodéveloppement des espaces avec la contribution du département des sciences de l'environnement et le département d'agronomie, UDL SBA.

#### 3.1. Matériel biologique et échantillonnage

La collecte des échantillons de la propolis a été faite au niveau de 09 régions dans l'ouest algérien, réparties en 02 wilayas (voir figure n°06).

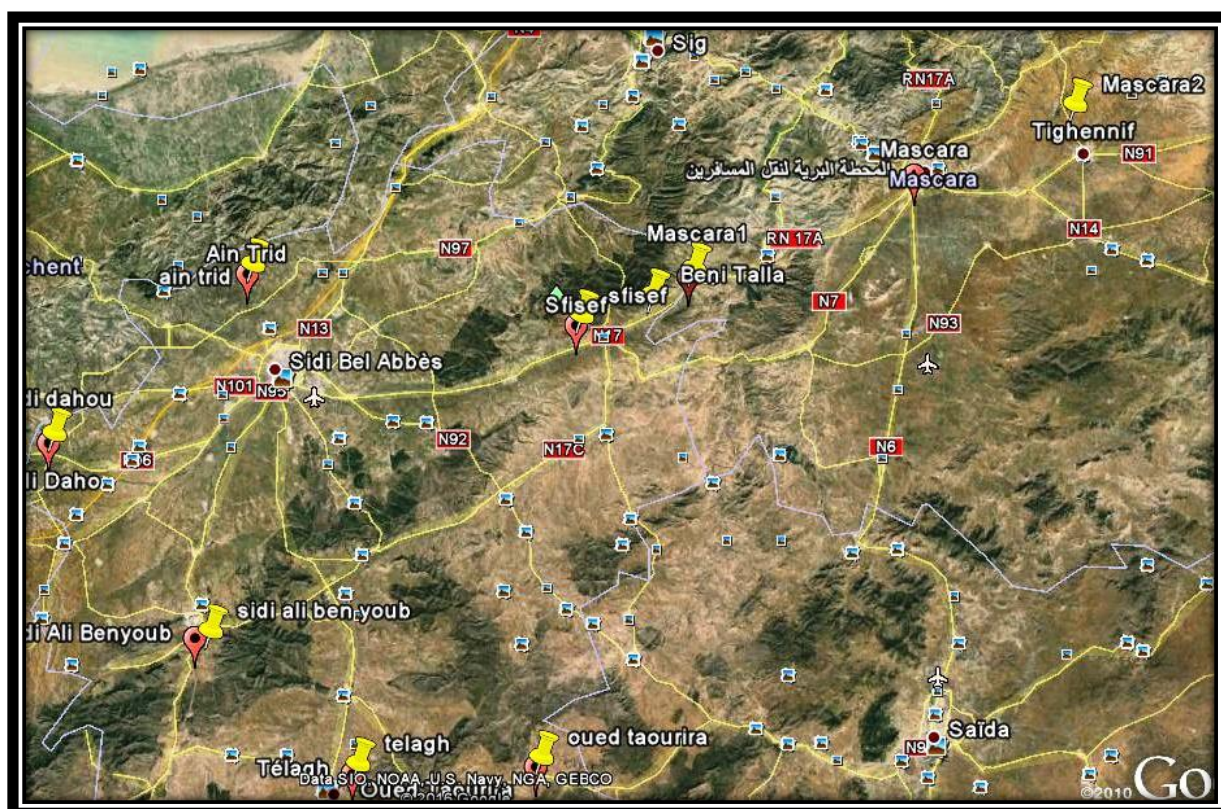


Figure n° 06 : répartition géographique des stations de collecte de la propolis (Google Earth)

- La wilaya de Sidi Bel abbés incluant les stations ci-contre : Ain Trid, Sidi Dahou, Sfisef, Beni Talla, Sidi Ali Ben Youb, Telagh et Oued Taourira.

- La wilaya de Mascara incluant 02 stations : Grayia (appelée Mascara 1), et la station expérimentale de l'université de Mascara (appelée Mascara 2), (voir figure n° 07).

- Le 10<sup>ème</sup> échantillon, correspond à la propolis commercialisée au niveau de la ville de SBA.



Echantillon de la propolis collectée de la station de Sfisef (a)



Echantillon de la propolis collectée de la station de Sidi Ali Ben Youb (b)



Echantillon de la propolis collectée de la station de Ain Trid (c)



Echantillon de la propolis collectée de la station de Telagh (d)



Echantillon de la propolis collectée de la station de Sidi Dahou (e)



Echantillon de la propolis collectée de la station de Beni Talla (f)



Echantillon de la propolis collectée de la station d'Oued Taourira (g)

**Figure n° 07 (a- b – c – d – e – f – g) : échantillons des propolis collectés des différentes stations (Debab, 2019).**

## 3.2. Méthodologie adoptée

### 3.2.1. Extraction et dosage des composés bioactifs

#### a. Extraction des composés phénoliques

Nous avons utilisé la méthode de (Sosnowski, 1984), pour préparer des extraits hydrosolubles et alcoolosolubles de la propolis collectée des différentes stations ; à partir d'une macération dans des solutions d'éthanol à différentes concentrations 70% (alcoolosoluble) et 20% (hydrosoluble). Les extraits bruts sont ensuite récupérés après filtration.

Aussi une extraction des composés phénoliques, a été effectuée sur des résidus obtenus après filtration, en utilisant, le même mode d'extraction et les mêmes concentrations d'éthanol utilisées pour les filtrats ; 70% (alcoolosoluble) et 20% (hydrosoluble), des propolis d'origine différentes ; selon le schéma présenté dans la figure ci-contre (voir figure n° 08).

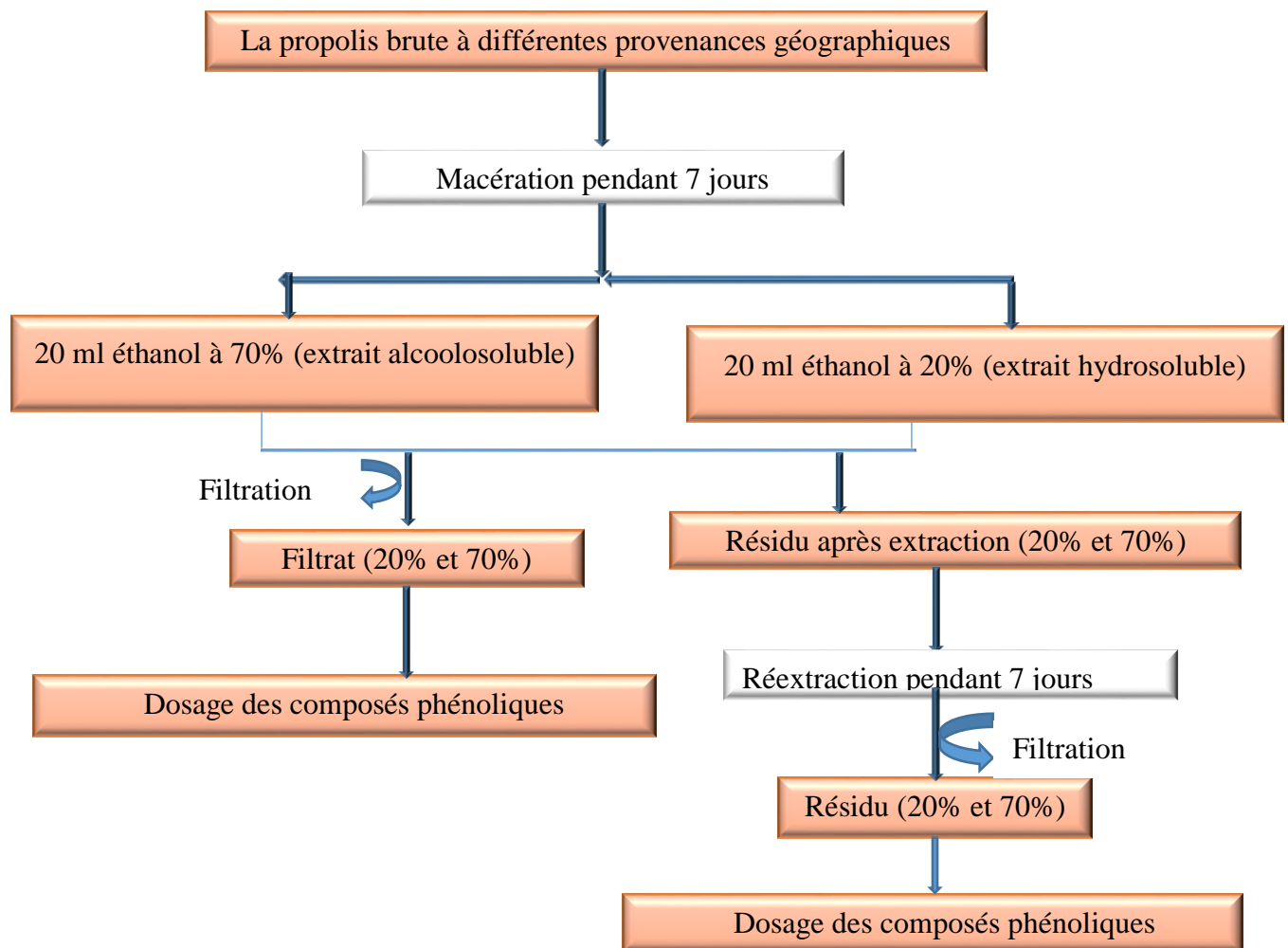


Figure n° 08 : schéma représentatif de la préparation des extraits (filtrat – résidu) à partir de la propolis.

## **b. Dosage des composés phénoliques**

### **b.1. Les phénols totaux**

#### **- Méthode adoptée (Berri, 2011)**

Le principe repose sur l'interaction des groupements hydroxyyles des composés phénoliques avec le réactif du Folin Ciocalteu, entraînant la formation d'un complexe de couleur bleue, présentant un maximum d'absorption aux environs de 760 nm, dont l'intensité est proportionnelle à la quantité des composés phénoliques.

#### **- Mode opératoire**

Les teneurs en phénols totaux dans les extraits éthanoliques de propolis (EEP) ont été déterminées selon la méthode colorimétrique du Folin - Ciocalteu avec quelques modifications (Boufadi *et al.*, 2014) : 250 µl des solutions d'EEP ont été mélangées avec 1 ml du réactif du Folin – Ciocalteu dilué 10 fois, et 1 ml de carbonate de sodium ( $\text{Na}_2\text{CO}_3$ ) à 7,5%. L'absorbance est lue par le spectrophotomètre à 765 nm après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à la température ambiante.

#### **- Expression des résultats**

La teneur en phénols totaux est calculée à partir de l'équation de la courbe d'étalonnage de l'acide gallique, et exprimée en milligramme (mg) d'équivalent d'acide gallique par gramme d'extrait (mg GAE/g).

### **b.2. Les flavonoïdes**

#### **- Méthode adoptée (Mekhoukhe, 2008)**

La majorité des dérivés flavoniques naturels possèdent des groupements hydroxyyles (OH) libres en position C3 et C5 et de l'oxygène en C4, susceptibles de former des complexes de couleur jaunâtre en présence de tri chlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ).

#### **- Mode opératoire**

Les teneurs en flavonoïdes ont été déterminées par le procédé utilisant du chlorure d'aluminium déshydraté (Kholkhal, 2014) : 500 µl des solutions d'EEP ont été mélangées avec 1,5 ml d'eau distillée et 250µl de nitrate de sodium ( $\text{NaNO}_3$ ) à 5%, après 05 minutes, 250 µl de trichlorure d'aluminium ( $\text{AlCl}_3$ ) à 5% a été ajouté, en fin, et après 11 minutes, nous avons ajouté 500 µl d'hydroxyde de sodium ( $\text{NaOH}$ ) à 4%. L'absorbance est lue au spectrophotomètre à 510 nm.

#### **- Expression des résultats**

La quantité des flavonoïdes des extraits de la propolis est exprimée en milligramme équivalent de la catéchine par gramme d'extrait (mg EC/g).

### b.3. Les tanins condensés

#### - Méthode adoptée (Zouglache, 2009)

Le principe de ce dosage est basé sur la fixation du groupement aldéhydique de vanilline sur le carbone 6 du cycle A de la catéchine pour former un complexe chromophore rouge qui absorbe à 500 nm (voir figure n° 09).

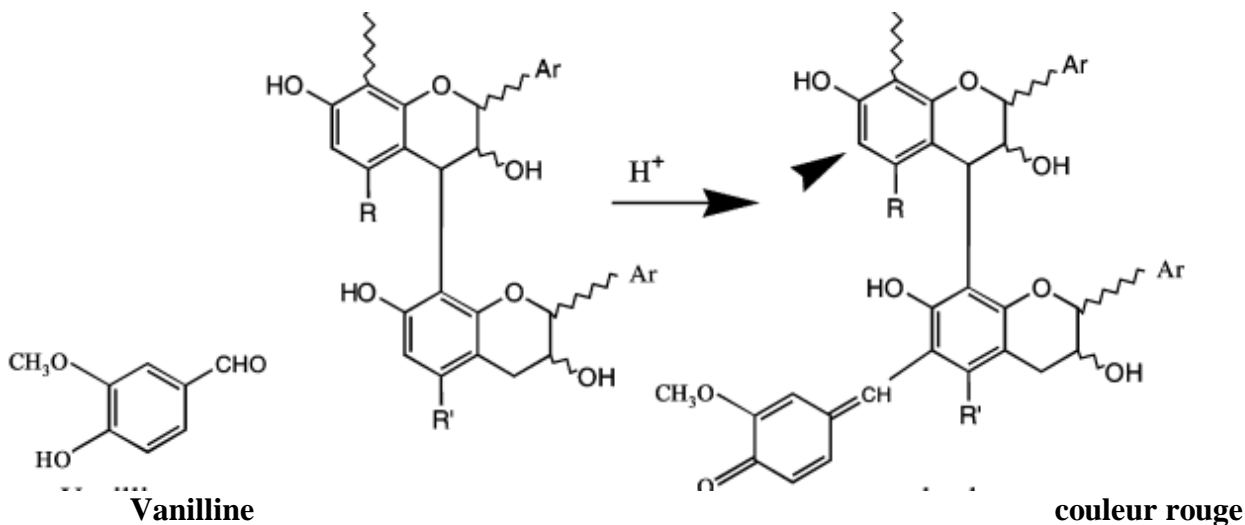


Figure n° 09 : principe du dosage des tanins condensés

#### - Mode opératoire

Les teneurs en tanins condensés ont été déterminées par la méthode utilisant la vanilline dans des conditions acides (Kholkhal, 2014) : 50  $\mu$ l des solutions d'EEP ont été mélangées avec 1500  $\mu$ l de la solution de vanilline/ méthanol (4% m/v), et un volume de 750  $\mu$ l d'acide chlorhydrique concentré (HCl). L'absorbance est lue à 550 nm, après 20 minutes d'incubation dans l'obscurité à la température ambiante.

#### - Expression des résultats

Les résultats sont exprimés en milligramme par gramme d'équivalent d'acide catéchique (mg EC/g).

### 3.2.2. Evaluation des activités biologiques des extraits bruts de la propolis

Deux types d'activités biologiques ont été adoptés, une in vitro et la deuxième in vivo.

#### A) Méthode d'évaluation de l'activité antioxydante

La méthode adoptée pour déterminer l'activité antioxydante est celle du DPPH.

Le DPPH est un radical libre stable violet en solution, il présente une absorbance caractéristique dans un intervalle compris entre 512 et 517 nm, cette couleur disparaît rapidement, lorsque le DPPH est réduit en diphényle picryl hydrazine, par un composé à propriété antiradicalaire,

entraînant ainsi leur décoloration. L'intensité de la couleur est proportionnelle à la capacité des antioxydants présents dans le milieu à donner des protons (Boudjouref, 2011).

On peut résumer la réaction sous la forme de l'équation suivante :



Où : (AH) représente un composé capable de céder un hydrogène au radical DPPH (violet) pour le transformer en diphenyle picryl hydrazine (jaune) (Boudjouref, 2011).

#### - Mode opératoire

L'évaluation de l'activité antioxydante a été réalisée pour les extraits bruts des propolis de différents origines géographiques, selon le protocole suivant appliqué par (Yang et *al.*, 2011) : 50 µl des solutions d'EEP à différentes concentrations ont été ajoutées à 1950 ml d'une solution méthanolique de DPPH (2,5 mg / ml).

La lecture d'absorbance est faite à 515 nm après 30 minutes d'incubation dans l'obscurité à la température ambiante contre le blanc (méthanol). Le taux de piégeage des radicaux de DPPH a été exprimé selon la formule suivante :

$$\text{Taux de piégeage} = [(A_1 - A_2) / A_1 * 100]$$

Où : A<sub>1</sub> : l'absorbance du contrôle (DPPH) en absence de l'échantillon ;

A<sub>2</sub> : l'absorbance du contrôle en présence de l'échantillon.

L'expression des résultats de l'activité antioxydante, est déterminée par le calcul d'IC<sub>50</sub> (concentration inhibitrice médiane) : c'est la concentration nécessaire pour réduire 50% des radicaux libres de DPPH.

Nous signalons que les activités biologiques ci-contre (activité antimicrobienne, antimitotique et anthelminthique), sont portées sur les extraits bruts des propolis qui sont enregistrés les valeurs moyennement les plus importantes en matière de composés phénoliques, notamment, les extraits bruts de Ain Trid, Sidi Dahou, Mascara1, Mascara2 et Telagh.

Nous indiquons aussi que pour effectuer l'activité cicatrisante, nous avons opté pour l'extrait brut de la propolis originaire de Ain Trid, non seulement du fait qu'elle renferme des teneurs remarquables en composés phénoliques mais aussi, du fait qu'on dispose d'une masse importante du matériel biologique (propolis de Ain Trid), qui nous permettant de préparer une quantité suffisante de pommade naturelle à appliquer sur le sujet biologique (rat wistar) et de faire des répétant suffisantes.

## **B) Méthode d'évaluation de l'activité antimicrobienne**

Nous indiquons que l'objectif de cette étude, est d'évaluer l'activité antimicrobienne (antibactérienne et antifongique) des extraits de la propolis. Donc nous avons testé deux souches bactériennes référencées ; *Escherichia coli* (Gram négative) ATCC 11775, *Staphylococcus aureus* (Gram positive) ATCC 25923, et une souche fongique : *Candida albicans* ATCC 11006.

Les extraits bruts de la propolis originaire des 05 stations (Ain Trid, Sidi Dahou, Mascara1, Mascara2, Telagh), sont préparés à partir d'une macération dans une solution d'éthanol à 70%, pendant une semaine, après filtration, et évaporation du solvant, 1g du résidu sec obtenu, est repris dans 10 ml du DMSO, à une concentration de 100 mg/ml.

- **Protocole expérimentale**

Afin d'évaluer l'activité antimicrobienne des extraits de la propolis, nous avons utilisé la méthode de diffusion en milieu gélosé : le principe de cette méthode est d'utiliser des disques stériles du papier Whatman de 6 mm de diamètre, chaque disque est imprégné de 10 microlitres des extraits (qui convient de 1mg de propolis). Un disque imbibé par le DMSO a été employé comme contrôle négatif. Ces disques sont déposés à la surface d'un milieu inondé par une suspension microbienne d'une densité optique de 0,5 Mcfarland. Nous avons utilisé pour les souches bactériennes le milieu Muller – Hinton, et le milieu Sabouraud pour la levure. Après 18 heures à 37°C d'incubation des souches, les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés (Choi et *al.*, 2005 et Zougliche, 2009).

## **C) Méthode d'évaluation de l'activité antimitotique**

Pour l'évaluation de l'activité antimitotique l'expérimentation a été réalisée sur le méristème racinaire qui permet d'étudier en un temps court ou long, l'action exercée sur une population cellulaire homogène, ainsi, l'observation cytologique est facile.

Le test, choisi, pour déterminer cette activité a pour avantage d'étudier l'action directe de la substance mise en œuvre.

En effet, les racines reçoivent toutes leurs aliments des réserves localisées dans le bulbe ou les cotylédons de la plante mise en culture.

Les conditions sont plus simples que celles qu'on réalise en culture de tissus ou bien, dans les expériences sur les animaux selon (Deysson, 1961).

- **Activité antigerminatif**

- **Protocole expérimentale**

Dans ce test, nous avons utilisé la méthode de (Mbayo et *al.*, 2016). La détermination du pouvoir antigerminatif des extraits de la propolis est effectuée en traitant des graines de lentilles (*Lens culinaris*) mises en germination dans des pots, par des extraits de la propolis à différentes concentrations.

- **Détermination du taux d'inhibition** : appelé aussi le pouvoir anti germinatif.

Le taux d'inhibition de la germination des graines est calculé selon la formule suivante :

$$H\% = (N-n)/N \times 100$$

H% : pourcentage d'inhibition

N : nombre totale des graines

n : nombre des graines germées

- **Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La CMI est la plus petite concentration d'extrait suffisante pour inhiber la germination des graines de lentille.

- **Activité inhibitrice de la croissance racinaire**

- **Protocole expérimentale**

Après 48 heures, de la mise en germination des graines de lentille, la longueur des racicules a été mesurée et l'arrosage a été poursuivi avec des extraits bruts de la propolis à différentes concentrations. Deux témoins ont été utilisés : un témoin ne contenant que des graines de lentilles germées, aspergées de 0,5 ml de l'eau distillée, et l'autre des graines sont aspergées de 0,5 ml du DMSO dilué dans un rapport de 30%, afin d'exclure leur effet nocif (Mbayo et *al.*, 2016).

Les observations de l'élongation racinaire ont duré deux jours ; selon le protocole de (Mbayo et *al.*, 2016).

Après 48 heures, les racines sont retirées, puis une analyse cytogénétique a été réalisée.

- **Détermination de l'indice de mitose**

l'indice de mitose (Im), est le rapport entre la longueur (T) des racines des graines germées traitées à différentes concentrations des extraits de la propolis étudiés, et la longueur des racines de témoin, mesurées pendant 02 jours des observations (Mbayo et *al.*, 2016).

$$Im = T \text{ de l'extrait (mm)} / T \text{ témoin (mm)}$$

- **Détermination du taux d'inhibition**

Le pourcentage d'inhibition de l'élongation racinaire est calculé selon la formule suivante :

$$H\% = (T_0 - T_1) / T_0 * 100$$

**H%** : pourcentage d'inhibition

**T<sub>0</sub>**: Taille des racines du témoin.

**T<sub>1</sub>** : Taille des racines en présence de l'extrait.

**- Analyse cytogénétique**

L'analyse cytogénétique se fait selon la méthode citée par (Fasla, 2009) :

❖ **Fixation**

Des apex racinaires ayant une longueur d'1 centimètre sont fixés dans une mixture fraîchement préparée d'un mélange d'acide acétique et d'éthanol à 95% pendant 24 heures selon la méthode adoptée par (Fasla, 2009).

La fixation a pour but de bloquer toute évolution des divisions cellulaires, et permet de conserver l'intégrité structurale des chromosomes. Ce matériel peut être conservé dans l'éthanol à 70% durant plusieurs mois au réfrigérateur à 4°C.

❖ **Coloration**

La coloration nécessite d'abord une hydrolyse des apex racinaires dans l'HCl (acide chlorhydrique) à 1Normalité, pendant 05 minutes, durant lesquelles HCl hydrolyse le ciment pectique qui relie les parois cellulaires. Ce ci facilitera ensuite la dissociation des cellules.

La coloration se réalise à l'aide du rouge carmen acétique pendant 20 minutes, en ajoutant du fer ferrique pour mieux colorer les noyaux des cellules.

❖ **Préparation des lames**

La partie méristématique, hydrolysée et colorée, est écrasée entre lame et lamelle, en tapotant doucement afin d'obtenir un bon étalement des cellules. L'examen des lames de droite à gauche et du haut vers le bas est réalisé à l'aide d'un microscope optique en utilisant l'huile d'immersion au grossissement 100.

**D) Méthode d'évaluation de l'activité anthelminthique**

Le test de l'activité anthelminthique a été réalisé selon la méthode de (Deore et *al.*, 2009).

L'essai a été effectué sur les vers de terre (*Lumbricus terrestris*). Le choix de ce type de ver est justifié par le fait qu'il y a une ressemblance anatomique et physiologique de l'*Ascaris* parasite intestinale de l'homme.

• **Activité anthelminthique des extraits de la propolis**

**- Protocole expérimentale**

Les vers de 3 à 5 cm de longueur sont collectés du sol humide, lavés, puis répartis sur des boîtes de pétrie à raison de 03 vers par boîte, chaque boîte contenant 03 ml d'eau, où nous avons ajouté 0,5 ml d'extrait brut de la propolis à différentes concentrations allant de **100 mg/ml jusqu'à**

1,56 mg/ml, pour obtenir des concentrations finales oscillées entre 14,28 mg/ml et 0,22 mg/ml. Après une durée de 30 minutes de réaction, les vers sont retirés et mets dans l'eau distillée. L'état des vers est observé après 30 minutes, 60 minutes et 90 minutes. Les témoins sont constitués de l'eau et du DMSO appliqués aux mêmes conditions expérimentales que les extraits.

L'état de paralysie a été noté quand aucun mouvement de vers n'a pu être observé, sauf quand ils ont été secoués vigoureusement. La mort a été conclue lorsque les vers ont perdu leur mobilité, suivie par l'effacement de leurs couleurs corporelles.

#### **- Calcul du Concentration minimale inhibitrice (CMI)**

La concentration minimale inhibitrice est la plus petite concentration qui provoque la paralysie des vers.

- **Activité anthelminthique de la fumée de la propolis brute**

En plus de ce qui a été fait, nous avons voulu tester l'effet de la fumée de la propolis brute brûlée sur les vers de terre, du fait que cette dernière renferme des composés aromatiques.

#### **- Protocole expérimentale**

Pour effectuer ce test, nous avons utilisé la fumée de la propolis brute de différentes régions de l'ouest algérien (Mascara 1, Mascara 2, Ain Trid, Telagh et Sidi Dahou) : 01 gramme de la propolis brute est enrobée dans un papier, brûlée pendant 30 secondes, et déposée dans des boîtes pétri. Chaque boîte contenant 03 vers de terre (*Lumbricus terrestris*), de 03 à 05 cm de longueur. Les boîtes ont été fermées, pour que la fumée ne sortant pas. Des observations ont été effectuées après 30mines, 60 minutes et 90 minutes. Le témoin est constitué de la fumée du papier brûlé.

### **E) Méthode d'évaluation de l'activité cicatrisante**

Pour effectuer cette activité la méthode adoptée par Krell, 1990 a été appliquée selon le protocole ci-contre :

30 grammes de propolis brute de la région de Ain Trid est macérée dans 100 ml d'éthanol absolue pendant 15 jours. Après filtration, l'extrait a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif, pour obtenir un extrait mou. Ce dernier est mélangé avec la vaseline pure (dans un rapport de 15% extrait de propolis et 85% vaseline) dans un bain marie jusqu'à ce qu'ils sont fondus, puis ils sont mélangés et restés refroidis. Cette préparation a été utilisée comme pommade à base de propolis appliquée sur les brûlures.

L'expérimentation a été faite au niveau de la station expérimentale (animalerie) de l'université de Mascara « Mustafa Istambouli », dans l'objectif est d'évaluer le pouvoir cicatrisant

d'une pommade préparée à base d'extrait de la propolis de Ain Trid, et de la comparer avec une crème commerciale à base de sulfadiazine argentique « Hebermine », qui est utilisée couramment pour traiter les brûlures.

- **Matériel biologique**

Dix-huit (18) rats wistar (mâles et femelles), pesés entre 240 g et 280 g, ont été logés dans des cages individuelles et maintenus dans un cycle lumineux de 12 heures d'éclairage et de 12 heures d'obscurité. Accès libre à la nourriture et à l'eau. Les rats ont été répartis au hasard en trois groupes de six chacun.

Le groupe I est composé des rats traités avec une pommade à base de propolis.

Groupe II incluant des rats traités avec une crème commerciale à base de sulfadiazine argentique appelée «Hebermine» (témoin positive).

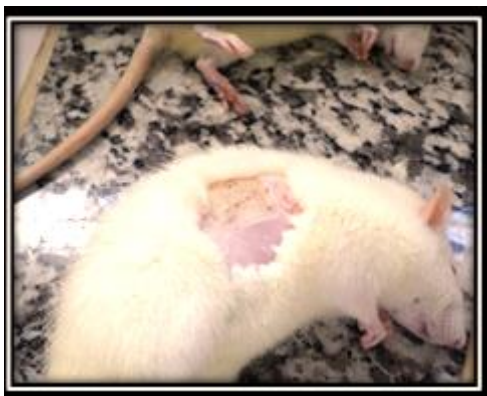
Groupe III considéré comme non traité (témoin négative) selon le protocole adopté par (Ammar et *al.*, 2015).

- **Protocole expérimental**

Chaque rat a été anesthésié avec 40 mg / kg de thiopental intra-péritonéal (IP) et rasé localement. Des brûlures au 2<sup>ème</sup> degré ont été menées sur l'un des côtés de chaque rat avec un poinçon, de surface de 5cm<sup>2</sup>, qui est chauffé pendant 20 secondes. Ensuite, il a été mis sur le côté rasé du rat, sans pression, pendant 5 secondes. Tous les animaux sont immédiatement injectés avec une solution de paracétamol (10 mg / ml) (pour atténuer les douleurs), par voie intrapéritonéale (IP).

Les groupes I et II reçoivent respectivement une application topique de **0,5 g** de pommade de propolis et de crème d'Hebermine immédiatement après la brûlure et chaque 48 heure (Pessolato et *al.*, 2011).

Le traitement a duré 23 jours, car cette période est cruciale pour la guérison complète des brûlures (Pessolato et *al.*, 2011) ( voir figures n°10, 11, 12).



**Figure n° 10 :** rat anesthésié et brûlé (Debab, 2019).



**Figure n°11 :** application de la pommade à base de l'extrait de propolis d'origine Ain Trid (Debab, 2019).



**Figure n° 12 :** application de la crème d'Hebermine (Debab, 2019).

- **Mesure de la surface des brûlures**

Pendant la période de cicatrisation, les limites de brûlure ont été photographiées et mesurées à l'aide d'un pied à coulisse. La contraction de brûlure, exprimée en pourcentage de réduction de leur taille initiale, a été calculée en utilisant la formule suivante :

$$\text{Contraction des brûlures (\%)} = [(A_0 - A_n) / A_0] \times 100 \text{ (Pessolato et } al., 2011).$$

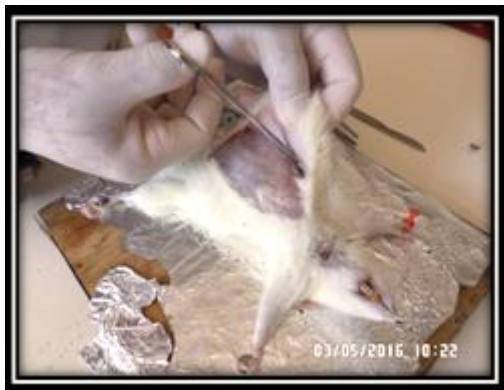
Où  $A_0$  : se réfère à la taille initiale de brûlure.

$A_n$  : la taille de brûlure au jour spécifique.

- **Étude histopathologique**

Au niveau du 23<sup>ème</sup> jour, chaque rat de chaque groupe est sacrifié, l'euthanasie est réalisée par overdose du chloroforme.

Des prélèvements de peaux sont effectués sur la zone brûlée juste après l'euthanasie. Ces prélèvements sont conservés dans des tubes à essais de 20 ml immergés dans une solution de formol à 10%, puis, procède à l'étude histopathologique (Ammar et *al.*, 2015) (voir figures n°13 et 14).



**Figure n°13** : incision de la peau du rat (Debab, 2019).



**Figure n°14** : prélèvement de la partie brûlée de la peau (Debab, 2019).

L'étude histopathologique des tissus collectés est réalisée dans le centre hospitalo universitaire Abdelkader Hassani, au niveau du service d'ANAPATH (Anatomo – Pathologie).

Les échantillons des tissus conservés sont incorporés dans la cire de paraffine, coupés en sections de 5µm (micromètre) d'épaisseur, et colorés avec l'hématoxyline-éosine, pour faire l'observation microscopique selon la méthode appliquée dans le service d'ANAPATH.

### **F) Méthode d'évaluation de l'activité antiparasitaire de la fumée de la propolis brute contre le varroa (effet acaricide)**

Il est à signaler que le varroa (*Varroa sp*), est un parasite de l'abeille, il a été observé pour la première fois en Indonésie en 1904 sur l'abeille asiatique *Apis cerana*. L'introduction par l'homme d'*Apis mellifera* sur le territoire asiatique a permis à l'acarien de changer d'hôte (Mackowiak, 2009).

Ce ravageur a coûté des millions de dollars à l'industrie apicole en raison de la perte du rendement en miel et de la mortalité des colonies d'abeilles mellifères (Underwood et Currie, 2003).

Les acariens causent des blessures aux abeilles mellifères par alimentation directe. La femelle adulte perce la membrane intersegmentale molle des abeilles avec leur chélicera pointu et aspire l'hémolymphe (sang) des abeilles. Cependant, l'abeille adulte n'est endommagée que si l'infestation est grave (agricultural food engineering technical report, 2006).

Dans de nombreuses régions du monde, la menace d'infestation par l'acarien oblige les apiculteurs à traiter leurs colonies avec des acaricides. Actuellement, il existe de nombreuses préparations et procédures pour traiter les acariens (Wallner, 1999).

Les substances actives utilisées doivent être présentes dans la nature et ne présenter aucun risque pour les consommateurs des produits apicoles (Imdorf et *al.*, 2015). Les acaricides naturels qui sont des mélanges de différents composants avec différents modes d'action résoudront peut-être le problème de la varroase et l'émergence d'une résistance contre de tels acaricides (Garedew et *al.*, 2001 a).

L'objectif de cette étude expérimentale est d'évaluer l'activité acaricide contre le varroa in vivo, de la fumée de propolis et des feuilles du thym (*Thymus sp*), appliquée directement sur les ruches.

Il est à noter que généralement, les apiculteurs utilisent uniquement les feuilles du thym, pour des tests de traitement contre le varroa.

- **Matériel végétale**

Pour cette activité, nous avons récolté 30 g des feuilles du thym (*Thymus sp*) et on a utilisé la propolis brute de la région de Sidi Dahou, coupée en morceaux plus petits (30grammes) ; l'ensemble est appliqué directement sur les ruches sous forme de fumée, en utilisant l'enfumeur de l'apiculteur.

Le choix est porté sur la propolis de la station de Sidi Dahou, du fait que l'expérimentation a été réalisé au niveau des ruches de la dite station, alors autant utilisé la propolis de ses propres ruches.

- **Protocole expérimentale**

L'expérimentation a été réalisée durant l'été du mois d'Août, de l'année 2016, selon la méthode adoptée par (Daher et Alburaki, 2006): 06 ruches ont été choisies au hasard dans un rucher privé de la zone d'ouest algérien (Sidi Dahou).

Les ruches sont divisées en deux (02) groupes : le groupe I : formé de trois (03) ruches, traitées avec la fumée de propolis brute, qui s'applique fréquemment au niveau du trou de vol et sur les cadres.

Le groupe II : comprend également trois (03) ruches, qui sont traitées avec la fumée des mélanges de feuilles du thym et de la propolis brute.

Ces ruches sont équipées des papiers en plastique graissés par de l'huile ou de vaseline, pour recueillir des varroas chutés (voir figure n°15).



Rucher de Sidi Dahou (a)



Emplacement du plastique sous les cadres (b)



Application de la fumée au niveau du trou de vol (c)



Application de la fumée sur les cadres (d)

**Figure n° 15 (a- b – c – d) :** modes d'application de la fumée de propolis (Debab, 2019).

- **Expression des résultats**

Le dénombrement des acariens morts est effectué après 48 heures de l'application du traitement dans chaque ruche.

Après une semaine, lorsque l'efficacité du traitement a été totalement disparue, nous avons procédé au dénombrement des varroas chutés naturellement.

Le pourcentage du nombre des acariens morts, ou l'efficacité du traitement, a été calculé selon l'équation suivante, selon (Daher et Alburaki, 2006) :

$$E\% = [(A1-A2)/A1 \times 100]$$

**E%** : efficacité du traitement ;

**A1** : nombre des acariens chutés après le traitement

**A2** : nombre des acariens chutés naturellement.

Au cours de cette expérimentation, le pourcentage du couvain dans chaque ruche a été pris en considération.

### **3.2.3 Analyse pollinique de la propolis**

Nous rappelons que l'objectif de cette étude est de déterminer l'origine botanique de la propolis de différentes régions de l'ouest algérien (Sidi Bel Abbés et Mascara), par l'identification des grains de pollen, et le calcul de leurs fréquences dans chaque zone d'étude.

- **Les échantillons de propolis**

Les échantillons de la propolis ont été collectés dans 09 zones de l'ouest algérien (Sidi Bel Abbés et Mascara) : Mascara1 (zone d'El graiyia), Mascara2 (station expérimentale de l'université de Mascara), Beni Talla, Sidi Ali Ben Youb, Telagh, Oued Taourira, Ain Trid, Sfisef et Sidi Dahou, et le dixième échantillon c'est celui de la propolis préparée commercialement sous forme de poudre appelé « propolis commerciale ».

- **Protocole expérimentale**

L'extraction du pollen présent dans la propolis se fait selon la méthode de (Barth, 1998) :

0,5 g de propolis brute sont pesés et macérés dans 15 ml de l'éthanol absolue pendant 04 jours, puis, filtrés, puis centrifugés pendant 05 minutes à 2500 tours /minutes, à la fin, on jette la suspension et récupère le culot.

12 ml d'éthanol absolu sont ajoutées au culot, puis centrifugé et décanté, ensuite, 12 ml de KOH (Hydroxyde de Potassium) à 10% sont ajoutées, laissé bouillir le mélange pendant 03 minutes, agité pendant 05 minutes à l'aide d'un agitateur magnétique, puis centrifugé et décanté. Après, un volume de 13 ml de l'eau distillée a été ajoutée au culot, puis centrifugé et décanté, puis 5 ml de l'acide acétique glacial sont ajoutés. Après que le mélange se repose toute la nuit, et après leur centrifugation et décantation, on ajoute au culot le mélange d'acétolyse (1,8 ml d'anhydride acétique et 0,2 ml d'acide sulfurique concentré), laissé ensemble dans un bain marie pendant 3 minutes à une température de 80°C. L'intérêt de l'acétolyse est de permettre une observation fine et rigoureuse de la structure de la paroi pollinique, élément qui devient indispensable dans le cas des régions où la flore mellifère est mal connue (Gadbin, 1979).

Après centrifugation et décantation, un mélange de glycérine et l'eau est ajouté au culot, laissé reposer au moins 30 minutes, puis centrifugé et décanté.

Le culot final est posé sur les lames, on ajoute une goutte de glycérine gélatinée, pour colorer les grains (voir annexe D), et faire l'observation au microscope optique.

- **Identification des grains de pollen**

L'observation des grains de pollen se fait au microscope optique à différents grossissements.

Nous avons observé l'ensemble de la préparation et noté tous les grains de pollen rencontrés. L'identification des grains de pollen est effectuée à l'aide des pollens de référence, des Atlas des pollens et des données tirées des publications : (Nair, 2014), (Willard et *al.*, 2004), (Albore, 1979), (Albore et Bernardini, 1978) et (Barth, 1998).

- **Expression des résultats**

Les résultats obtenus sont présentés sous forme du spectre pollinique, c'est-à-dire la liste des taxons rencontrés avec leurs fréquences relatives. La fréquence relative est exprimée par le nombre des grains de pollen d'un type pollinique sur la totalité des grains de pollen comptés dans une préparation, selon la formule suivante :

$$FR = (n/N) \times 100$$

FR : fréquence relative

n : nombre des grains de pollen comptés pour un taxon donné

N : nombre total des grains de pollen comptés.

### **3.2.4. Analyse statistique**

- Les données expérimentales collectées ont été effectuées en triple. Les variables sont exprimés en valeurs moyennes et écarts type. MANOVA n way (analyse de variance multivariée) et ANOVA (analyse de la variance) ont été utilisés pour exprimer les résultats, dans un niveau de signification autour de 0,05 ( $p < 0,05$ ), en utilisant le logiciel IBM SPSS version 20.

- Pour le test de l'activité antiparasitaire contre le varroa, nous avons utilisé le test de khi deux appliqué sur Excel version 2007.

- Pour l'analyse pollinique, une méthode statistique « classification en nuées dynamique » à l'aide du logiciel IBM SPSS version 20, a été appliquée pour répondre à deux questions centrales :

- Quelles sont les stations qui ont des spectres polliniques similaires ?
- Comment caractériser les groupes des stations ?

# Chapitre IV

## *Résultats Et Discussions*

## IV. Résultats et discussions

### 4.1. Résultats de l'étude phytochimique

Les teneurs en phénols totaux, en flavonoïdes et en tanins condensés des extraits de propolis à différentes provenances sont illustrées dans les figures n° 16, 17, 18, 19, 20, 21 et 22, respectivement et voir annexe A.

Ces teneurs dépendent de la zone géographique et la méthode d'extraction ( $p < 0,05$ ). Ainsi, la teneur en phénols totaux dans le filtrat des extraits hydrosolubles est comprise entre  $244,33 \pm 0,43$  mg GAE/g (propolis commerciale) et  $177,94 \pm 4,41$  mg GAE/g (propolis de Beni Talla).

Par contre les résidus des mêmes échantillons révèlent des valeurs aussi remarquables que leurs extraits, notamment au niveau de l'échantillon de la propolis commerciale ( $242,22 \pm 3,65$  mg GAE/g) et une valeur plus ou moins importante pour l'échantillon de la propolis de Beni Talla ( $157,77 \pm 11,94$  mg GAE/g). Alors que dans le filtrat des extraits alcoolosolubles, la quantité équivalente est oscillée entre  $220,44 \pm 7,05$  mg GAE/g (propolis commerciale), et  $180,30 \pm 0,72$  mg GAE/g (propolis de Beni Talla).

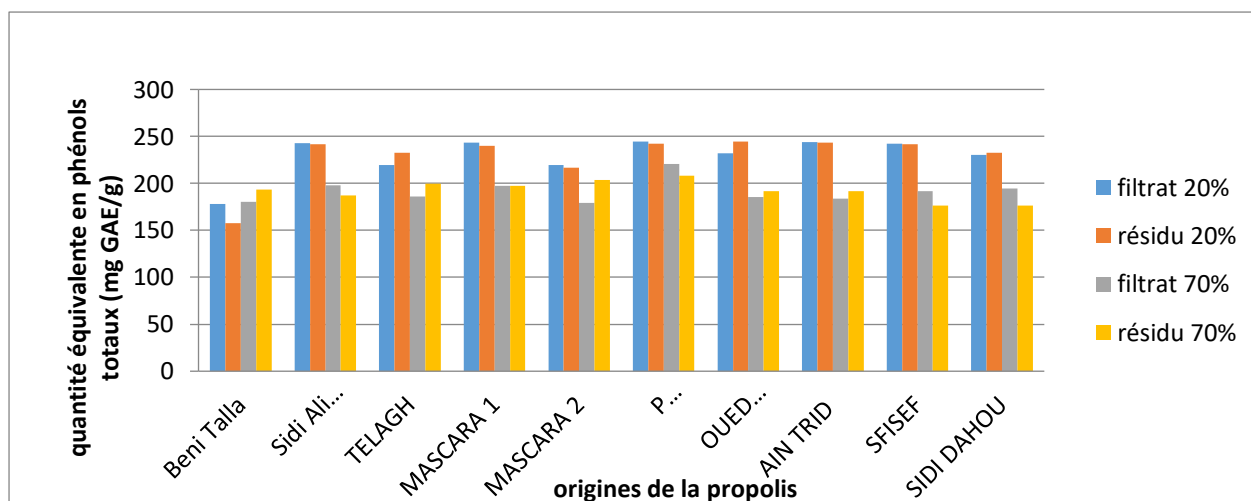


Figure n° 16 : teneurs en phénols totaux des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.

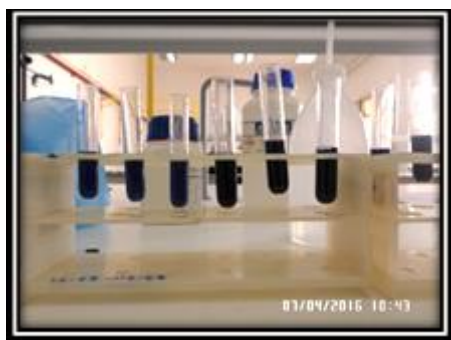


Figure n° 17 : dosage des phénols totaux des extraits hydrosolubles (Debab, 2019).

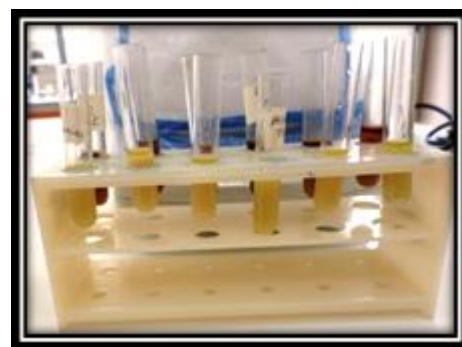
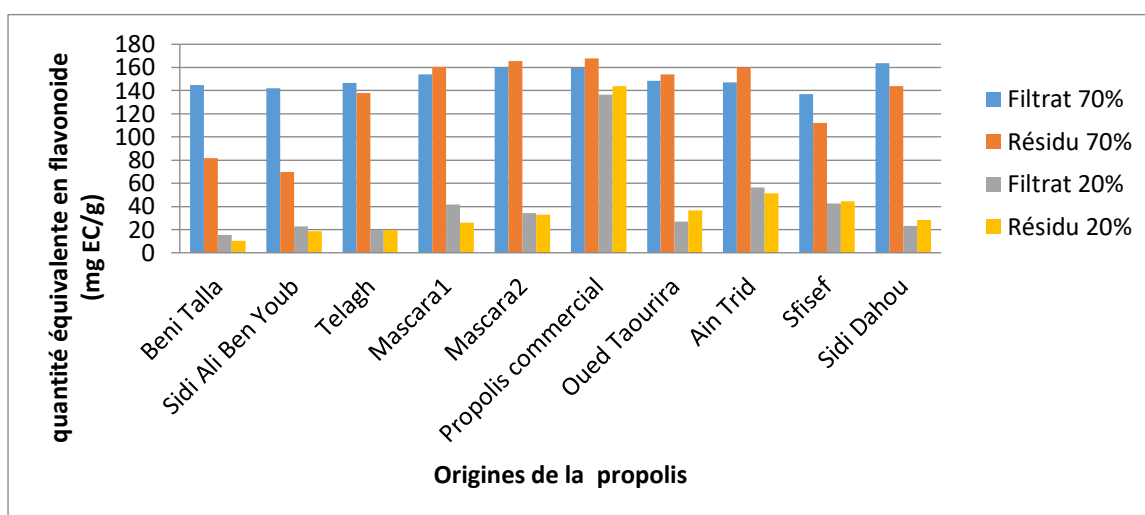


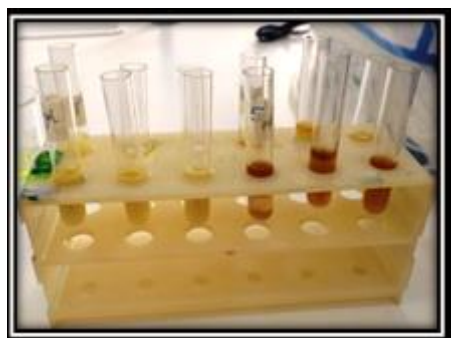
Figure n° 18 : dosage des phénols totaux des extraits alcoolosolubles (Debab, 2019).

Pour les résidus, la propolis commerciale renferme une quantité importante en phénols totaux en c'est à raison de  $208,02 \pm 2,01$  mg GAE/g et la propolis de Sidi Dahou, qui renferme le taux le moins considérable en phénols totaux ( $176,1 \pm 11,69$  mg GAE/g).

Cependant, et dans l'ensemble la quantité en flavonoïdes des extraits alcoolosolubles (filtrat et résidu) est supérieure à celle des extraits hydrosolubles (filtrat et résidu). Ces teneurs dans les filtrats des extraits alcoolosolubles sont oscillées entre  $163,68 \pm 0,73$  mg EC/g c'est pour le cas de propolis de Sidi Dahou et  $137,08 \pm 10,01$  mg EC/g pour propolis de Sfisef. Pour le résidu, la propolis commerciale enregistre la valeur la plus importante en flavonoïdes ( $167,88 \pm 0,5$  mg EC/g), la propolis de Sidi Ali Ben Youb, marque la valeur la plus faible en flavonoïdes ( $69,66 \pm 3,73$  mg EC/g).



**Figure n° 19 :** teneurs en flavonoïdes des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.



**Figure n° 20 :** dosage des flavonoïdes des extraits alcoolosolubles (Debab, 2019).



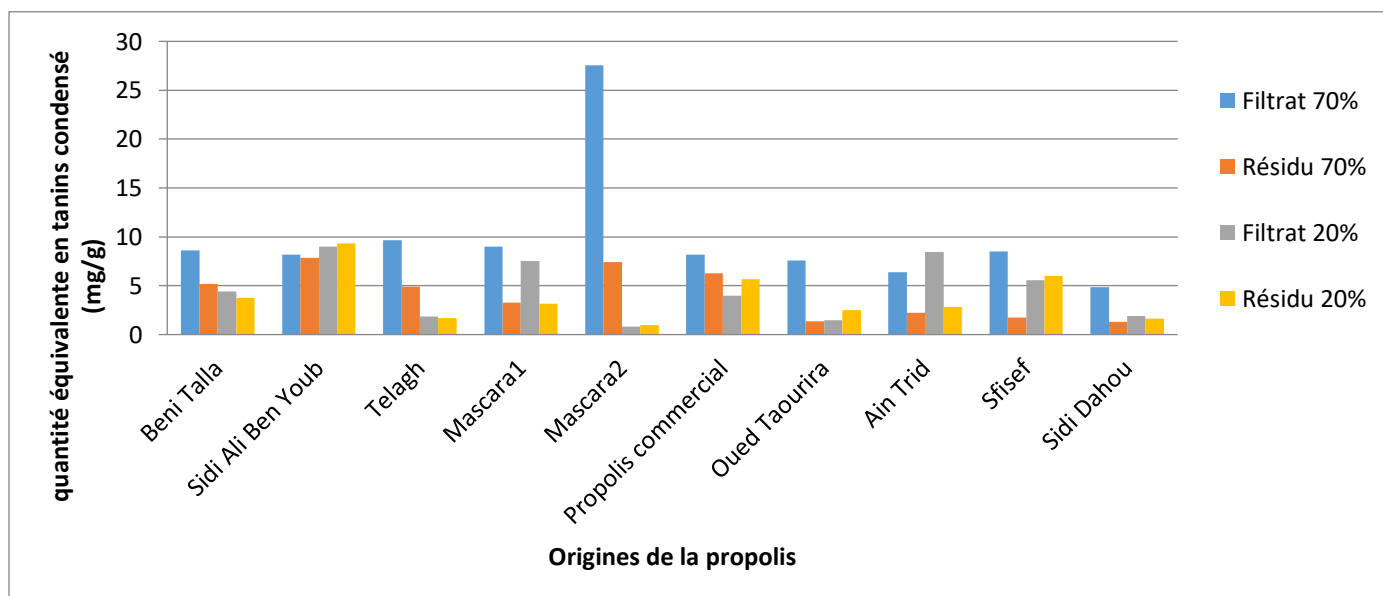
**Figure n° 21 :** dosage des flavonoïdes des extraits hydrosolubles (Debab, 2019).

Au niveau des extraits hydrosolubles, le taux en flavonoïdes enregistré dans le filtrat est très faible si on le compare aux taux enregistrés dans les extraits filtrats alcoolosolubles, et les valeurs les plus basses sont indiqués au niveau du filtrat de la propolis de Beni Talla à raison de  $15,68 \pm$

**1,58 mg EC/g** ; en plus, les valeurs en flavonoïdes au niveau des filtrats de Ain Trid apparaissent plus intéressantes, avec des valeurs de **56,31 ± 1,10 mg EC/g**. Pour le résidu, cette fois ci, Ain Trid renferme un taux en flavonoïdes plus ou moins identique à celui observé dans son filtrat (**51,2 ± 1,6 mg EC/g**) ; la même constatation a été faite pour le résidu de la propolis de Beni Talla, avec une valeur de **10,3 ± 0,49 mg EC/g** de flavonoïdes qui est proche de la valeur indiquée dans son filtrat.

Toutefois, la propolis commerciale, reste l'échantillon le plus riche en composés flavoniques, notamment pour l'extrait alcoolosoluble (filtrat, résidu), et même dans son extrait hydrosoluble (filtrat, résidu).

Pour les tanins condensés, les quantités équivalentes des filtrats des extraits alcoolosolubles sont plus importantes, ces valeurs comprises entre **27,53 ± 2,78 mg EC/g** (propolis de Mascara 2) et **4,86 ± 0,12 mg EC/g** (propolis de Sidi Dahou). Pour les résidus, **7,83 ± 0,55 mg EC/g** (propolis de Sidi Ali Ben Youb) et **1,3 ± 0,25 mg EC/g** (propolis de Sidi Dahou). Pour les extraits hydrosolubles, la quantité équivalente est arrivée jusqu'au **8,98 ± 1,62 mg EC/g** (propolis de Sidi Ali Ben Youb) pour le filtrat, et **9,35 ± 0,49 mg EC/g** pour le résidu de la même région.



**Figure n° 22** : teneurs des tanins condensés des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.

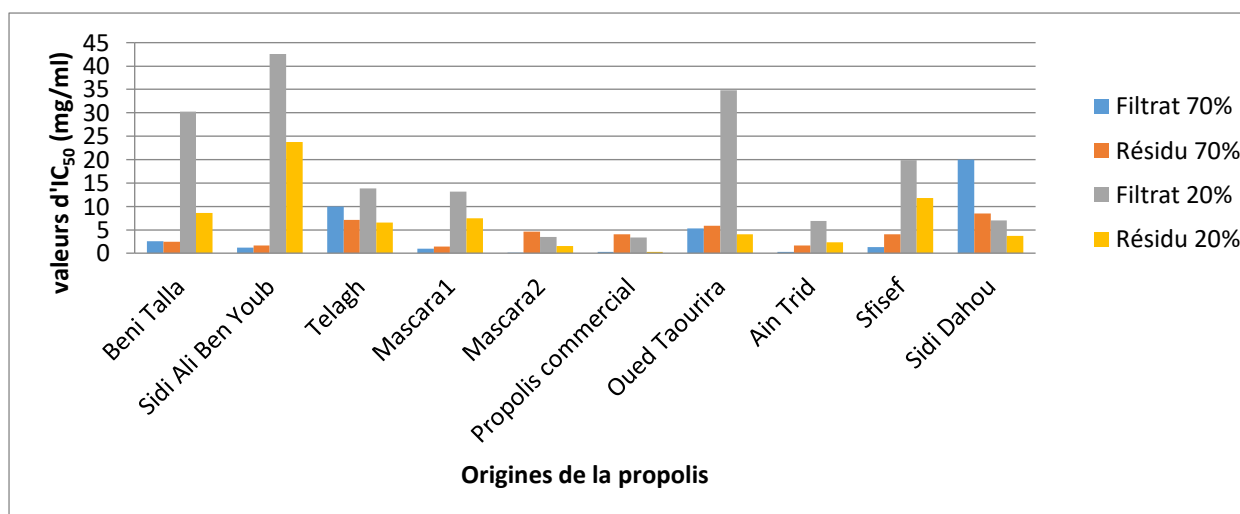
## 4.2. Résultats des activités biologiques

### 4.2.1 Activité antioxydante

Nous rappelons que l'activité antioxydante a été évaluée par la méthode de DPPH.

Les résultats obtenus montrent, tout d'abord que l'activité antioxydante au niveau des extraits alcoolosolubles (filtrats et résidus) des propolis étudiées est plus importante par rapport aux extraits hydrosolubles (filtrats et résidus) des dites propolis.

Pour les extraits alcoolosolubles, nous avons constaté que les résultats obtenus du filtrat de l'extrait de la propolis de Mascara2 présente l'activité antiradicalaire la plus puissante, avec une valeur d'IC<sub>50</sub> de **0,045 mg/ml**, tandis que la valeur d'IC<sub>50</sub> de l'extrait de Sidi Dahou est considérée comme le moins puissant (**19,95 mg/ml**) (voir figures n° 23, 24, 25 et 26, et annexe A).



**Figure n° 23** : valeurs d'IC<sub>50</sub> en mg/ml des extraits de la propolis (filtrats et résidus) des différentes provenances géographiques et à deux modes d'extraction.



**Figure n° 24** : activité antioxydante d'extrait alcoolosoluble de Mascara1 (Debab, 2019).



**Figure n° 25** : activité antioxydante d'extrait alcoolosoluble de Telagh (Debab, 2019).



**Figure n° 26** : activité antioxydante d'extrait hydrosoluble de Mascara1 (Debab, 2019).

Alors que les résidus des extraits alcoolosolubles présentent une activité antiradicalaire inférieure à celle des filtrats ; c'est ainsi que l'IC<sub>50</sub> de l'extrait du résidu du Mascara2 est de **4,57 mg / ml**, tandis que l'IC<sub>50</sub> du filtrat de la propolis de la même station est de **0,045 mg / ml** à l'exception de l'extrait du résidu de Telagh et de Sidi Dahou, où les valeurs d'IC<sub>50</sub> sont inférieurs (**7,07 mg / ml** et **8,51 mg / ml**) à celles des filtrats des propolis des mêmes stations, (**10 mg / ml** et **19,95 mg / ml**) respectivement.

Pour les extraits hydrosolubles, les valeurs d'IC<sub>50</sub> des filtrats sont oscillées entre **3,32 mg/ml** (propolis commerciale), et **42,62 mg/ml** (propolis de Sidi Ali Ben Youb). Par contre pour les résidus, ces valeurs sont comprises entre **0,29 mg/ml** (propolis commerciale) et **23,67 mg/ml** (propolis de Sidi Ali Ben Youb), indiquant ainsi que le pouvoir antiradicalaire des résidus des extraits hydrosolubles est plus puissant que celle des filtrats. D'une autre part, les extraits hydrosolubles de Telagh et Sidi Dahou ont un pouvoir très important que celle des extraits alcoolosolubles.

Les résultats obtenus ont montré que les quantités équivalentes en composés phénoliques des échantillons de propolis dépendent des méthodes d'extraction et des localisations géographiques.

Aussi, notre étude a révélé, que la propolis étudiée la plus riche en composés naturels, notamment, les composés phénoliques est celle de la station de Ain Trid, Mascara1 et Mascara2 suivi par les propolis des autres stations, et la méthode d'extraction la plus favorable est celle de la macération alcoolisée à 70% de concentration.

L'origine botanique de la propolis détermine sa diversité chimique, sa composition chimique dépend de la spécificité de la flore locale sur le site du collecte et donc des caractéristiques géographiques et climatiques de ce site (Ahuja, 2011).

De nombreuses recherches qui ont été portées sur l'étude de la propolis en Algérie ont montré un contraste clair dans la quantité des composés phénoliques : dans la propolis de l'Algérie occidentale, il a été constaté que la teneur en phénols totaux variait entre **9,99 et 46,63 mg / g** des échantillons de propolis, tandis que la teneur en flavonoïdes varie entre **9,52 et 29,63 mg / g** (Benhanifia et al., 2013). Les échantillons de propolis étudiés dans le Nord-Est de l'Algérie (région d'Annaba) a prouvé que la teneur en polyphénols varie entre **100,90 et 257,4 mg / g**, tandis que la teneur en flavonoïdes varie entre **58,99 et 91,44 mg / g** (Nedji et Loucif, 2014). Il a été constaté qu'au Maroc, différentes régions produisent de la propolis contenant différentes concentrations (**p < 0,05**) en phénols totaux allant d'une valeur minimale de **0,74 mg / g** à une valeur maximale de

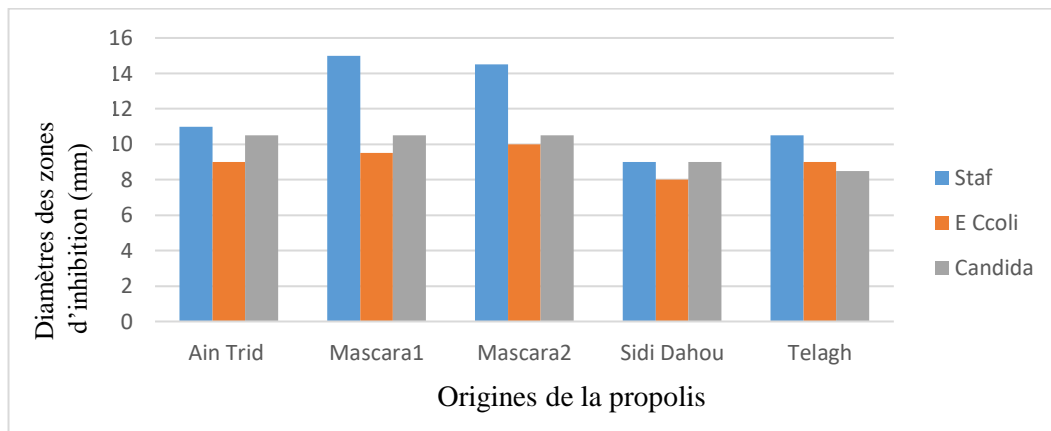
**91,22 mg / g**. La plus forte concentration des flavonoïdes était de **(34,27 mg / g)** et la plus faible était **(0,20 mg / g)** (Miguel et *al.*, 2014). En Tunisie, ils ont constaté qu'il y a des niveaux élevés de flavonoïdes totaux (**10 mg / g d'extrait**), des tanins condensés (**4,97 mg / g d'extrait**) et des phénols totaux (**2,93 mg / g d'extrait**) (Garoui et *al.*, 2011). L'activité antioxydante de la propolis dépend également de leur origine : les valeurs d'IC<sub>50</sub> étudiées dans différentes régions d'Algérie varient entre **0,007 mg/ml et 0,184 mg / ml** (Belfar et *al.*, 2015).

Par contre dans notre étude, nous constatons que, quelle que soit la méthode d'extraction ou la répartition géographique, tous les échantillons de propolis étudiés ont un pouvoir antiradicalaire très important.

Les résultats ont également montré que les extraits alcoolosolubles de propolis sont riches en polyphénols, flavonoïdes et en tanins, selon (Kuropatnicki et *al.*, 2013) : les flavonoïdes et les phénols concentrés dans la propolis sont de puissants antioxydants. L'étude de l'influence du solvant sur les propriétés antioxydants des extraits de propolis Brésiliens a montré qu'il y a des corrélations positives entre la quantité en flavonoïdes et l'activité antiradicalaire (Schmidt et *al.*, 2013). Au contraire, les extraits hydrosolubles sont riches en polyphénols, leurs teneurs en flavonoïdes et en tanins sont très faibles, ainsi que le taux de piégeage des radicaux libres de DPPH. L'augmentation de l'eau dans le système du solvant d'extraction, extrait les composés non phénoliques, tels que les glucides et les protéines, ces derniers pouvant être polymérisés en grandes quantités avec des composés phénoliques, ce qui conduit à la formation des complexes colloïdaux non détectés par le test utilisé (Bonnaillie et *al.*, 2012). Malgré leurs faibles teneurs en flavonoïdes et en tanins, les résidus des extraits hydrosolubles de propolis sont révélés avoir une activité antiradicalaire puissante que le filtrat, ceci pouvant être dû aux polyphénols présentés dans les extraits. Un grand nombre de composés phénoliques ont été obtenus, de l'ordre de 15 composés dans des extraits aqueux de propolis, parmi ces composés : les acides phénoliques polaires tels que l'acide caféique, l'acide p-coumarique, l'acide isoférulique et l'acide benzoïque (Sun et *al.*, 2015). La réextraction des résidus de propolis a réduit la quantité de cire contenu dans les extraits, ce qui provoque l'augmentation du pouvoir antiradicalaire, spécialement dans les extraits de Sidi Dahou, Telagh et la propolis commerciale. Cette dernière, qui se trouve sous forme de poudre, est riche en composés phénoliques et possède une activité antioxydante puissante par rapport aux autres échantillons, qui sont collectés directement de la ruche à l'état brut sans traitement.

### 4.2.2. Activité antimicrobienne

Les résultats de l'activité antimicrobienne sont illustrés dans les figures ci-contre (voir figures n° 27, 28, 29 et 30), et ont montré qu'il y a une différence significative ( $p < 0,05$ ) ; des diamètres des zones d'inhibition des extraits de la propolis entre les souches microbiennes testées.



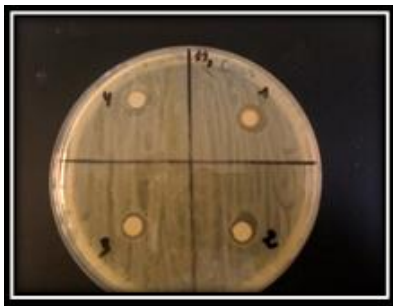
**Figure n° 27** : diamètres des zones d'inhibition (mm) des souches microbiennes testées.

Pour l'activité antimicrobienne, nous avons constaté que les extraits étudiés ont un effet plus remarquable sur les bactéries à Gram positive présentées par *Staphylococcus aureus*, que sur les autres souches.

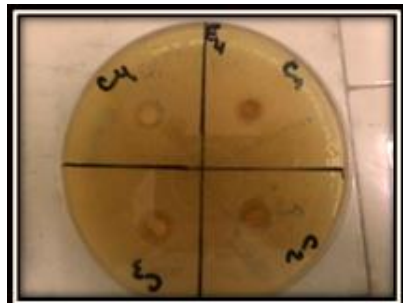
Pour *Staphylococcus*, le diamètre de la zone d'inhibition est oscillé entre **9 mm** enregistré par la propolis de Sidi Dahou et **15 mm** pour la propolis de Mascara1.

Tandis que pour les bactéries à Gram négative (*Escherichia coli*) le diamètre de la zone d'inhibition est rangé entre **8 mm** (propolis de Sidi Dahou) et **10 mm** (propolis de Mascara 2).

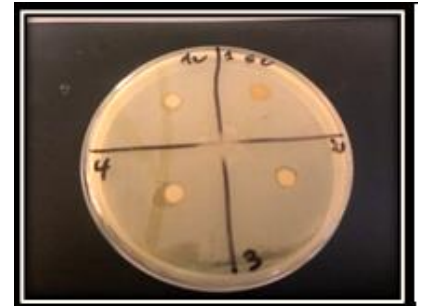
Pour l'activité antifongique, les souches fongiques qui sont présentées par *Candida albicans*, les diamètres de la zone d'inhibition sont oscillés entre **8,5 mm** révélée pour la propolis de Telagh et **10,5 mm** pour les propolis de Ain Trid, Mascara1 et Mascara 2.



**Figure n° 28** : diamètres des zones d'inhibition du *C. albicans* (Debab, 2019).



**Figure n° 29** : diamètres des zones d'inhibition du *S.aureus* (Debab, 2019).



**Figure n° 30** : diamètres des zones d'inhibition d'*E. coli* (Debab, 2019).

Pour déterminer le potentiel de l'activité antimicrobienne des extraits des propolis étudiés des différentes provenances géographiques, nous avons adopté la méthode de (Vaquero et *al.*, 2007), qui permet de classer cette activité selon une échelle allant de 1 à 10, en fonction du diamètre de la zone d'inhibition calculé après soustraction des disques.

Ainsi :

- Diamètre de la zone d'inhibition < 1 mm : absence de l'activité antibactérienne (-) ;
- Diamètre de la zone d'inhibition égale à 1 mm : activité antibactérienne très faible (f) ;
- Diamètre de la zone d'inhibition varie entre 2 et 3 mm : activité antibactérienne faible (+) ;
- Diamètre de la zone d'inhibition varie entre 4 et 5 mm : activité antibactérienne modérée (++) ;
- Diamètre de la zone d'inhibition varie entre 6 et 9 mm : activité antibactérienne forte (+++) ;
- Diamètre de la zone d'inhibition > 9 mm : activité antibactérienne très forte (++++).

En fonction de l'origine géographique des propolis étudiées, la classification du potentiel antimicrobien selon le diamètre de la zone d'inhibition est décrite dans le tableau n° 03 ci-dessous.

**Tableau n° 03** : résultats des diamètres des zones d'inhibition selon l'origine géographique de la propolis.

Origine des extraits des propolis	Diamètres de la zone d'inhibition (mm)	
<b>Ain Trid</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	5 (++) : modérée
	<i>Escherichia coli</i>	3 (+) : faible
	<i>Candida albicans</i>	4,5 (++) : modérée
<b>Mascara1</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	9 (+++) : forte
	<i>Escherichia coli</i>	3,5 (+) : faible
	<i>Candida albicans</i>	4,5 (++) : modérée
<b>Mascara2</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	8,5 (+++) : forte
	<i>Escherichia coli</i>	4 (++) : modérée
	<i>Candida albicans</i>	4,5 (++) : modérée
<b>Sidi Dahou</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	3 (+) : faible
	<i>Escherichia coli</i>	2 (+) : faible
	<i>Candida albicans</i>	3 (+) : faible
<b>Telagh</b>	<i>Staphylococcus aureus</i>	4,5 (++) : modérée
	<i>Escherichia coli</i>	3 (+) : faible
	<i>Candida albicans</i>	2,5 (+) : faible

Nous constatons, selon le tableau ci-dessus que l'extrait de la propolis de Mascara2 a un effet antimicrobien très fort que celle des autres extraits, et l'extrait de Sidi Dahou a une faible activité.

Les résultats obtenus ont montré que les extraits de la propolis de l'ouest algérien ont un effet antibactérien considérable sur les bactéries à gram positive (*S.aureus*), par contre pour les bactéries à gram négative (*E. coli*), l'effet est plutôt plus ou moins faible. Une étude a été menée sur les échantillons de la propolis des régions de Sidi Bel Abbés, Tlemcen et Mascara ont confirmé nos résultats, où le diamètre de la zone d'inhibition est rangé entre **8,05 et 21,4 mm** contre *S.aureus*, tandis qu'aucun effet antibactérien n'a été enregistré sur *E. coli* (gram négative) (Benhanifia et al., 2013). Les travaux de (Velikova et al., 2000), sur l'activité antibactérienne et antifongique de la propolis de la région de M'sila (Est algérien), ont révélé un diamètre de la zone d'inhibition de **19 mm** contre *S. aureus*, et **12 mm** contre *Candida albicans*, alors qu' aucun effet n'a été observé sur *E.coli*.

L'activité antimicrobienne des extraits de la propolis étudiés dépend de l'origine géographique, où l'extrait de Mascara2 est le plus efficace et le plus remarquable.

Par ailleurs, l'activité antimicrobienne des extraits éthanoliques de la propolis de différentes régions du Nord Est algérien varie en fonction de l'origine de la propolis, et de sa capacité d'inhiber la croissance des bactéries, ce qui suggère que les origines botaniques jouent un rôle important dans l'influence de l'activité antimicrobienne (Nedji et Loucif, 2014). D'après des études menées sur les substances antibactériennes et antifongiques de la ruche, seule la propolis est intéressante au point de vue antifongique dans la ruche ; en effet, les cadavres (souris ou gros lépidoptères) dont les abeilles ne peuvent se débarrasser à cause de leur taille, sont enrobés de propolis, ces cadavres ne se putréfient pas mais ils ne moisissent pas non plus (Lavie, 1960 b).

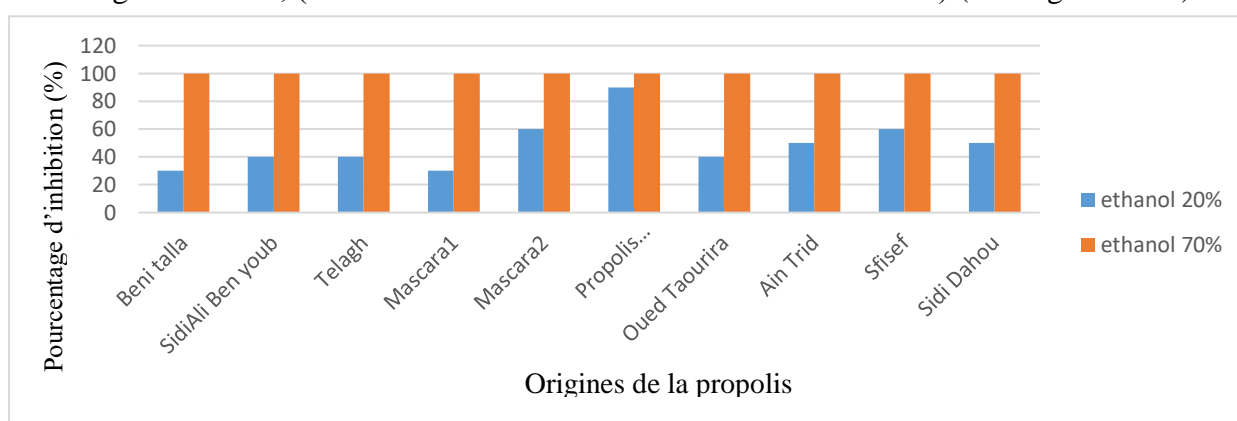
En fait, l'activité antibactérienne et antifongique de la propolis est due à la présence des composés polaires (flavonoïdes, acides phénoliques et leurs esters). Le mécanisme possible de l'action antibactérien et antifongique de la propolis est due à une inhibition de la division cellulaire en présence de cette propolis, en agissant sur la réplication de l'ADN de ces organismes, une simple analogie avec le mode d'action des antibactériens classiques (Ota et al., 2000).

### 4.2.3. Activité antimicrobienne

- **Activité antigerminatif**

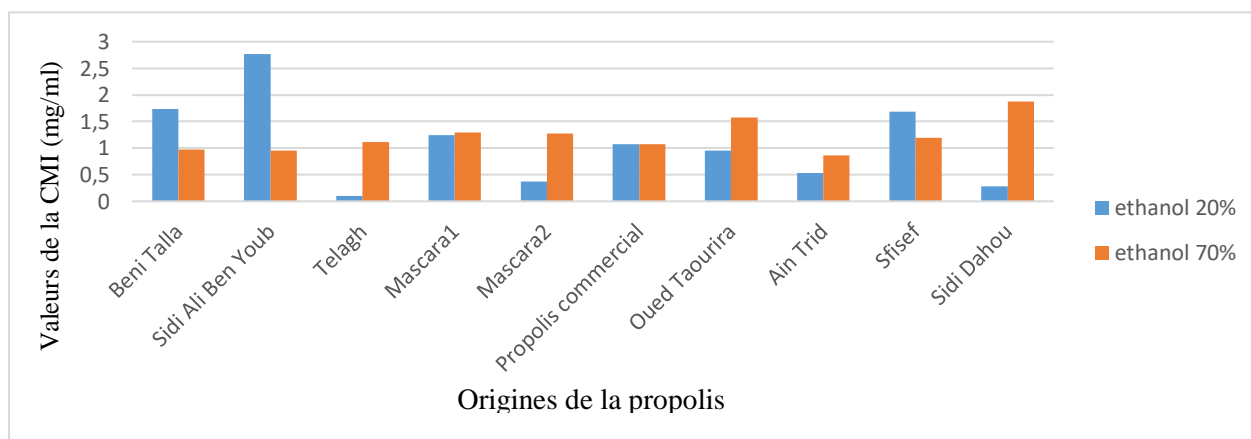
Les résultats de l'activité antigerminative sont illustrés dans les figures n° 31, 32, 33, 34 et annexe B).

L'effet des extraits étudiés sur la germination des graines de lentille, nous a permis de constater que les extraits alcoolosolubles ont un pouvoir antigerminatif très important que celui des extraits hydrosolubles ( $p < 0,05$ ), où le taux d'inhibition de germination a atteint **100%**. Tandis que celui des extraits hydrosolubles, il reste plus ou moins important, à raison de **90%** comme un pourcentage maximale, (c'est le cas de l'extrait de la propolis commerciale), et **30%** comme un pourcentage minimale ; (c'est le cas de l'extrait de Beni Talla et Mascara1) (voir figure n° 31).



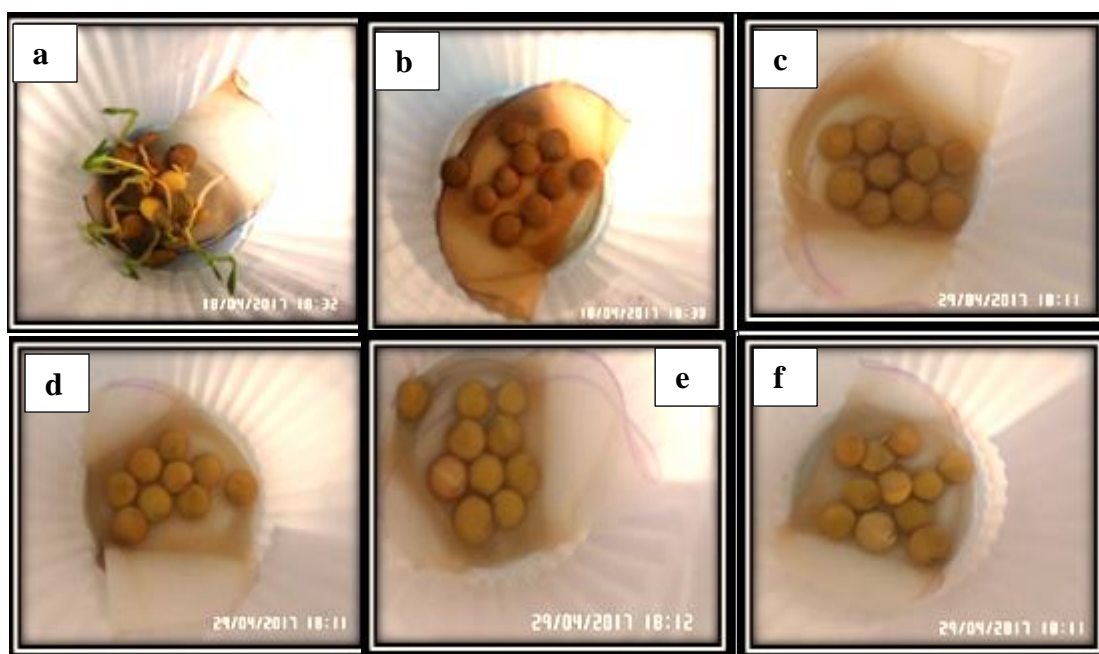
**Figure n° 31** : taux d'inhibition de la germination des graines de lentille en pourcentage selon mode d'extraction et l'origine géographique de la propolis.

Toutefois, la concentration minimale inhibitrice de la germination des graines de lentille (CMI) des extraits hydrosolubles enregistrée, paraît très intéressante, en particulier chez les extraits originaires de Telagh (**0,1 mg/ml**) et de Sidi Dahou (**0,28 mg/ml**), néanmoins les valeurs des CMI des autres extraits ne dépassent pas la valeur de **2,77 mg/ml** (voir figure n° 32).

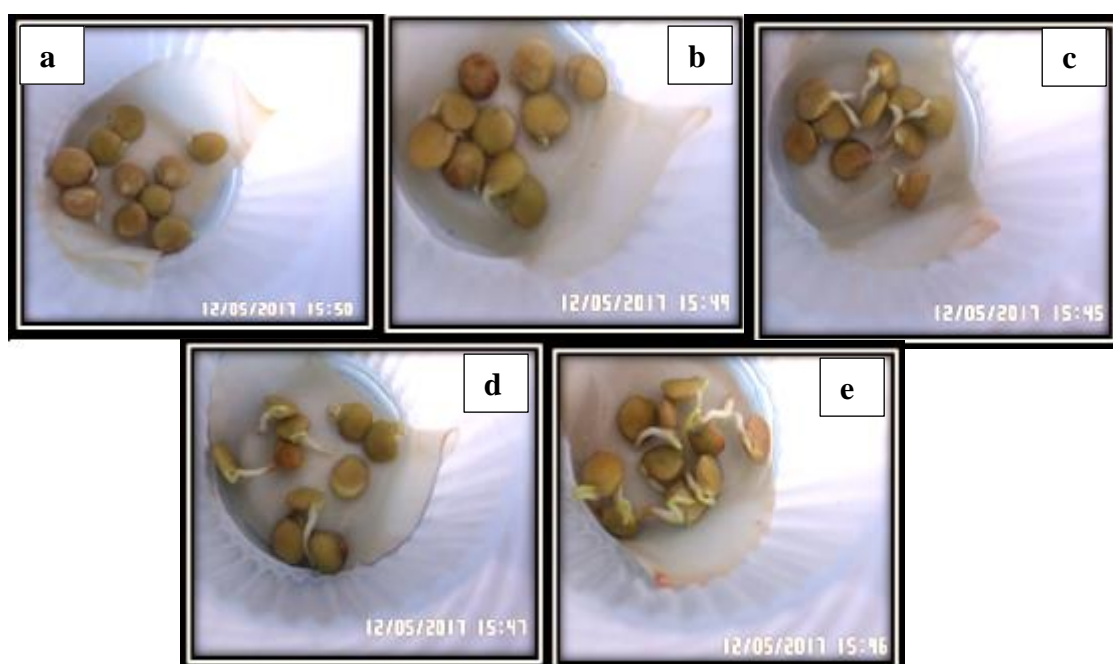


**Figure n° 32** : valeurs de la CMI (mg/ml) de différents extraits de la propolis appliquées en fonction du mode d'extraction et l'origine géographique.

En parallèle, il est à noter que même si le taux d'inhibition de la germination des différents extraits alcoolosolubles étudiés, en révélant des pourcentages importants de 100%, la CMI en mg/ml, utilisée est plus importante que celle des extraits hydrosolubles utilisée, à l'exception de la CMI des extraits alcoolosolubles de Sidi Dahou, Sfisef et Telagh, où les concentrations appliquées pour inhiber la germination des graines de lentille sont plus ou moins faible, (**1,88 mg/ml**, **1,85 mg/ml** et **1,11 mg/ml**) respectivement (voir annexe B).



**Figure n° 33** : taux de germination des graines de lentille de l'extrait alcoolosoluble de Mascaral1 à différentes concentrations. a : l'eau, b : C1, c : C2, d : C3, e : C4, f : C5 (Debab, 2019).



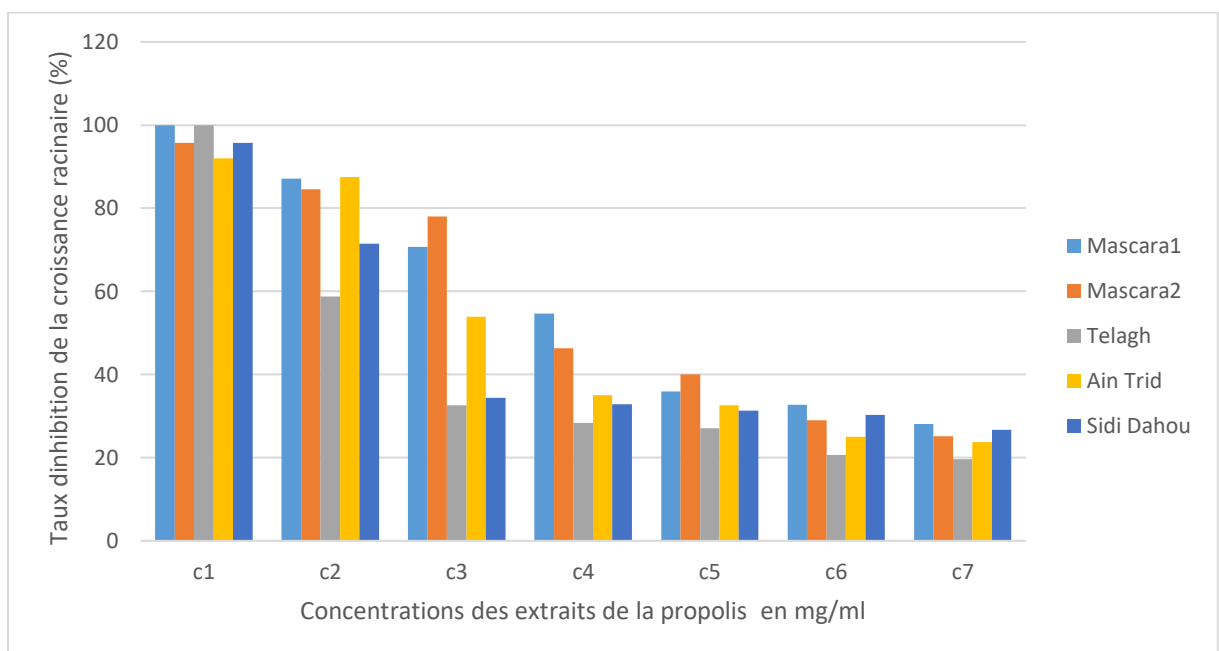
**Figure n° 34** : taux de germination des graines de lentille de l'extrait hydrosoluble de Mascaral1 à différentes concentrations. a : C1, b : C2, c : C3, d : C4, e : C5 (Debab, 2019).

Les résultats de l'activité inhibitrice de la croissance racinaire sont illustrés dans les figures n° 35, 36 et 37 et annexe B.

Les observations et les mesures des élongations racinaires pendant 48 heures, nous a permis de dire qu'il y a une différence significative du taux d'inhibition de la croissance racinaire entre les différentes concentrations des différents extraits de la propolis ( $p < 0,05$ ). C'est ainsi que pour l'extrait originaire de Mascara1 à titre d'exemple, le taux d'inhibition de la croissance racinaire des plantules de lentilles germés atteint **100%** à une concentration **C1** puis il diminue à **87,17%** pour une concentration **C2**, pour qu'il baisse jusqu'à concentration **C7** (voir figure n° 35 et annexe B).

D'une manière générale, nous constatons que le taux d'inhibition de la croissance racinaire de lentille germée, est proportionnel à la concentration des différents extraits bruts appliqués, quel que soit l'origine géographique de la propolis.

Nous devons noter aussi, que seuls les extraits alcoolosolubles qui sont pris en considération dans le cas de cette activité.

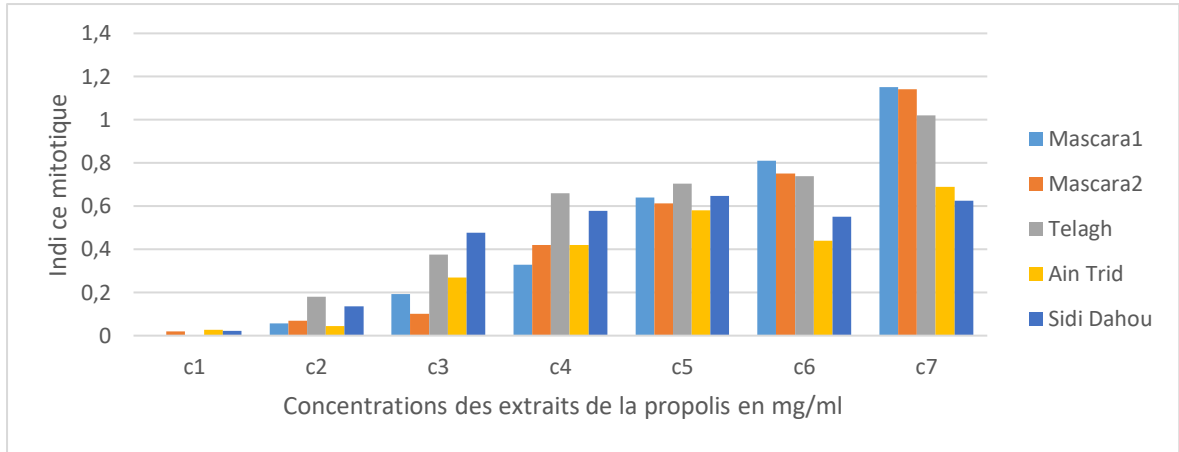


**Figure n° 35** : pourcentage d'inhibition de la croissance racinaire de la lentille germée en fonction des différentes concentrations des extraits bruts de la propolis.

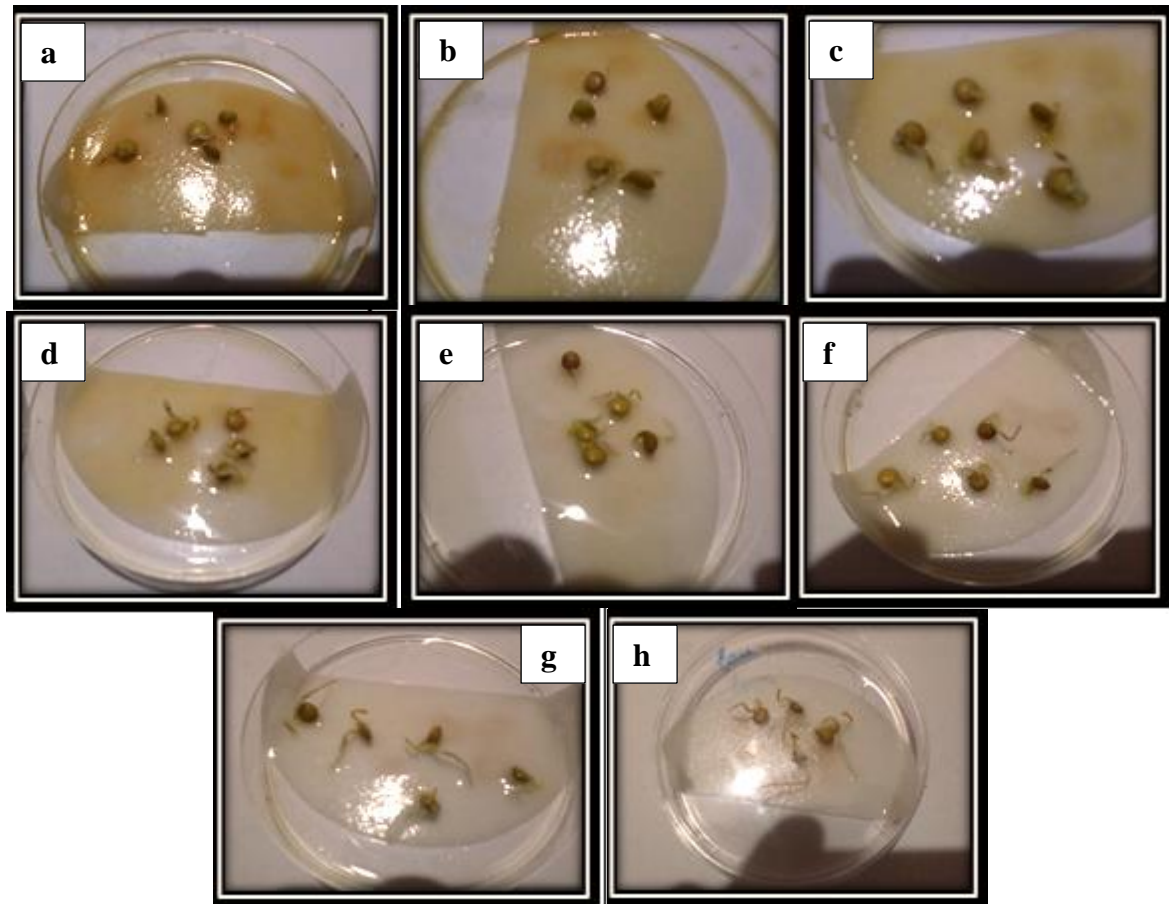
Le pourcentage d'inhibition dépend aussi de l'origine géographique ( $p < 0,05$ ), où les extraits de Mascara1, Mascara 2 et Ain Trid présentent un pouvoir d'inhibition très important, aussi, le taux d'inhibition pour les concentrations **C1**, **C2** et **C3** des extraits de la région de Ain Trid sont respectivement **92%**, **87,5%** et **53,84%**, tandis que pour la région de Telagh sont **100%**, **58,79%** et **32,65%**, et pour la région de Sidi Dahou : **95,65%**, **71,42%** et de **34,37%** (voir figure n° 35).

C'est ainsi que l'indice mitotique de la croissance racinaire de la lentille germée, calculé est inversement proportionnelle à la concentration des extraits bruts appliqués (voir figure n° 36).

À titre d'exemple, les extraits bruts originaires de Mascara1 et du Telagh, présentent un indice mitotique égal à 0 à une concentration C1, puis cet indice augmente petit à petit, en diminuant la concentration de l'extrait brut pour atteindre une valeur de 1,15, à une concentration C7.



**Figure n° 36 :** indice mitotique de la croissance racinaire de la lentille germée en fonction des différentes concentrations des différents extraits bruts de la propolis.



**Figure n° 37 :** taux de croissance racinaire des graines de la lentille en fonction des différentes concentrations de l'extrait brut de Mascara1 **a** : C1, **b** : C2, **c** : C3, **d** : C4, **e** : C5, **f** : C6, **g** : C7, **h** : l'eau (Debab, 2019).

D'après (Deysson, 1961), pour étudier convenablement les caractéristiques d'activité d'un composé antimitotique, il est nécessaire d'éprouver l'action des concentrations régulièrement décroissante allant de la concentration maximale à la concentration minimale mortelle en un temps court.

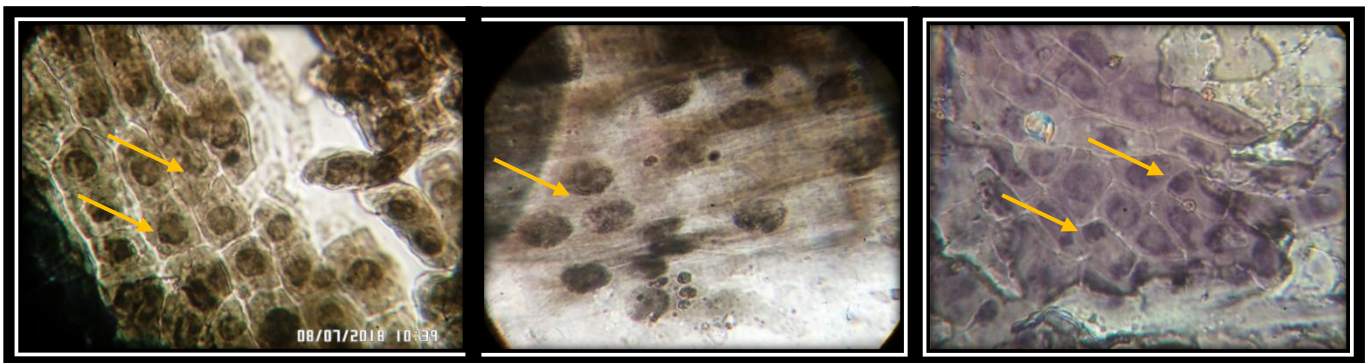
Le calcul de l'indice de mitose, nous a permis d'extraire les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des extraits de la propolis, qui sont confinées entre **0,44 mg/ml** (extraits de Mascara 1, Mascara 2 et Telagh), et **0,22 mg/ml** pour les extraits de Ain Trid et Sidi Dahou. Ces valeurs ont mieux confirmé le pouvoir inhibiteur des extraits de la propolis étudiés.

Rappelons que le contrôle négatif représenté par l'éthanol (à 70% et 20%) et le DMSO, dans un rapport de 30%, n'ont aucun effet sur la germination, ni sur l'inhibition de la croissance racinaire.

En parallèle, l'étude de l'analyse cytogénétique du méristème racinaire traité à différentes concentrations des extraits bruts de la propolis, est illustrée dans la figure n° 38 (a, b et c).

Il est à noter que toutes les cellules de méristème racinaire de lentille traité, par la concentration C1, sont en arrêt de division mitotique (figure n° 38a), alors que celles traitées par la concentration C4, sont en cours de division cellulaire (figure n° 38 b).

Bien évidemment, le test témoin traité par l'eau distillée, montre que les cellules méristématiques sont en plein division (figure n° 38 c).



**Figure n° 38 a**

**Figure n° 38 b**

**Figure n° 38 c**

**Figure n° 38** : analyse cytogénétique du méristème racinaire de lentille, traité par différentes concentrations des extraits bruts de la propolis (grossissement X1000) (Debab, 2019).

- a** : méristème traité à la concentration **C1**.
- b** : méristème traité à la concentration **C4**.
- c** : méristème traité à l'eau (test témoin).

L'activité antigerminatif des extraits de la propolis de l'ouest algérien a démontré que tous les extraits étudiés ont un effet antigerminatif, quel que soit la nature des extraits (alcoolosolubles et hydrosolubles), selon les valeurs de la CMI (concentration minimale inhibitrice), qui sont rangées entre **0,1 mg/ml** (extrait hydrosoluble de Telagh), et **0,28 mg/ml** (extrait hydrosoluble de Sidi Dahou), mais le pourcentage d'inhibition des extraits alcoolosolubles est très important que celui des extraits hydrosolubles, où il a atteint 100% dans les trois jours d'observation après semis.

Dans le même contexte, des travaux réalisés par différents chercheurs ont confirmé notre étude et ont des résultats similaires aux nôtres ; aussi, (Derevici *et al.*, 1964), ont démontré l'action antigerminatif des extraits de la propolis Romaine et Soviétique sur les semences du chanvre (*Cannabis sativa*), et ceux, dans des concentrations de 1/10 et 1/20.

Aussi, (Gonnet, 1968) a étudié les propriétés phytoinhibitrices de la colonie des abeilles, et a démontré que la propolis a une action phytocide sur les tubercules de la pomme de terre.

L'étude de l'activité d'inhibition de la croissance racinaire des graines de lentille traités par nos extraits bruts a démontré que le taux d'inhibition ainsi que l'indice de mitose dépendent des concentrations et de l'origine géographique des extraits de propolis, où les régions de Mascara1, Mascara2 et Ain Trid ont un pouvoir inhibiteur très important. Les valeurs de la CMI allant de **0,44 mg/ml** à **0,22 mg/ml** ont confirmé l'effet antimittotique remarquable de nos extraits.

L'indice de mitose est expliqué par l'analyse cytogénétique des méristèmes radiculaires traités par différentes concentrations des extraits de la propolis. La partie du méristème traitée par la concentration **C1** n'a donné aucune cellule en cour de division, par rapport à une concentration de **C4**, et au témoin (eau), où nous avons trouvé des cellules méristématiques en division ont été identifiées.

Aussi, l'étude sur les extraits éthanoliques de propolis provenant de différentes régions en Turquie, a montré qu'ils ont des effets antigerminatifs et antimittotiques sur les grains de blé (*Triticum durum*), en fonction des concentrations et de l'origine géographique de propolis (Sorkun *et al.*, 1997).

Les concentrations actives les plus élevées provoquent plus ou moins rapidement la mort des racines. Lorsque l'action toxique est rapide, les cellules méristématiques présentent un aspect uniforme : les noyaux dont la chromatine est atteinte de chromatolyse renferment des nucléoles fortement dilatés et les vacuoles sont hypertrophiées, ainsi que quelques mitoses abortives très altérées dont la chromatine est grossièrement coagulée (Bournique, 1970).

Selon (Fasla, 2009), quand l'indice de mitose diminue en dessous de 22% du témoin, il provoque ce qu'on appelle « effet létal » sur les organismes testés. Une diminution de l'indice mitotique de 50%, est habituellement a un « effet sub létal ». D'après ce qui précède, nous pouvons déduire que les extraits de nos échantillons de propolis présentent un effet létal aux concentrations de **C1, C2 et C3**.

À la fin, nous pouvons conclure selon les résultats obtenus de l'activité antimitotique des extraits de la propolis de l'ouest algérien que ces derniers ont un pouvoir anticancéreux et cytotoxique.

Aussi, une étude sur les extraits éthanoliques de la propolis Tunisienne, a prouvé qu'ils ont une activité antiproliférative puissante contre les cellules cancéreuses, où les valeurs d'IC50 sont rangées entre **0,015 mg/ml** et **0,2 mg/ml** (Koudhi et *al.*, 2010).

L'évaluation des extraits de la propolis Marocaine *in vitro* a confirmé une activité cytotoxique sur les cellules cancéreuses, où les valeurs d'IC50 sont oscillées entre **0,015 mg/ml** et **0,038 mg/ml**. Ces extraits ont un effet aussi sur la diminution du volume des cellules tumorales chez les souris (Ait Mouse et *al.*, 2012). Des études faites, *in vitro* et *in vivo*, ont prouvé que la propolis a une action immunomodulateur, qui stimule l'immunité non spécifique, active l'immunité humorale, et améliore l'immunité à médiation cellulaire, ce qui est bénéfique pour la chimioprévention du cancer (Elbaz et *al.*, 2016).

#### **4.2.4. Activité anthelminthique**

- **Activité anthelminthique des extraits de la propolis**

Les résultats obtenus sont illustrés dans les figures ci-dessous (figures n° 39 et 40), et qui montre qu'après 30 minutes, 60 minutes et 90 minutes d'observation de l'état des vers traités par les extraits de la propolis à différentes concentrations allant de **14,78 mg/ml** à **0,22 mg/ml**, nous avons constaté qu'il y a une différence significative (**p<0,05**) du temps nécessaire de paralysie des vers entre différentes concentrations des extraits de la propolis étudiés. Le temps requis pour paralysie ces vers est estimé à 30 minutes pour les concentrations **C1, C2 et C3** tous les extraits confondus, à l'exception de l'extrait de Sidi Dahou, où le temps nécessaire pour paralyser es de 60 minutes.

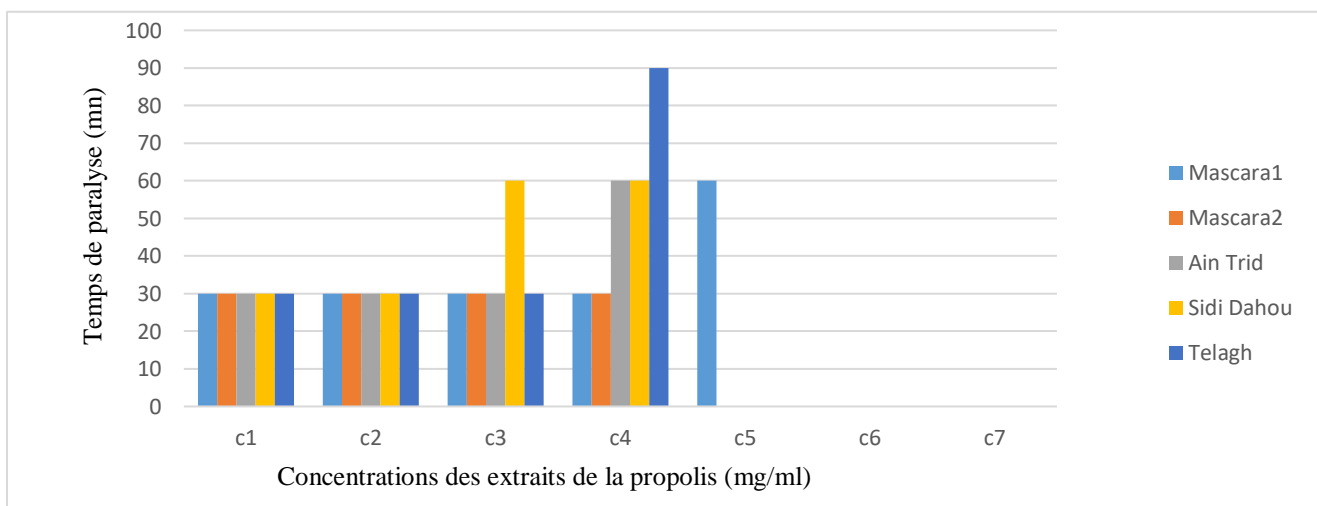
A propos la concentration **C4**, le temps de paralysie des vers est de 60 minutes pour les extraits de Sidi Dahou et Ain Trid, et de 90 minutes pour l'extrait de Telagh, néanmoins, à partir des différents extraits bruts des différentes propolis étudiées, nous avons constaté, que tous les vers

sont en état mobile à l'exception de l'extrait de la propolis de Mascara1, où les vers sont paralysés au bout de 60 minutes à une concentration de **C5**.

Nous rappelons que le contrôle négatif représenté par le DMSO dans un rapport de 30% n'a aucun effet notable contre les vers.

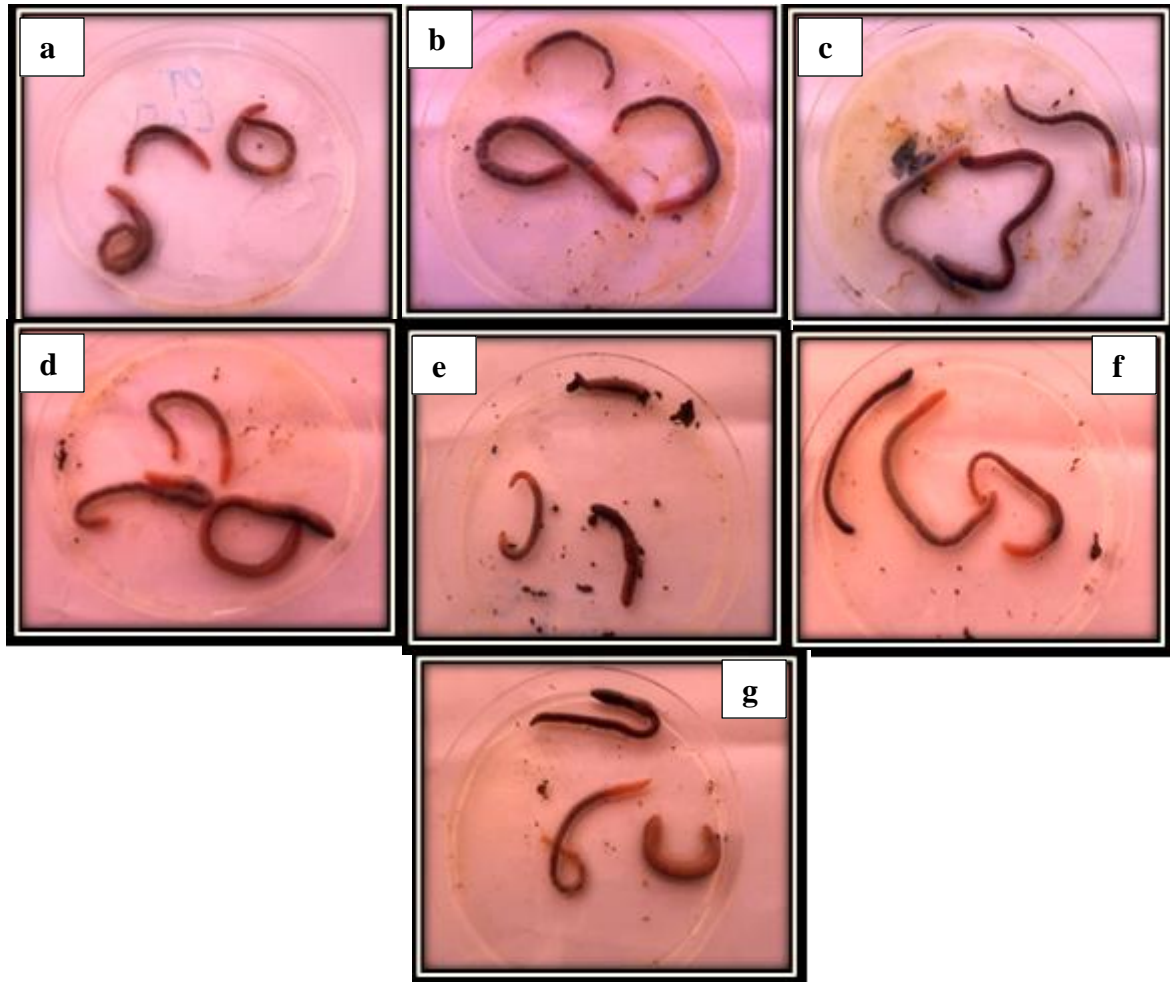
Après 90 minutes de l'expérimentation, nous avons constaté que les vers traités par l'extrait brut de Mascara2 sont morts, au bout de la concentration **C1** et **C2**, et au niveau de C1 dans l'extrait de Mascara1. Le temps global nécessaire pour la mort de tous les vers testés est évalué à **5 heures (300 minutes)** qui suivent l'expérimentation (voir figure n° 39).

L'estimation du temps de paralysie et de la mobilité des vers, nous a permis de calculer la CMI (concentration minimale inhibitrice) des extraits de la propolis étudiés, qui est confinée entre **0,89 mg/ml** (extrait de Mascara1) et **1,78 mg/ml** (extraits de Mascara2, Ain Trid, Sidi Dahou et Telagh). Ces valeurs confirment le pouvoir anthelminthique de tous les extraits étudiés.



**Figure n° 39** : effets des différentes concentrations des extraits bruts de la propolis à différentes provenances sur la paralysie des vers de terre.

La figure ci-contre représente les vers de terre traités par différentes concentrations de l'extrait de Ain Trid. Nous avons observé que l'effacement de couleur des vers est très clair au niveau des concentrations **C1**, **C2** et **C3**, avec l'excrétion des substances jaunâtres dans les boîtes (voir figure n° 40).



**Figure n° 40** : traitement des vers de terre par l'extrait brut de la propolis de Ain Trid à différentes concentrations (Debab, 2019).

**a** : C1, **b** : C2, **c** : C3, **d** : C4, **e** : C5, **f** : C6, **g** : C7.

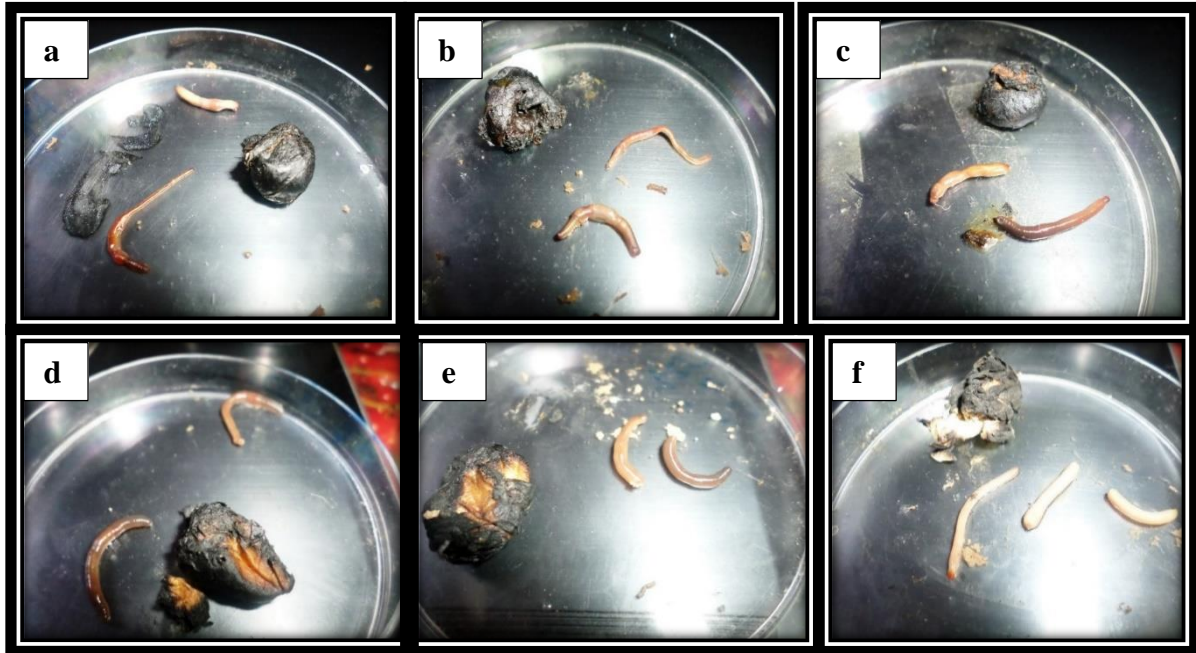
- **Activité anthelminthique de la fumée de la propolis brute**

Nous rappelons que durant cette expérience, nous avons testé l'effet de la fumée de la propolis sur les vers de terre. Tous les résultats obtenus ont montré qu'après 30 minutes d'exposition des vers à la fumée, ils sont paralysés, et aucun cas de mortalité n'a été enregistré durant 60 minutes et 90 minutes qui suivent. Les vers sont restés à l'état d'immobilité durant **13 heures**, où nous avons enregistré la mort des vers exposés à la fumée de la propolis de Sidi Dahou, et celle de Telagh ;

celles de la propolis de Mascara1, Mascara2 et Ain Trid, ont provoqué la mort des vers après **15 heures**.

Les vers traités par la fumée du papier sont tous morts par asphyxie, après 30 minutes d'exposition.

Le traitement des vers par la fumée de la propolis a provoqué des modifications morphologiques, notamment leur noircissement et leur dessèchement qui se présentent clairement dans la figure ci-contre (voir figure n° 41).



**Figure n° 41** : traitement des vers de terre par la fumée de la propolis de différentes provenances géographiques (Debab, 2019).

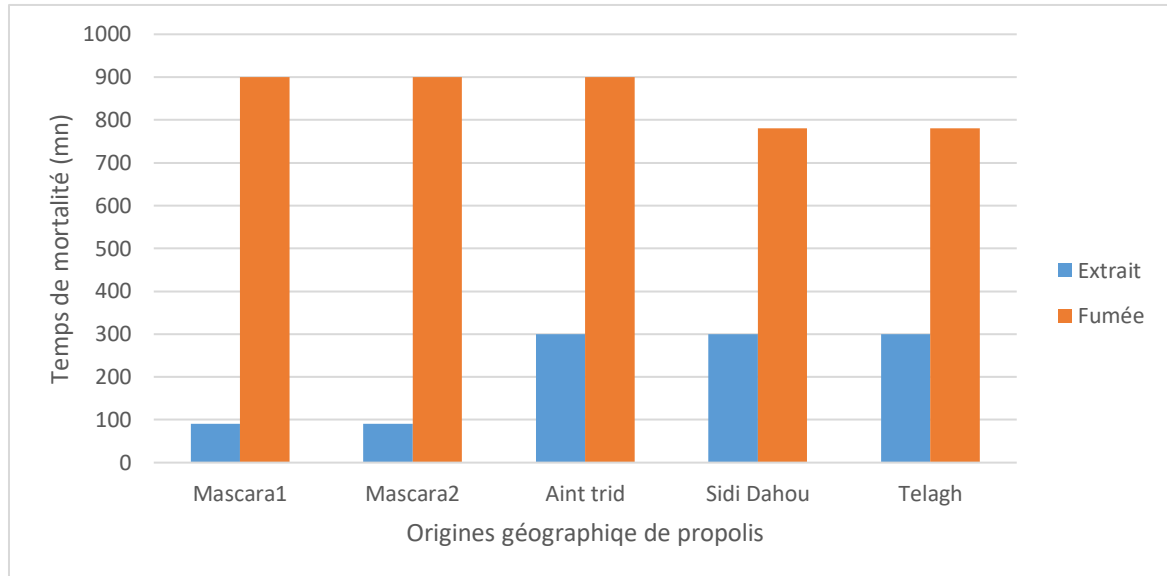
**a** : Sidi Dahou, **b** : Telagh, **c** : Mascara1, **d** : Mascara2, **e** : Ain Trid, **f** : test témoin.

La durée nécessaire, provoquant la paralysie des vers de terre, est pratiquement la même qu'ils soient exposés à la fumée de la propolis ou bien à leur extraits bruts des différentes provenances.

Par contre, la mort ou même les changements morphologiques de ces lombrics, exige un temps d'exposition à la fumée plus important que celui des extraits bruts comme c'est mentionné à la figure n° 42.

Ainsi, nous avons constaté que Le temps estimé entre le paralysie et la mort des vers traités par la fumée est plus important que celle de l'extrait, ce qui prouve l'effet anesthésique de la propolis.

Les changements macroscopiques de l'état des vers après le traitement par la fumée de la propolis, principalement le dessèchement et le noircissement de leurs corps, ont aidé à comprendre le processus d'inhibition de la putréfaction des cadavres à l'intérieur de la ruche par la propolis, à cause de leurs émissions volatiles.



**Figure n° 42 :** effet des extraits bruts des propolis et de la fumée sur la viabilité des vers de terre (temps de mortalité).

Il est à noter que l'helminthiase est l'une des maladies animales les plus importantes, entraînant de lourdes pertes de production. La maladie est très répandue, en particulier dans les pays du tiers monde en raison de mauvaises pratiques de gestion. Le contrôle chimique des helminthes associé à une gestion améliorée a été la stratégie de lutte contre les vers dans le monde entier. Cependant, les problèmes augmentant du développement de la résistance dans les helminthes (Lateef et *al.*, 2003).

L'organisation mondiale de santé a estimé que deux milliards de personnes sont porteuses de cette infection parasitaire (Aswar et *al.*, 2008).

Nous déduisons que ces résultats ont prouvé que tous les extraits de la propolis étudiés ont un pouvoir anthelminthique élevé, où les valeurs de la CMI sont estimées entre **0,89 mg/ml** et **1,78 mg/ml**.

Cependant, les extraits de Mascara 1 et Mascara 2 sont considérés les plus efficaces ; par leurs effets puissants de tuer les vers dans un laps de temps de **90 minutes**, par rapport aux autres extraits (le temps requis est de **05 heures**).

La propolis a inhibé la croissance du parasite helminthique *Fasciola gigantica*. Dans les tests contre la schistosomiase chez la souris, une réduction significative du nombre de schistosomes de 59,2% a été obtenue dans le groupe traité par la propolis, contre une réduction de 98,9% dans le groupe traité par le **praziquantel** (Siheri et al., 2017). Une étude a été réalisée pour évaluer l'effet de la propolis égyptienne sur *Toxocara vitulorum*, où les vers adultes ont été incubés pendant 24 heures à plusieurs concentrations d'extrait éthanolique de la propolis (100, 50, 25, 12 et 6 µg / ml) et évalués par microscope électronique à balayage et à lumière après l'incubation. Il a été observé que l'extrait possédait une efficacité anthelminthique et que le taux de mortalité était dépendant de la concentration (Siheri et al., 2017).

Aussi, des études ont montré que les flavonoïdes et les tanins sont impliqués dans l'activité anthelminthique, ils inhibent la phosphorylation oxydative des helminthes, en se fixant sur une glycoprotéine, le collagène, qui joue le rôle protecteur de la cuticule du parasite. Cette fixation induit un dommage de la cuticule, puis la mort de l'helminthe (Ongoka et al., 2012), ce qui explique, dans notre étude, l'apparition des substances jaunâtres (collagène) dans les boîtes, et l'effacement du couleur des vers.

L'étude de l'effet de la fumée de la propolis a montré qu'il a un pouvoir inhibiteur puissant équivalent à celui de l'extrait brut.

Son odeur est complexe, parfois semblable à un baume, rappelant la cire, miel et vanilline. Lorsqu'elle est brûlée, la fumée a un arôme typique de baumes et résines de la plus haute qualité (Mateescu, 2013).

En comparant l'effet de la fumée de la propolis et celle du papier, nous constatons que la fumée de la propolis est riche en composés volatiles susceptible d'inhiber et bloquer l'action des vers, ce qui explique le rôle de la propolis à l'intérieur de la ruche comme agent antibiotique : Les modes d'action de la propolis contre les microbes et les parasites sont actuellement inconnus et pourraient être dus à des contacts et / ou des émissions volatiles (Finstorm et Spivak, 2010).

### 4.2.5. Activité cicatrisante

Les étapes de cicatrisation des brûlures par l'extrait de propolis de la station de Ain Trid sont illustrés dans les figures ci-contre (voir figures n° 43, 44 et annexe C).

Ainsi, aucun cas de mortalité ou de signes d'infection des brûlures n'a été enregistré durant l'expérimentation.

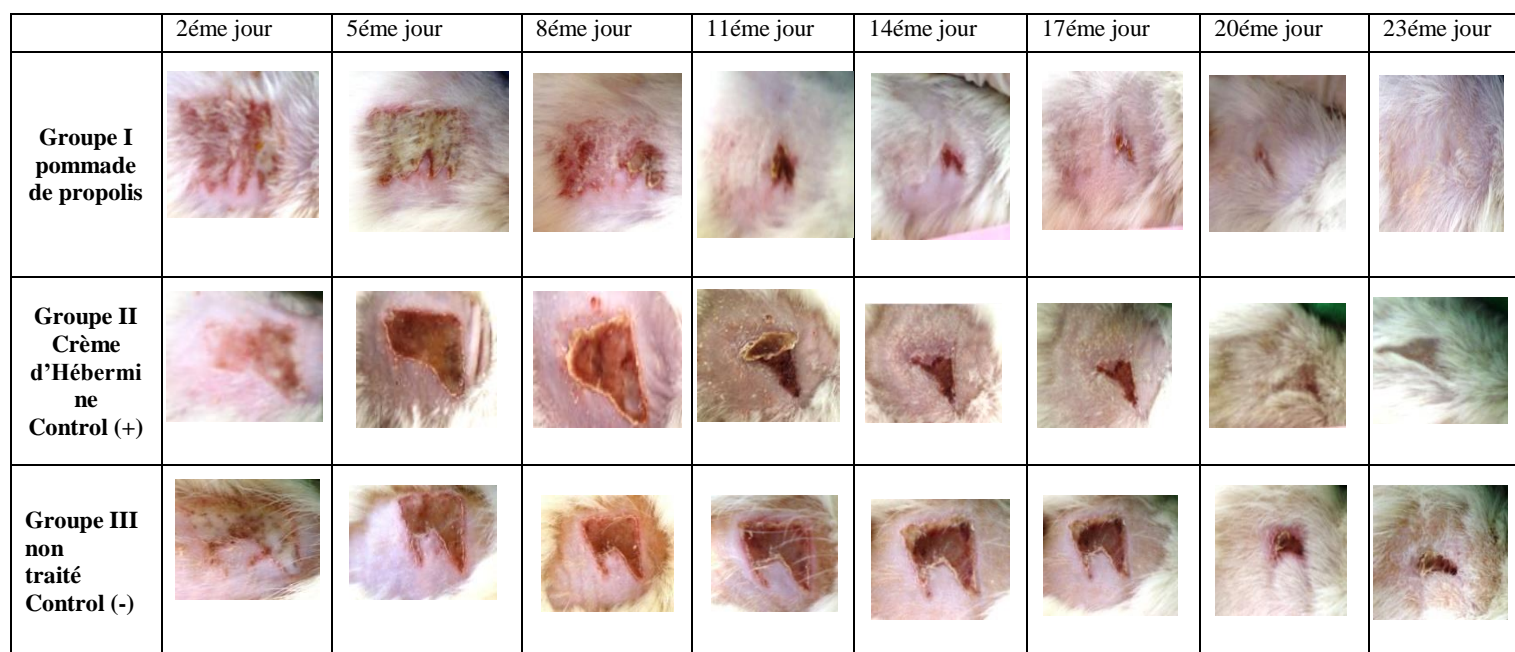


Figure n° 43 : changements macroscopiques de la cicatrisation des brûlures pour différents groupes

(Debab, 2019).

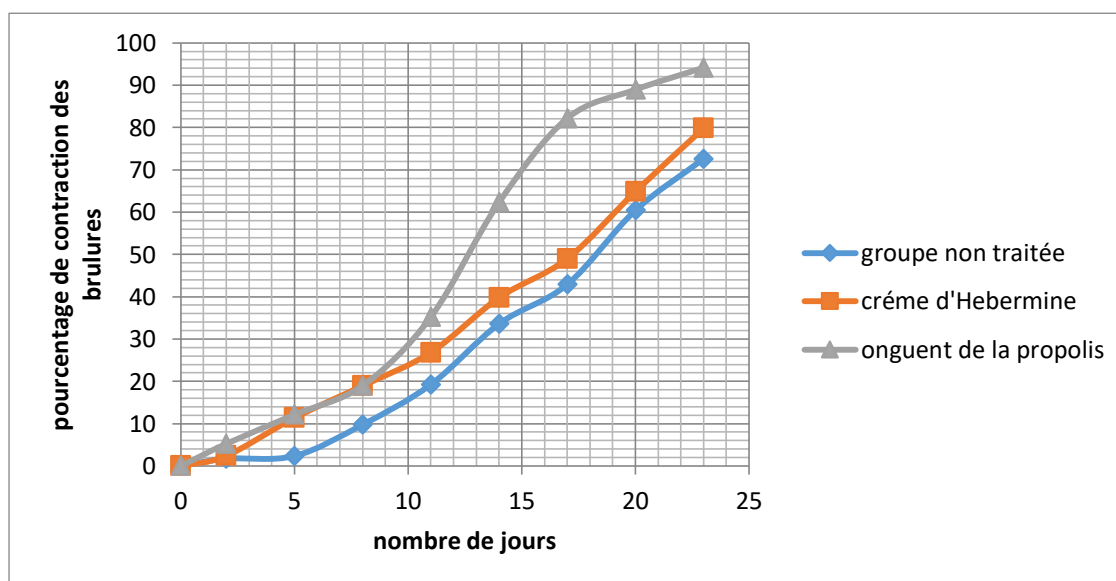


Figure n° 44 : évolution du pourcentage de contraction des brûlures des groupes étudiés.

Les résultats observés, nous ont permis de diviser l'évolution de la contraction des brûlures en deux phases essentielles, parmi les groupes étudiés :

- Du premier jour au onzième jour après la brûlure, le pourcentage de contraction dans les groupes traités (groupes I et II), et celle du groupe non traité (groupe III) ne semble pas constituer une différence significative ( $p > 0,05$ ). À titre d'illustration : le pourcentage de contraction au deuxième jour après la brûlure dans le groupe I est de **4,82% ± 2,02**, groupe II **2,43% ± 1,70** et groupe III **1,71% ± 0,64**. Au 5ème jour, le pourcentage de fermeture des brûlures est arrivé à **11,02% ± 3,41** dans le groupe I, **11,44% ± 5,77** dans le groupe II et **2,36% ± 0,65** au niveau du groupe III. Au 11ème jour la brûlure a été cicatrisée à un pourcentage de **33,28% ± 15,15** dans le groupe I, **27,21% ± 14,40** dans le groupe II et **19,25% ± 6,74** dans le groupe III.

- À partir du 14ème jour et jusqu'au 20ème jour, le pourcentage de contraction des brûlures montre une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre les groupes étudiés, le groupe traité par la propolis présentant un fort pourcentage de contraction que les autres groupes.

C'est ainsi qu'au 14ème jour, le pourcentage de contraction atteint **60,28% ± 16,50** dans le groupe I, **39,95% ± 10,60** dans le groupe II et **33,54% ± 14,12** dans le groupe III. Au niveau du 17ème jour, ce pourcentage atteint **83,13% ± 6,22** dans le groupe I, **49,01% ± 13,86** dans le groupe II et **42,86% ± 12,55** dans le groupe III. Le pourcentage de contraction n'a cessé d'augmenter jusqu'au 20ème jour, avec une valeur de **90,44% ± 6,54** dans le groupe I, **65,04% ± 13,99** dans le groupe II et **60,36% ± 20,79** dans le groupe III.

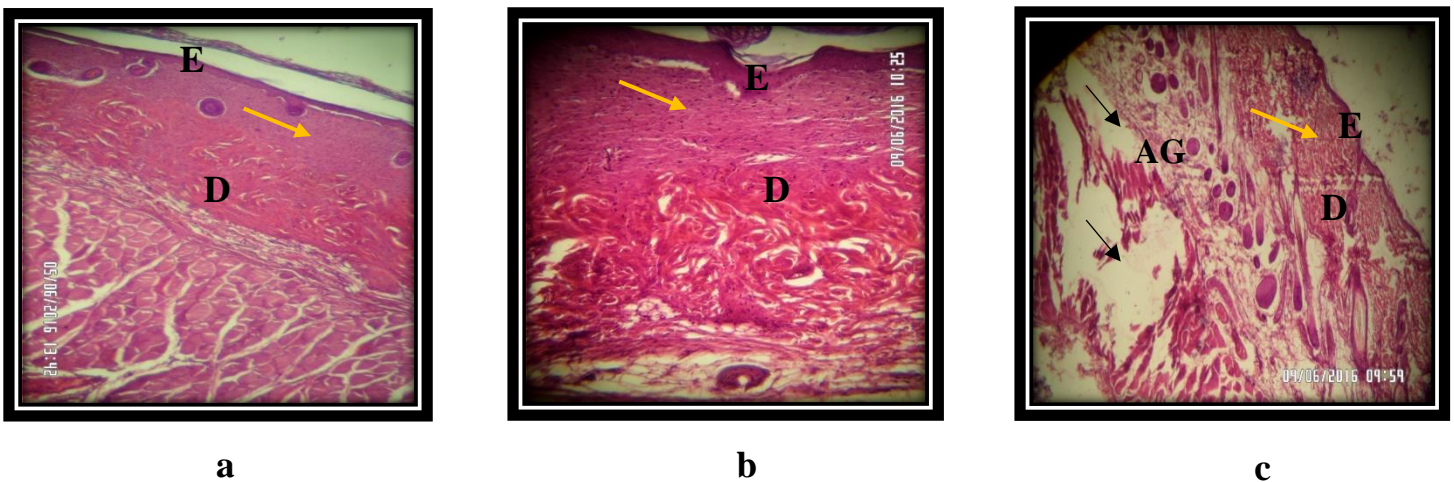
Au dernier jour (23ème jour), les analyses statistiques ont montré qu'il n'y avait pas de différence significative entre les groupes traités.

De ce fait, nous pouvons dire que le nombre de jours requis pour contracter 50% de la taille initiale des brûlures varie d'un groupe à l'autre. À titre d'illustration, dans le groupe traité par la pommade à base de propolis, la cicatrisation de 50% de la surface de la brûlure a été effectuée durant **12<sup>ème</sup> jour**, tandis que dans le groupe traité par la crème d'Hebermine, cette-ci n'ait atteint qu'au **16<sup>ème</sup> jour** et dans le groupe non traité au **18<sup>ème</sup> jour** (voir figures n° 43, 44 et annexe C).

#### 4.2.5.1. Etude histopathologique des groupes traités après cicatrisation des brûlures

À travers l'observation microscopique des coupes histologiques des tissus étudiés, nous avons constaté les points suivants (voir figure n° 45)

- Dans le groupe non traité, il y a présence d'agrégats des cellules inflammatoires (**AG**), ce qui indique que le processus de guérissent est lent, et la régénération des cellules épithéliales (épiderme et le derme) est incomplète et inorganisée, ainsi que la présence des zones d'échecs de production du collagène (↙), avec le début de formation du tissu granuleux (↘).
- Par contre, pour les groupes traités par la propolis, et la crème d'Hebermine, nous avons remarqué un remodelage des fibres de collagène et la réépithélialisation complète au maximum de lésion (pour la propolis), et la présence des zones d'échecs de production du collagène faible par rapport au témoin non traité (pour l'Hebermine). La présence du tissu granuleux de façon clair indique que les brûlures sont totalement fermées et guéries.



**Figure n° 45** : observations microscopiques des coupes histologiques des groupes étudiés (grossissement X 100) (Debab, 2019)

Légende :

**a** : groupe traité par l'extrait de propolis de la station de Ain Trid.

**b** : groupe traité par la crème d'Hebermine.

**c** : groupe non traité.

**E** : l'épiderme, **D** : le derme, **AG** : agrégats de cellules inflammatoires

↙ : zone d'échec de production de collagène, ↘ : tissu granuleux

Les résultats obtenus ont montré que l'utilisation de la pommade à base de propolis pour traiter les brûlures au deuxième degré chez les rats, était meilleure que celle de la crème commerciale à base de sulfadiazine argentique, la différence apparaissant clairement du 14<sup>ème</sup> au 17<sup>ème</sup> jour.

Dans des études expérimentales menées sur un modèle animal par (Kurek et *al.*, 2013), il a été montré que les extraits de propolis incorporés dans divers émulsifiants (gels, pommades) présentent un grand potentiel thérapeutique dans les brûlures au troisième degré. Les préparations étaient plus efficaces thérapeutiquement que la sulfadiazine argentique (Kurek et *al.*, 2013). Une étude appliquée sur le traitement des brûlures mineures chez les patients a prouvé que l'utilisation du crème à base de propolis pour la peau peut être une alternative viable et souhaitable à l'utilisation du sulfadiazine argentique (Gregory et *al.*, 2002).

La cicatrisation est un processus complexe et continu, de réparation des tissus qui commence immédiatement après une blessure. Le processus physiologique consiste en une série d'étapes en cascade mais, se chevauchant qui peuvent être divisées en quatre phases principales (Adewumi et Ogunjinmi, 2011) : L'hémostase, l'inflammation, la prolifération cellulaire et le remodelage tissulaire, impliquant tous un certain nombre de processus cellulaires et moléculaires. Ce phénomène comprend la migration et la prolifération des cellules épidermiques et des kératinocytes, adhérence des fibroblastes et contraction de la matrice extracellulaire (Martinotti et Ranzota, 2015).

Les évaluations cliniques et histopathologiques ont confirmé que la propolis accélère ces processus régénératifs et reconstructifs (Olczyk et *al.*, 2013).

Le mode de préparation d'une pommade à base de propolis, pour le traitement des plaies et des brûlures, peut agir sur leur pouvoir cicatriciel : l'étude de l'activité cicatrisante d'une pommade de propolis de la région de Constantine, a montré qu'elle a un faible effet cicatriciel sur les plaies appliquées sur les rats (Segueni, 2011).

En accordant avec nos résultats obtenus, la pommade à base de propolis originaire de Ain Trid peut être préparée traditionnellement pour un usage populaire, selon la méthode de (Krell, 1990).

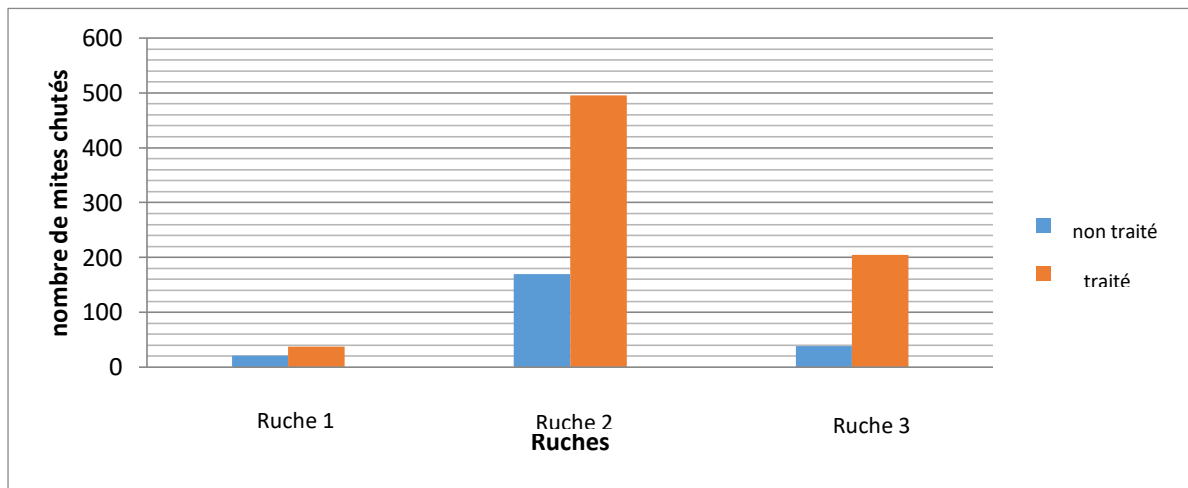
#### 4.2.6. Activité antiparasitaire de la fumée de la propolis brute contre le varroa (effet acaricide)

Il est à signaler d'abord que pour cette activité nous avons utilisé que la propolis de Sidi Dahou appliquée sur ces propres ruches.

Les résultats, de cette étude sont illustrés dans les figures n° 46, 47 et 48.

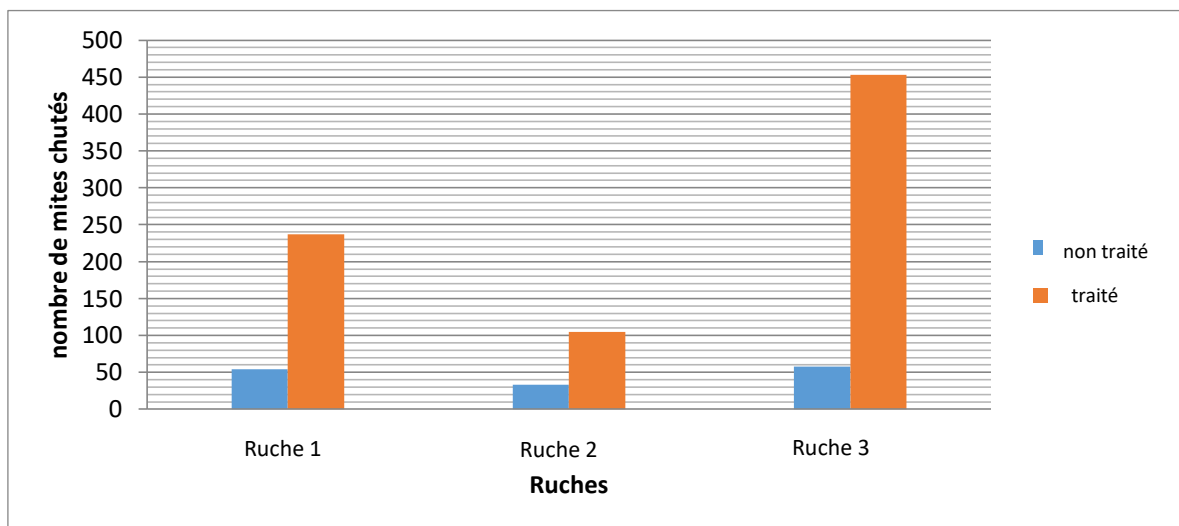
Ils montrent qu'il y a une différence significative ( $p < 0,05$ ) entre nombre des acariens qui sont morts suite à l'application de la fumée de la propolis sujet de notre étude et ceux qui sont tombés ou chutés naturellement c'est-à-dire sans l'application du traitement.

Alors, le nombre moyen des acariens chutés après le traitement avec la fumée de propolis atteint 245,66 individus, et **76,33** individus tombés naturellement (voir figure n° 46).



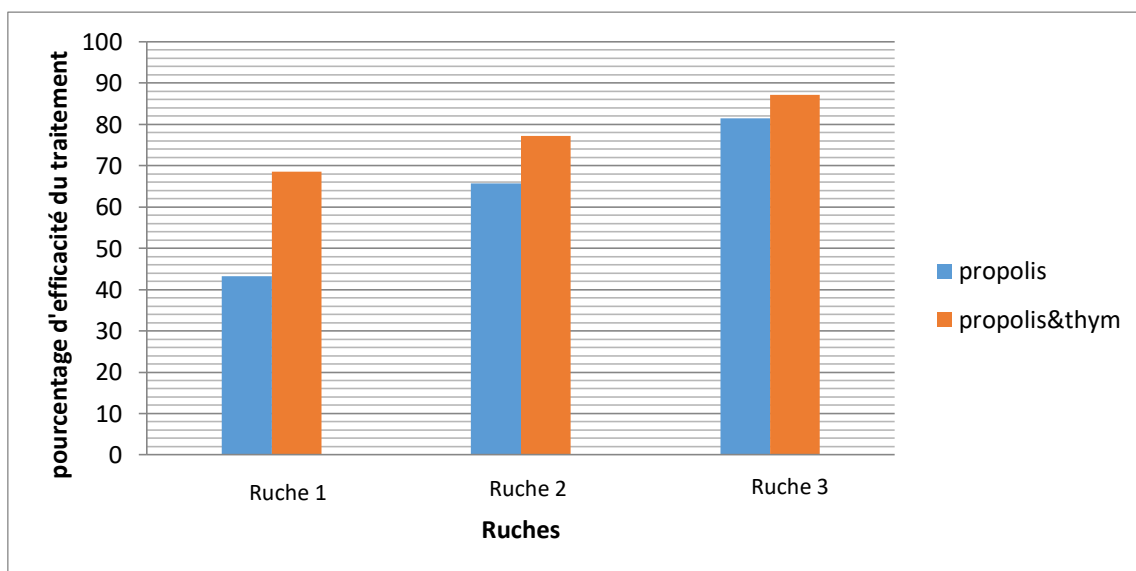
**Figure n° 46** : nombre de varroas chutés dans le groupe traité par la fumée de propolis.

Dans le groupe II, le nombre moyen des varroas chutés après l'application de la fumée du mélange des feuilles du thym et propolis a été estimé à **265** individus, et **48,33** individus tombés naturellement (voir figure n° 47).



**Figure n° 47** : nombre de varroas chutés dans le groupe traité par la fumée de propolis les feuilles du thym (*Thymus sp.*).

En conclusion et en comparant les deux types de traitements (propolis, propolis et feuilles du thym) par application du test statistique **de khi deux**, nous pouvons dire qu'il n'existe pas une différence significative entre le groupe traité par la fumée de propolis et ceux traité par la fumée du mélange des feuilles du thym et propolis. Mais l'efficacité du traitement dans le groupe II est apparue supérieure à celle du groupe I. À titre d'illustration, la moyenne du pourcentage d'efficacité du traitement du groupe I est de **63,45%** et le groupe II est de **77,65%** (voir figure n° 48).



**Figure n° 48** : efficacité du traitement dans les groupes étudiés.

Ainsi, l'investigation du taux du couvain dans chaque colonie étudiée a montré qu'il est proportionnel à l'efficacité du traitement : dans le groupe I, dans la colonie où l'efficacité du traitement atteignait **81,46%**, le taux de couvain est estimé à **50%**. Dans le groupe II : dans la colonie où le pourcentage du couvain a atteint **80%**, l'efficacité du traitement a été estimée à **87,19%**. Comme la montre les figures ci-dessous (voir figure n° 49 et 50).



Figure n° 49 : taux du couvain à 80% (Debab, 2019).



Figure n° 50 : taux du couvain à 50% (Debab, 2019).

Les résultats obtenus lors de l'étude du taux du couvain dans chaque colonie étudiée, et leur relation avec l'efficacité du traitement ont également montré que la fumée de propolis, et le mélange des feuilles du thym et de la propolis ont un effet sur le contrôle du parasite. Parce que le couvain est l'emplacement ciblé pour ce parasite, pour accomplir leur cycle de développement.

De nombreuses études *in vitro* ont montré que le pourcentage d'acariens tués après traitement avec des extraits de propolis variait entre **60,5%** et **90%** après 30 secondes d'exposition. Ainsi, *Varroa destructor* était très sensible à la propolis (Damiani et al., 2010). Une série des essais au laboratoire ont montré que l'exposition directe des acariens contenus dans les boîtes de Pétri à des concentrations relativement faibles des extraits éthanoliques de la propolis, entraînait une mortalité élevée (**100%** au contact de **10%** de l'extrait). De plus, l'exposition à des extraits dans des concentrations aussi faibles que **0,5%** provoquait des effets narcotiques entraînant une réduction de la production de chaleur et des taux métaboliques chez l'acarien (Finston et Spivak, 2010). Des chercheurs ont observé des effets narcotiques et mortels des acariens en fumant des morceaux de gaze utilisés pour recouvrir la surface supérieure des cadres de la ruche qui ont été propolisés. (Garedew et al., 2001 b). (Daher et Alburaki, 2006), dans leurs expériences, ont utilisé la fumée de différentes plantes pour traiter le varroa. Leurs résultats ont montré l'efficacité de l'utilisation de la fumée contre les acariens, en expulsant les parasites de leurs emplacement central sur les corps des abeilles. L'utilisation régulière de la fumée pourrait entrainer ces parasites de déplacer pour apparaître plus tard à partir des cellules du couvain. Leurs résultats ont également démontré que la

durée d'efficacité du thym contre le parasite est supérieure à celle des autres plantes. Parce qu'il est riche en thymol, seul l'huile essentielle, largement utilisée en apiculture, qui présente une forte activité acaricide et qui est bien tolérée par les abeilles (Imdorf et *al.*, 1999). Des études récentes ont montré aussi que le carvarol et le thymol sont parmi les principaux constituants chimiques du *Thymus ssp.* De nombreux rapports font état de l'activité de ces deux composants contre *Varroa destructor* sans risque notable pour l'abeille domestique (Ghasemi et *al.*, 2011).

### 4.3. Résultats de l'analyse pollinique de la propolis

Les résultats obtenus ont montré que sur l'ensemble des 09 échantillons, nous avons enregistré 62 types des taxons polliniques ; par contre le dixième échantillon, représenté par la propolis commerciale, ne renferme aucun grain de pollen (voir tableau n° 05).

Tableau n° 04 : spectre pollinique de la propolis de l'ouest algérien.

Taxon	Mascara1	Sfisef	Telagh	Beni Talla	Oued Taourira	Sidi Dahou	Sidi Ali Ben Youb	Mascara2	Ain Trid
<i>Acacia</i>	1,82	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Achillea</i>	0,09	0	2,41	0	0,5	0	0,7	0,59	0,48
<i>Allium</i>	0,09	0	1,31	0	0,5	0	1,4	8,38	0
<i>Aloe</i>	0	0,26	0	0	0	0	0	0	0
<i>Ammi</i>	0	0	7,45	0	5,25	0	5,63	0	10,32
<i>Arbitus</i>	0	0,26	0	0	0	0	0	0	0
<i>Artemisia</i>	51,34	9,86	6,35	0	0	9,3	2,11	7,78	0
<i>Asparagus</i>	0	0,8	2,63	0	0,5	0	3,52	1,79	0
<i>Asphodelus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,16
<i>Astragalus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,96
<i>Avena</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,16
<i>Brachypodium</i>	0	0	0,56	0	0	0	0	0	0
<i>Calicotome</i>	0	0,53	0	0	0	0	0	0	0
<i>Carex</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,59	0,64
<i>Centaurea</i>	1,05	13,3	14,03	11,26	7,75	16,27	2,11	4,19	32,58
<i>Chamaerops</i>	0	0,26	0,21	0	0	0	1,4	0	1,12
<i>Cirsium</i>	0,09	1,33	3,94	0	1,25	0	1,4	0,59	1,45
<i>Cistus</i>	0,28	0,8	0,43	0	0	0	0	0	0
<i>Citrus</i>	0,38	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>cladium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,48
<i>Daphne</i>	0	0	0,87	0	0	0	0	0	0
<i>Daucus</i>	0,67	3,2	5,48	12,67	5	0	7,04	11,97	3,87
<i>Ephedra</i>	0,09	0	0	0	0,5	2,32	0	0	0,48
<i>Eruca</i>	0	0	0	0	0	0	1,4	0	0,48
<i>Eucalyptus</i>	17,11	11,2	6,35	12,67	17,25	16,27	8,45	8,38	13,22
<i>Foeniculum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,32
<i>Fraxinus</i>	0	0	0	0	0	0	0,7	0	0
<i>Hedera</i>	0,28	1,33	0	0	0	0	0	0,59	0,96

<i>Juniperus</i>	0,28	0,26	0,21	0	0,5	0	0	1,19	0,96
<i>Lathyrus</i>	0	0	0,56	0	0	0	0,7	1,19	0
<i>Lavandula</i>	0,38	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Lotus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,32
<i>Malva</i>	5,86	1,86	2,63	0	0,25	2,3	0,7	1,19	2,74
<i>Marrubium</i>	0,09	0,8	2,41	1,4	0,75	0	2,81	1,19	1,45
<i>Medicago</i>	0	0	7,75	7,04	0,75	2,32	4,22	0	0,8
<i>Olea</i>	8,55	13,1	2,85	12,67	16,5	4,65	9,15	5,38	7,41
<i>Onobrochys</i>	0,38	0	0,21	0	0	0	0	0	0
<i>Origanum</i>	0	0	0	0	0	0	0	0,59	0
<i>Oxalis</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,32
<i>Papaver</i>	0	1,6	1,53	4,22	3	0	2,11	0,59	0
<i>Pinus</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,16
<i>Pistacia</i>	0	1,06	0	0	0	0	0	0	1,93
<i>Pisum</i>	0	2,66	0,43	0	3,75	0	0	0	0
<i>Plantago</i>	0	0	0,21	0	0	0	0	0	0
<i>Poa</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,8
<i>Quercus</i>	0,57	2,4	5,04	5,63	2,75	0	14,78	6,58	1,29
<i>Raphanus</i>	0	0,8	4,16	4,22	0,75	4,65	4,22	2,39	4,51
<i>Rhamnus</i>	0	0	1,09	0	2,75	0	0	0,59	0
<i>Rosmarinus</i>	1,53	1,06	0	0	0	0	0	0	0
<i>Rubus</i>	0	0	0	5,63	2,5	0	5,63	4,79	0
<i>Rununculus</i>	0	0	0,21	0	0	0	0	0,59	0
<i>Salix</i>	0	0	0,87	0	0	0	0	1,19	0
<i>Sinapis</i>	12,85	0,8	2,19	0	1,5	0	3,52	13,17	4,35
<i>Sisymbrium</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,32
<i>Tamarix</i>	0	0	0	1,4	0,25	0	0	0	0
<i>Taraxacum</i>	0	2,13	1,75	1,4	0,75	2,32	0,7	1,19	0
<i>Taxus</i>	0	0	1,09	0	0	0	0	0	0
<i>Tilia</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0,32
<i>Trifolium</i>	0,09	0,26	0	0	0,25	2,32	0	0	2,58
<i>Vicia</i>	0,38	0	1,75	0	1,25	0	0	0,59	0
<i>Vitis</i>	0	0	0	0	0	0	0	1,79	0
<i>Zyziphus</i>	0,38	0	0,43	0	0	0	0,7	0	0

Ainsi, l'étude statistique a classé le spectre pollinique des zones d'étude en 02 classes principales : la 1ère classe regroupe seulement la zone de Mascara 1, et la 2ème classe regroupe les huit autres zones (voir figures n° 51 et 52).

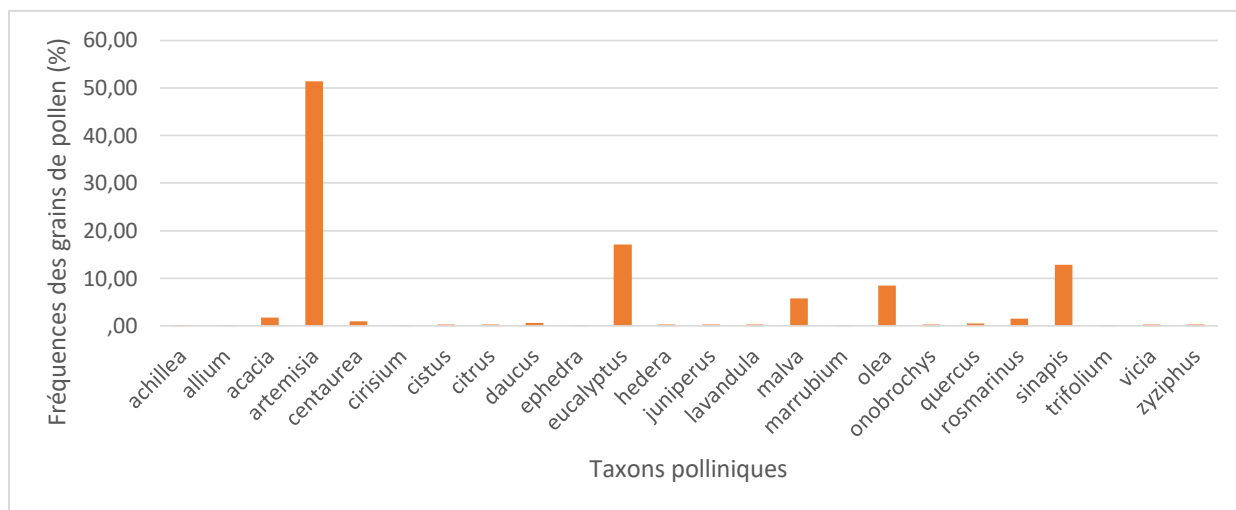


Figure n° 51 : spectre pollinique de la 1ère classe.

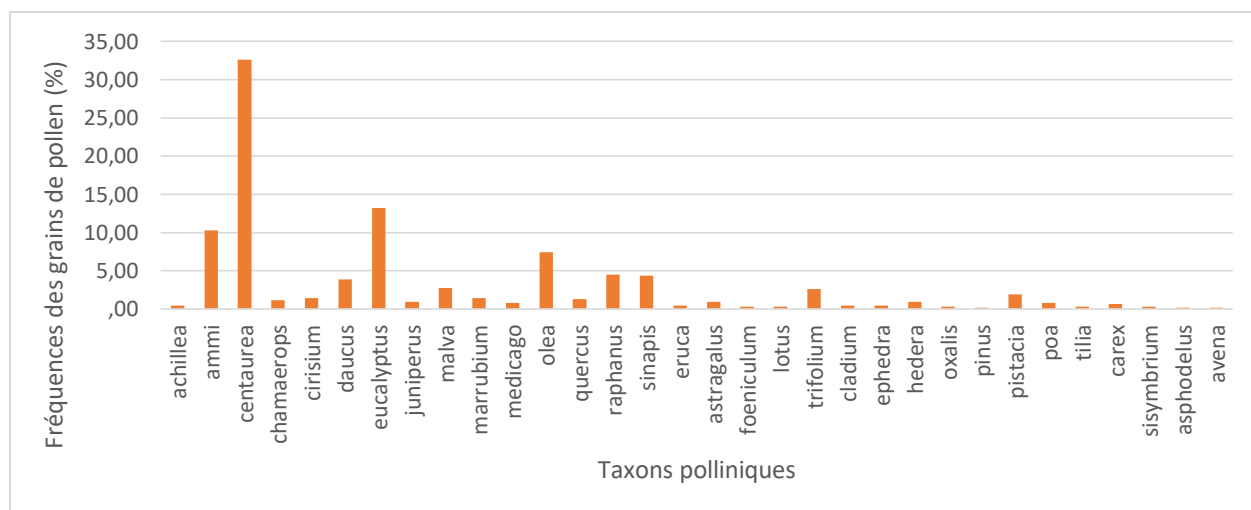
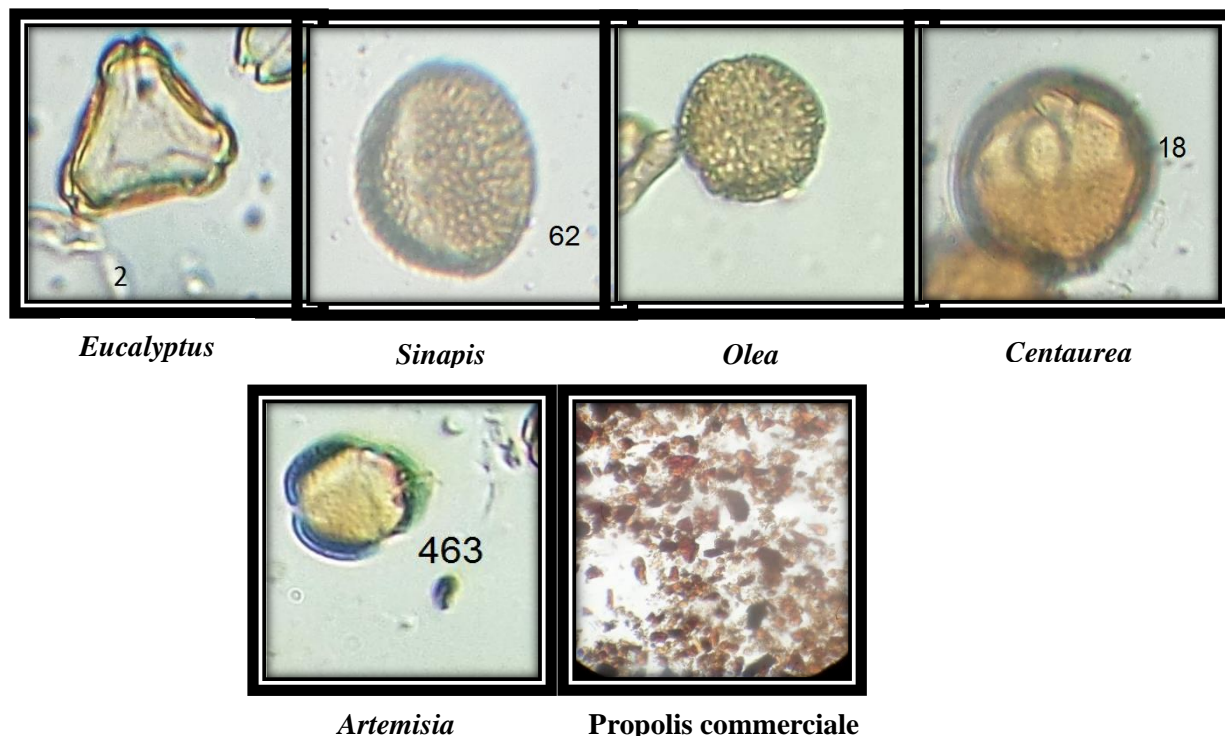


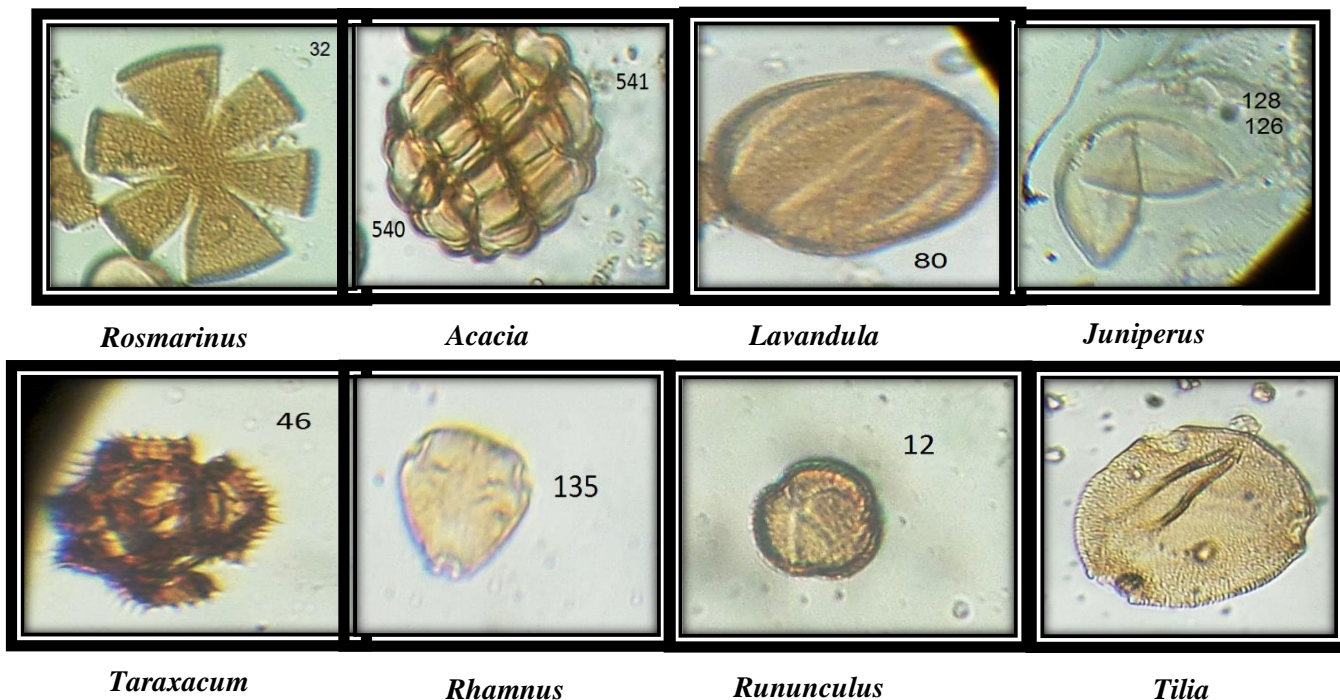
Figure n° 52 : spectre pollinique de la 2ème classe.

Par ailleurs, les grains de pollen dominants dans la 1ère classe sont : *Artemesia* à raison de 51,34%, *Eucalyptus* à raison de 17,11%, *Sinapis* à 12,85% et *Olea* à 8,55%.

Pour la 2ème classe les grains de pollen dominants sont : *Centaurea* à un pourcentage de 12,69%, *Eucalyptus* à raison de 11,72% et *Olea* à 8,96% (voir figures n° 53 et 54).



**Figure n° 53** : observation microscopique des grains de pollen dominants de la propolis de la première et la deuxième classe, et la propolis commerciale (grossissementX200) (Debab, 2019).



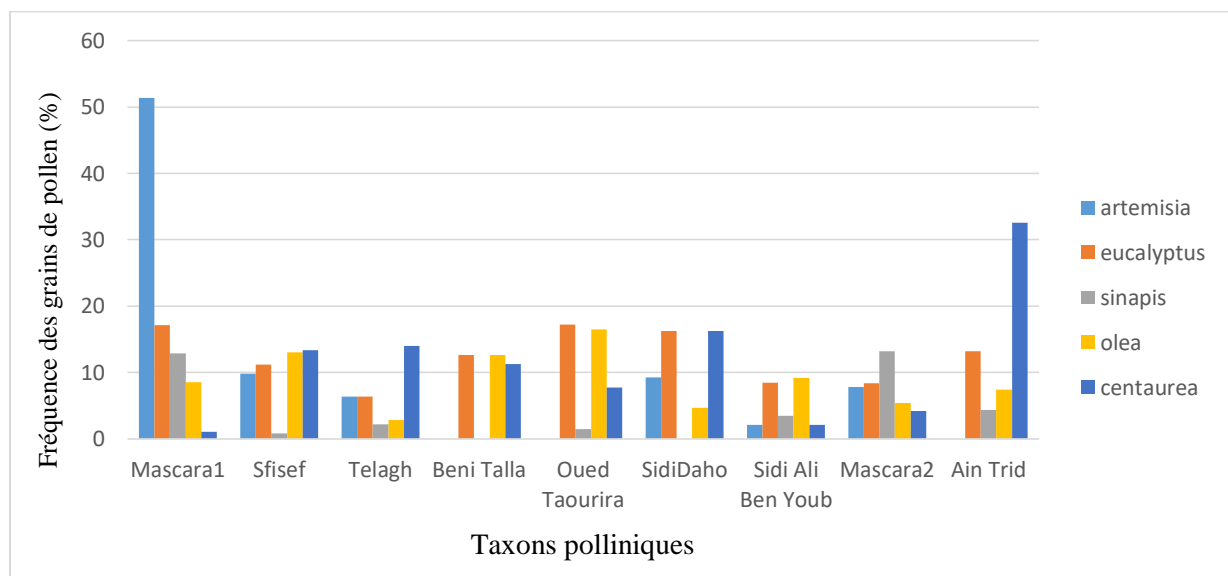
**Figure n° 54** : observation microscopique de quelques grains de pollen dans les échantillons de la propolis étudiés (grossissementX200) (Debab, 2019).

Nous signalons que l'observation microscopique des différents grains de pollen identifiés dans les propolis des différentes provenances géographiques est reportée au niveau de l'annexe D

D'après le tableau n° 04 et la figure n°55, représentant le spectre pollinique de tous les taxons des différentes zones d'étude, les zones de Telagh et Ain Trid sont considérées comme les plus diversifiées en taxons pollinique (33 taxons pour la zone de Telagh, et 32 taxons pour Ain Trid), alors que Beni Talla et Sidi Dahou sont les moins riches en grains de pollen, et moins diversifiées (12 taxons pour la première et 10 taxons pour la deuxième).

**Tableau n° 05** : répartition des taxons polliniques dominants dans les zones d'étude.

Zones	Nombre des taxons	Pourcentage de dominance %	Taxon dominé
Beni Talla	11	12,67	<i>Daucus/ Eucalyptus/Olea</i>
Sidi Ali Ben Youb	24	14,78	<i>Quercus</i>
Telagh	33	14,03	<i>Centaurea</i>
Mascara1	27	51,34	<i>Artemisia</i>
Mascara2	27	13,17	<i>Sinaps</i>
Oued Taourira	25	17,25	<i>Eucalyptus</i>
Ain Trid	30	32,58	<i>Centaurea</i>
Sfisef	25	13,33	<i>Centaurea</i>
Sidi Dahou	10	16,27	<i>Eucalyptus</i>



**Figure n° 55** : spectre pollinique des grains de pollen dominants dans les zones d'étude.

Nous déduisons d'après les résultats obtenus, que les échantillons de propolis étudiés au cours de cette étude, à l'exception de la propolis commerciale, sont riches en grains de pollen et que leurs spectres polliniques sont très diversifiés (répartis sur 62 taxons polliniques).

En se basant sur cette richesse, (Albore, 1979) stipule que le pollen de la propolis est dérivé de la flore environnante. Il entre dans la ruche par différents chemins. Il a proposé des hypothèses concernant la provenance de la propolis et qui sont comme suite:

- La propolis est contaminée sur les plantes par du pollen atmosphérique ;
- Les abeilles en train de récolter la propolis, la polluent avec du pollen collant à leurs corps ;
- La petite boule de propolis être mélangée avec du pollen par les butineuses ;
- Dans la ruche, le pollen récolté par les abeilles peut polluer la propolis (Albore, 1979).

La détermination de l'origine botanique de la propolis repose sur l'identification des pollens, et sur la fixation de la fréquence des différents éléments. Á partir de la fréquence des différents pollens, on peut tirer des conclusions concernant la proportion des sources de nectar de pollen, et de la propolis (Louveaux et *al.*, 1970).

L'intérêt de l'analyse pollinique de la propolis réside dans la détermination des plantes mellifères et donc des zones mellifères, qui sont considérées comme un outil fiable pour l'apiculteur dans le sens d'amélioration de la production et la diversification des sources du miel d'un côté, et d'un autre côté, dans le domaine phytoécologique, l'analyse pollinique aide à déterminer la nature du couvert végétale et les espèces qui se trouvent dans la zone d'étude. L'analyse pollinique de la propolis a confirmé la difficulté de standardiser leur origine botanique. En Algérie, les sources de collecte de la propolis sont principalement les conifères (*Pinus sp*) qui occupent les zones semi arides, le chêne (*Quercus sp*), cyprès (*Cupressus sp*), casuarina, et peuplier (*Populus sp*) (Mouhoubi, 2007).

La préparation de la propolis commerciale passe par différents étapes, telles que : les procédés de lavage et de broyage, permettant d'obtenir la propolis pur et sous forme de poudre, sont deux raisons principales qui causent la destruction des grains de pollen, et donc difficile à déterminer leur origine botanique.

## ❖ Interaction entre l'analyse pollinique et les activités biologiques de la propolis

L'analyse pollinique des échantillons de la propolis provenant de différentes régions de l'ouest algérien a montré qu'ils sont riches et diversifiés en grains de pollen (62 taxons polliniques), ce qui indique la nature du couvert végétale ainsi que les espèces dominantes dans chaque zone d'étude (voir figure n° 56). De la même manière que pour l'étude des propriétés biologiques de la propolis de ces régions, nous avons montré que le potentiel de ces activités dépend la provenance géographique.

Et par conséquent, nous signalons que la richesse, et la dominance en espèces végétales, sont des facteurs clés pour déterminer l'efficacité biologique de la propolis, c'est ainsi que le nombre des taxons polliniques de la propolis du Mascara 1 est de **27**, où le genre *Artemisia* est le plus dominant, avec un pourcentage de **51,34%**, alors que pour la propolis de Ain Trid, le nombre des taxons est évalué à **30**, où le genre *Centaurea* le plus dominant, avec un taux de **32,58%**.

Et pour la région de Telagh, le nombre des taxons est de **33**, avec un taux de dominance de **14,03%** (*Centaurea*). La propolis de Sidi Dahou est moins riche en taxons polliniques (**10**), avec la dominance du genre d'Eucalyptus (**16,27%**).

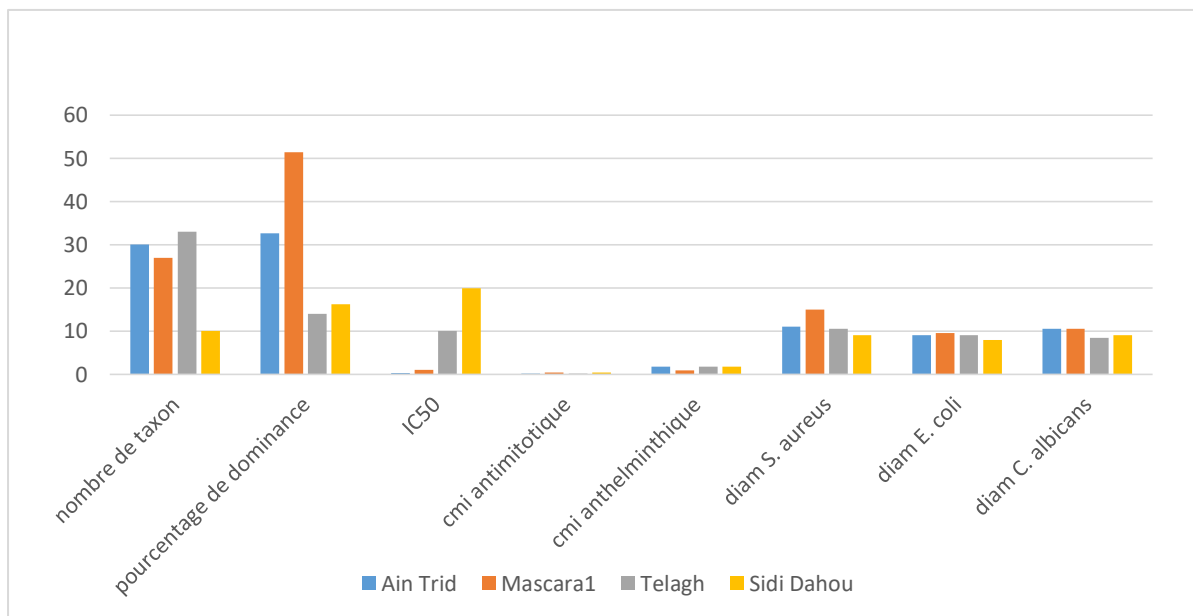
En parallèle, L'étude de l'activité antioxydante des extraits des propolis des zones citées ci-dessus, a confirmé que les extraits de la propolis de Mascara 1 et Ain Trid ont un pouvoir antiradicalaire très important, par leurs valeurs d'IC<sub>50</sub> enregistrées : **0,29 mg/ml** (Ain Trid), et **0,98 mg/ml** (Mascara1). Par contre cette valeur est évaluée à **10 mg/ml** (Telagh), et **19,95 mg/ml** (Sidi Dahou). De même façon pour les activités antimicrobienne, anthelminthique et antimitotique, où les extraits de propolis de Mascara1 et Ain Trid sont plus efficaces que celle des extraits de Telagh et Sidi Dahou (voir figure n° 56).

La richesse en espèces végétales et la dominance ne sont pas les seuls facteurs pour déterminer ce potentiel, mais aussi le cortège des taxons accompagnant les espèces dominantes ; à titre d'exemple, bien que le nombre des taxons dans la région de Telagh est de **30**, où le genre *Centaurea* le plus dominant, mais les fréquences des taxons polliniques qui les accompagnent sont plus faibles, ne dépassent pas **8%**. Tandis que pour la propolis de Mascara1, les fréquences des taxons qui l'accompagnent sont importantes : *Eucalyptus* (**17,11%**), *Olea* (**8,55%**) et *Sinapis* (**12,85%**). Et de même façon pour la propolis de Ain Trid et Sidi Dahou.

(Bankova, 2005 a), a indiqué que l'origine botanique de la propolis détermine sa diversité chimique, et la composition chimique de la colle d'abeille dépend de la spécificité de la flore locale sur le site de collecte et donc des caractéristiques géographiques et climatiques du site étudié.

La variabilité chimique de la propolis présente un problème pour la standardisation. Plusieurs types chimiques de propolis sont formulés en fonction de leur source végétale. Des critères fiables pour la standardisation chimique de différents types de propolis sont nécessaires, mais ces critères généralement acceptés n'existent pas encore.

Par exemple, le profil chimique de la propolis «peuplier», typique de la zone tempérée, peut être caractérisé par les paramètres suivants : teneur totale en flavone et en flavonol, teneur totale en flavanone et en dihydroflavonol et teneur totale en composés phénoliques. Ces paramètres sont mieux corrélés avec l'activité biologique et sont plus informatifs que la quantification des composants individuels. Il reste beaucoup à faire pour parvenir à la standardisation des autres types de propolis. Travailler avec du matériel standardisé permettra aux scientifiques de relier un type particulier de propolis chimique à un type spécifique d'activité biologique et de formuler des recommandations pour les praticiens traditionnels a souligné (Bankova, 2005 b).



**Figure n° 56** : interaction entre l'analyse pollinique et activités biologiques de la propolis.

## ❖ Interaction entre les activités biologiques et les teneurs en composés phénoliques

Afin d'identifier les interactions entre les teneurs en composés phénoliques et les activités biologiques de la propolis, nous avons réalisé l'analyse en composante principale (ACP), en utilisant le logiciel IBM SPSS, version 20 (Ferhoum, 2010).

Le but d'utiliser ce test pour réduire les dimensions des informations traitées (10 variables) à un nombre plus faible de dimensions, ou axes principaux. Comme la représente le tableau n° 06.

**Tableau n° 06** : variables et individus utilisés pour le test de l'ACP

Les variables	Les individus
V1 : teneurs en phénols totaux	I1 : Mascara1
V2 : teneurs en flavonoïdes	I2 : Mascara2
V3 : teneurs en tanins condensés	I3 : Ain Trid
V4 : activité antigerminative (CMI)	I4 : Telagh
V5 : activité d'inhibition de la croissance racinaire (CMI)	I5 : Sidi Dahou
V6 : activité anthelminthique (CMI)	
V7 : activité antioxydante (IC <sub>50</sub> )	
V8 : diamètre de la zone d'inhibition (Staf)	
V9 : diamètre de la zone d'inhibition (E. coli)	
V10 : diamètre de la zone d'inhibition (Candida)	

D'après le tableau ci-contre (voir le tableau n° 07), nous avons constaté que les valeurs des diamètres des zones d'inhibition des souches microbiennes, les valeurs de la CMI de l'activité d'inhibition de la croissance racinaire, ainsi que les valeurs d'IC<sub>50</sub> de l'activité antioxydante, sont plus corrélées avec les teneurs en tanins condensés. Cela expliqué par le fait que l'effet antiradicalaire et antimicrobien sont dues principalement aux tanins, et dans ce cas-là, l'extrait de Mascara2 est un très bon exemple : leur quantité équivalente en tanins condensés est estimée à **27,53 ± 2,78 mg EC /g**, leur IC<sub>50</sub> est de **0,045 mg/ml**, et il a un potentiel antimicrobien très important que celle des autres extraits.

On peut constater que les facteurs de la première composante sont plus corrélés avec « l'origine géographique de la propolis ».

Pour la deuxième composante, les quantités équivalentes en flavonoïdes sont plus corrélées avec les valeurs de la CMI de l'activité antigerminative. Les flavonoïdes sont classés parmi les antioxydants puissants, donc les facteurs de la deuxième composante sont liés avec « l'activité antioxydante de la propolis ».

Les teneurs en phénols totaux sont corrélées négativement avec les valeurs de la CMI de l'activité anthelminthique. Les composés phénoliques présentent une activité anthelminthique très importante (Deore et al., 2009). Donc les facteurs du troisième axe sont associés avec « les composés phénoliques ».

**Tableau n° 07** : corrélation entre les variables et les axes principaux

Variables	Composantes		
	1	2	3
V8	0,955	-0,144	-0,247
V9	0,946	-0,277	0,153
V3	0,828	0,269	0,491
V5	0,752	-0,015	-0,125
V7	-0,737	0,630	-0,098
V10	0,729	-0,537	0,008
V2	0,125	0,920	-0,120
V4	-0,450	0,841	0,294
V1	-0,292	0,202	-0,935
V6	-0,409	0,190	0,892

Donc nous avons constaté que la propolis de l'ouest algérien est caractérisée par leur richesse en composés phénoliques, d'un pouvoir antioxydant très important, ainsi que leurs propriétés biologiques dépendent l'origine géographique.

Nos résultats de l'ACP sont compatibles avec les travaux de (Ferhoum, 2010), où les extraits de propolis des zones de montagne, de plaine et de la steppe, sont caractérisées par leurs pouvoirs antioxydants, et provenances géographiques.

*Conclusion*

*Générale*

## Conclusion générale

---

L'étude que nous avons effectuée rentre dans le contexte de valorisation de l'un des produits de la ruche dans la région de l'ouest algérien.

L'étude phytochimique et l'activité antioxydante des échantillons de la propolis ont montré que l'effet des extraits de la propolis dépend de l'origine géographique et de la méthode d'extraction utilisée, où nous avons démontré que les extraits de Mascara1, Mascara 2 et Ain Trid sont considérés comme les plus puissants. Aussi, nous avons confirmé que les extraits alcoolosolubles ont une activité antioxydante plus importante que les extraits hydrosolubles ; toutefois, les extraits hydrosolubles ont aussi un pouvoir antiradicalaire remarquable, qui apparaît mieux dans les résidus, ce qui met en relief la richesse de la propolis en composés bioactifs.

Les extraits de la propolis étudiés ont montré aussi une efficacité variable contre les souches microbiennes testées, avec, un effet efficace contre *S.aureus*, et *C. albicans*, par contre, *E. Coli* a pu prouver une résistance contre les extraits étudiés. Sauf que, ce potentiel antimicrobien dépend la provenance géographique, où les extraits de Mascara1 et Mascara2 ont un effet important que les autres. Ce pouvoir antimicrobien aide à soulager les problèmes de la résistance des souches microbiennes à des traitements conventionnels, en proposant l'utilisation de la propolis seule ou avec d'autres produits naturels.

L'étude de l'activité antimicrobienne des extraits de la propolis étudié a prouvé qu'ils ont un pouvoir antigerminatif puissant, et inhibiteur de la croissance racinaire des graines de lentilles remarquable, ce qui confirme leur potentiel anticancéreux et antiprolifératif, notamment les extraits alcoolosolubles, ce qui nous incite à proposer notre propolis comme un agent médiateur avec des médicaments anticancéreux pour atténuer l'intensité de cette maladie.

Les extraits de la propolis ont un pouvoir anthelminthique très important, cette efficacité est apparue dans la concentration minimale inhibitrice (CMI), et le temps nécessaire à la mort des vers, qui oscillé entre 90 mn et 300 mn. Ce qui montre l'importance de l'utilisation de la propolis comme un moyen de traitement efficace contre les helminthiases sans aucun risque d'utilisation du fait de leur effet apaisant contre les vers.

L'application de la fumée de la propolis brute sur les vers a montré qu'elle est riche en composés volatiles. L'étude des activités biologiques des huiles essentielles de la propolis, est un champ d'application très important qu'il faut y travailler.

Les changements macroscopiques du corps des vers après leur exposition à la fumée de la propolis brute, ainsi que la période de leur paralysie (800 à 900 heures), ont prouvé leur effet

## *Conclusion générale*

---

anesthésiante. Nous proposons, à cet effet, des études sur les extraits bruts et les huiles essentielles de notre propolis, *in vivo*, permettant de confirmer leur effet anesthésiant.

L'étude de l'activité cicatrisante d'une pommade préparée à base de propolis de la région de Ain Trid a prouvé qu'elle a un potentiel cicatriciel plus important que celui d'une crème commerciale à base de sulfadiazine argentine utilisée, pour le traitement des brûlures au 2<sup>ème</sup> degré. Nous recommandons de faire des études cliniques, à ce propos, pour mieux le valoriser à une échelle industrielle.

Aussi, la fumée de la propolis brute est un moyen préventif pour contrôler le varroa, surtout si on l'utilise en synergie avec d'autres substances naturelles telles que les feuilles du thym. L'utilisation de la propolis comme acaricide pour le traitement du varroa reste un outil très efficace pour les apiculteurs, parce que c'est une substance bio disponible, et qui ne provoque aucun effet secondaire, et diminue, de ce fait, les coûts de traitement de ce ravageur. On peut aussi préparer des produits à base de propolis, hors la fumée, pour traiter le varroa tels que des crèmes et des solutions, pour mieux valoriser la propolis et diversifier les modes d'éradiquer ce fléau.

L'étude de l'analyse pollinique de la propolis de l'ouest algérien a montré une richesse et diversifie en grains de pollen (62 taxons polliniques ont été identifiés), ce qui confirme la relation entre les abeilles et les plantes, ainsi que le rôle que jouent les abeilles dans le maintien de la biodiversité végétale. L'analyse pollinique de la propolis est un outil important pour déterminer leur origine botanique, expliquant de ce fait, la variabilité dans les teneurs en composés phénoliques et les activités biologiques des échantillons de la propolis étudiés.

En parallèle, nous pouvons dire que les potentialités en composés bioactifs ainsi que l'importance de l'activité antioxydante des extraits bruts de la propolis sujet de notre étude, varient selon leur origine et leur provenance géographique.

Pour mieux valoriser les substances actives de notre produit (propolis), l'utilisation de la propolis en synergie avec les produits de l'apithérapie (miel, venin, pollen et gelée royale), et avec les plantes médicinales, reste une nécessité qui peut être confirmée, par des études *in vitro* et *in vivo*.

Contrairement au miel et pollen, qui connaissent une grande popularité, la propolis, et malgré ses propriétés biologiques, elle reste en état de méconnaissance, surtout les meilleurs méthodes d'extraction, et leur utilisation, même par les apiculteurs, ce qui nous pousse à faire une étude ethnoapicole à un spectre plus large, et lever cet état d'ignorance, et d'oubli de ce fameux produit de la ruche, qui reste un produit thérapeutique à part entière et au même degré que le miel et le pollen.

*Références*

*Bibliographiques*

- Adewumi, A. A ; Ogunjinmi, A. A. (2011). The healing potential of honey and propolis lotion on aseptic wounds. *Asian pacific journal of topical biomedicine*, 2011, 55 – 57.
- Agricultural and food engineering technical report. (2006). honey bee diseases and pests: a practical guide (Report N°4). FAO, Italy.
- Ahnagari, Z ; Naseri, M ; Vatandoost, F. (2018). Propolis : chemical composition and its applications in Endodontics. *Iranian Endodontic Journal*, 13 (3), 285 – 292.
- Ahuja, V ; Ahuja, A. (2011). Apitherapy – a sweet approach to dental diseases. Part II : propolis. *J. Academy Adv Dental Research*, 2 (2), 1 – 8.
- Ait Mouse, H ; Tilaoui, M ; Jaafari, A ; Ait M'barek, L ; Aboufatima, R ; Chart, A ; Zyad, A. (2012). Evaluation of the in vitro and in vivo anticancer properties of Moroccan propolis extracts. *Brazilian journal of pharmacognosy*, 22 (33), 558 – 567.
- Al Hamidi, N. A. (2017). Etude du pollen de quelques espèces allergisantes de la région de Tlemcen. Thèse de doctorat. Université Aboubakr Belkaid, Tlemcen.
- Albore, G. R ; Bernardini, M. B. (1978). Origine géographique de la gelée royale, 9 (1), 1 – 7.
- Albore, G. L (1979). L'origine géographique de la propolis. *Apidologie*, 10 (3), 241 – 267.
- Ammar, I; Bardaa, S; Mzid, M; Sahnoun, Z; Rebaïi, T; Attia, H; Ennouri, M. (2015). Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. *Ijbiomac*, 81 (2015), 483 – 490.
- Aswar, M ; Aswar, U ; Watkar, B ; Vyas, M ; Wagh, A ; Gujar, K. N. (2008). Anthelmintic activity of *Ficus benghalensis*. *International Journal of Green pharmacy*, 2(3), 170 – 172.
- Ballot, F. C. (2009). Miels et gelée royale : leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie*, 7, 87 – 90.
- Ballot, F. C. (2010). *Les bienfaits de l'apithérapie*. Edition eyrolles, Paris.
- Bankova, V ; Christov, R ; Popov, S ; Pureb, O ; Bocari, G. (1993). Volatile constituents of propolis. *Z. Naturforsch*, 49 (1994), 6 – 10.

- Bankova, V. (2005 a). Recent trends and important developments in propolis research. *E CAM*, 2 (1), 29 – 32.
- Bankova, V. (2005 b). Chemical diversity of propolis and the problem of standardization. *Journal of ethnopharmacology*, 100 (2005), 114 – 117.
- Bankova, V ; Popova, M ; Trusheva, B. (2014). Propolis volatile compounds chemical diversity and biological activity : a review. *Chemistry central Journal*, 8 (28), 1 – 8.
- Banskota, A. H ; Tezuka, Y ; Kadota, S. (2001). Recent progress in pharmacological research of propolis. *phytotherapy research*, 15 (2001), 561 – 571.
- Barra, G. V ; Castro, C ; Figueroa, C ; Barriga, A ; Silva, X ; Heras, B. D ; Hortelano, S ; Deiporte, C. (2015). Antiinflammatory activity and phenolic profile of propolis from two locations in region Metropolitana de Santiago Chile. *Journal of ethnopharmacology*, 168 (2015), 37 – 44.
- Barroso, P. R ; Rocha, R. L ; Pereira, E. M. F ; Marinho, S. A ; De miranda, L. J ; Lima, N. L ; Verli, F. D. (2011). Effect of propolis on mast cells in wound healing. *Inflammo pharmacol*, 20 (2012), 289 – 294.
- Barth, O. M. (1998). Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana*, 37, 97 – 101.
- Belfar, M. L; Lanez, T; Rebiai, A; Ghiaba, Z. (2015). Evaluation of Antioxidant Capacity of Propolis Collected in Various Areas of Algeria Using Electrochemical Techniques. *Int. J. Electrochem. Sci*, 10 (2015), 9641 – 9651.
- Benhanifia, M ; Wessam, M. M ; Bellik, Y ; Benbarek, H. (2013). Antimicrobial and antioxidant activities of different propolis from North Western Algeria. *Food science and technology*, 48, 2521 – 2527.
- Berri, Y. (2011). Etude des activités inflammatoire, analgésique, toxiques et antioxydants des extraits de *Thapsia garganica*. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaia.
- Biri, M. (2003). *Le grand livre des abeilles – cours d’apiculture moderne*. Edition De Vecchis, Paris.
- Bogdanov, S. (2004). Beeswax : quality issues today. *Bee world*, 85 (3), 46 – 50.

- Bonnaillie, C ; Salacs, M ; Vassiliova, E ; Saykova, I. (2012). Etude de l'extraction de composés phénoliques à partir de pellicules d'arachide (*Arachis hypogaea* L.). Revue de génie industriel, 7, 35 – 45.
- Boudjouref, M. (2011). Etude de l'activité antioxydant et antimicrobienne d'extraits *d'Artemisia campestris* L. Thèse de magister. Université Ferhat Abbés, Sétif.
- Boufadi, Y. M ; Soubhye, J ; Riazi, A ; Rousseau, A ; Vanhaeverbeek, M ; Nève, J ; Boudjeltia, K. Z ; Antwerpen, P. V. (2014). Characterization and Antioxidant Properties of Six Algerian Propolis Extracts: Ethyl Acetate Extracts Inhibit Myeloperoxidase Activity. Int. J. Mol. Sci, 15 (2014), 2327-2345.
- Bournique, C. P (1970). Activité antimittotique d'une série de dérivés organophosphorés de l'éthylène – imène sur le méristème radicaire de l'Ail (test *Allium*). Bulletin de la société botanique de France, 117 (2), 155 – 166.
- Bradbear, N. (2005). Apiculture et Moyens d'existence durable. Organisation des nations unie pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Rome.
- Bradbear, N. (2011). Le rôle des abeilles dans le développement rural, Manuel sur la récolte, la transformation et la commercialisation des produits et services dérivés des abeilles. Organisation des nations unie pour l'alimentation et l'agriculture (FAO), Rome.
- Bruneau, E ; Barbançon, J. M ; Bonnaflé, P ; Clément, H ; Domerego, R ; Fert, G ; Leconte, Y ; Ratia, G ; Reeb, C ; Vaissière, B. (2003). Le traité Rustica de l'Apiculture. Edition Rustica, Paris.
- Bruneau, E. (2015). La propolis un cadeau de la ruche. Actu Api, 2 (66), 1 – 8.
- Buchta, A. N ; Buchta, P ; Kowaska, E. T. B ; Dragon, K. W ; Baron, S. (2014). Myorelax effect of Bee venom topical skin application in patients with RDC/TMD I and RDC/TMD IBA randomised, double blinded study. Biomed research international, 2014, 1 – 9.
- Castaldo, S ; Capasso, F. (2002). Propolis, an old remedy used in modern medicine. Fitoterapia, 73, S1 – S6.

- Cherbuliez, T. M. D. (2013). Apitherapy the use of honeybee products in Biotherapy. History, principles and practice. Springer, Dordrecht.
- Choi, Y. M ; Noh, D. O ; Cho, S. Y ; Suh, H. J ; King. K. M ; Kim, J. M. (2005). Antioxidant and antimicrobial activities of propolis from several regions of Korea. Swiss society of food and technology, 39 (2006), 756 – 761.
- Clément, H ; Chesnais, F. (2009). L'abeille sentinelle de l'environnement. Edition Alternative, Paris.
- Cunha, I. B. D ; Rodrigues, M. R. T ; Meurer, E. C ; Bankova, V. S ; Marcucci, M. C ; Eberlin, M. N ; Sawaya, A. C. H. F. (2006). Effect of the maceration time on chemical composition of extracts of Brazilian propolis. Journal of apicultural research, 45 (3), 137 – 144.
- Daher, H. N; Alburaki, A. (2006). Control of *Varroa jacobsoni* Oud. By fumigation with natural plant substances. Arab J.Pl.Prot, 24, 93 – 97.
- Damiani, N ; Gende,L, B ; Maggi, M.D ; Palacios, S ; Maracangeli, A ; Eguaros, M.J. (2010). Repellent and acaricidal effects of botanical extracts on *Varroa destructor*. Parasitol Res, 108, 79 – 86.
- Darwish, R. M ; Abu Fares, R. J ; Abu Zarga, M ; Nazer, I. K. (2010). Antibacterial effect of Jordanian propolis and isolated flavonoids against human pathogenic bacteria. African journal of biotechnology, 9 (36), 5966 – 5974.
- Deore, S. L ; Khadabadi, S. S ; Kamdi, K. S ; Ingel, V. P ; Kawalkar, N. G ; Sawarkar, P. S ; Patil, U. A ; Vyas, A. J. (2009). In vitro Anthelmintic activity of *Cassia tora*. International journal of Chem Tech research, 1 (2), 177 – 179.
- Derevici, A ; Popesco, A ; Popesco, N. (1964). Recherche sur certaines propriétés biologiques de la propolis. Ann. Abeille, 7 (3), 191 – 200.
- Deysson, G. (1961). Les effets des composés chimiques antimitotiques sur la cellule végétale : leur intérêt pour la physiopathologie des mitoses. Chemotherapia, 2, 138 – 162.

- El Masoudi, H. K ; Al Khafaji, M. S ; Hindi, N. K. K. (2015). Antiparasitic activity of propolis against *Entamoeba gingivalis* Trophozoites isolated from patient with perodontitis ; an in vitro stud, Babylon province, Iraq. Best : International journal of humanities, Arts, Medicine and sciences, 3 (5), 15 – 22.
- Elbaz, N. M ; Khali, I. A ; Abd Raboo, A. A ; El Sherbiny, I. M. (2016). Chitosan based nano in microparticle carriers for enhanced oral delivery and anticancer activity of propolis. Int J Biomacromol, 92, 254 – 269.
- Eroglu, E. H ; Ozkul, Y. Tatlisén, A ; Siliu, S. (2008). Anticarcenogenic and antimitotic effects of Turkish propolis and mitomycin – cor tissue cultures of bladder cancer. Nat Pro Res, 22 (12), 1060 – 1066.
- Erum, I ; Kamariah, A ; Lim, L. B. I. (2015). Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy shaw) from Brunei Darussalam. Journal of King Saud university – Science, 2015, 1 – 9.
- Fasla, B. (2009). Evaluation du potentiel antimitotique et génotoxique de plantes médicinales et analyse phytochimique. Thèse de magister. Université d’Oran Es Sénia, Oran.
- Fayet, A. (2015). Le groupement de producteurs de gelée royale. Abeilles et C<sup>ie</sup> , 168, 14 – 16.
- Feás, X ; Pacheco, L ; Iglesias, A ; Estevinho, L. M. (2014). Use of propolis in the sanitization of lettuce. International journal of molecular sciences, 15, 12243 – 12257.
- Ferhoum, F. (2010). Analyse physico chimique de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d’abeilles locales (*Apis mellifica intermissa*, et *Apis mellifica sahariensis*). Thèse de magister. Université M’Hamed Bougara, Boumerdès.
- Finstorm, M. S ; Spivak, M. (2010). Propolis and bee health : the natural history and significance of resin used by honeybees. Apidologie, 41, 295 – 311.

- Fontana, J. M ; Adelman, J ; Passos, M ; Maraschin, M ; de Lacerda, C. A ; Lanças, F. M. (2004). Propolis chemical micro - heterogeneity and bioactivity. In environmental microbiology : Methods and protocols. Springer, USA.
- Freitas, S. F ; Shinohara, L ; Sforcin, J. M ; Guimaraes, S. (2006). In vitro effects of propolis on *Giardia duodenalis* trophozoites. *Phytomedicine*, 13 (3), 170 – 175.
- Fronty, A. (1984). L'apiculture aujourd'hui. Edition DARGAUD, Paris.
- Gadbin, C. (1979). Intérêt de l'acétylolyse en méliisspalynologie. *Apidologie*, 10 (1), 23 – 28.
- Garedew, A; Lamprecht, I; Schmolz, E; Schricker, E. (2001a). The varroacidal action of propolis: a laboratory assay. *Apidologie*, 33, 41 – 50.
- Garedew, A; Schmolz, E; Schricker, B; Lamprecht, I. (2001 b). Microcalorimetric investigation of the action of propolis on *Varroa destructor* mites. *Thermochimica Acta*, 382, 211 – 220.
- Garoui, E; Troudi, A; Fetoui, H; Soudani, N; Boudawara, T; Zeghal, N. (2011). Propolis attenuates cobalt induced-nephrotoxicity in adult rats and their progeny. *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64 (2012), 837 – 846.
- Gharbi, M. (2011). Les produits de la ruche : Origines - Fonctions naturelles – Composition Propriétés thérapeutiques Apithérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de doctorat. Université de Claude Bernard, Lyon I.
- Ghasemi, V; Moharramipour, S; Tahmasbi, G. (2011). Biological Activity of some plant essential oils against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), an ectoparasitic mite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Exp App Acarol*, 55, 147 – 154.
- Ghedira, K ; Goetz, P ; Lejeune, R. (2009). Propolis. *Phytothérapie*, 7, 100 – 105.
- Ghisalberti, E. L. (1979). Propolis a review. *Bee World*, 60 (2), 59 – 84.
- Goetz, P. (2009).le miel comme traitement local désinfectant et cicatrisant des plaies. *Phytothérapie*, 7, 91 – 93.

- Gonnet, M. (1968). Propriétés phytoinhibitrices de la colonie d'abeilles (*Apis mellifica* L.). *Ann. Abeille*, 11 (2), 105 – 116.
- Goût, J ; Jardel, C. (2008). 250 réponses aux questions d'un ami des abeilles. La compagnie des éditions, Lesse.
- Gregory, S. R; Piccolo, N; Piccolo, M. T; Piccolo, M. S; Hegggers, J. P. (2002). Comparison of Propolis Skin Cream to Silver Sulfadiazine: A Naturopathic Alternative to Antibiotics in Treatment of Minor Burns. *The Journal of alternative and complementary medicine*, 8 (1), 77 – 83.
- Gülçin, I ; Bursal, E ; Sehitog˘lu, M. H ; Bilsel, M ; Goren, A. C. (2010). Polyphenol contents and antioxidant activity of lyophilized aqueous extract of propolis from Erzurum, Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48 (2010), 2227 – 2238.
- Gupta, R. K; Reybroeck, W; Van Veen, J. W; Gupta, A. (2014). Beekeeping for poverty alleviation and livelihood security: vol1: Technological aspects of beekeeping. Springer, Dordrecht, Holland.
- Hashemi, S. A; Madani, S. A; Abediankenari, S. (2015). The Review on Properties of Aloe Vera in Healing of Cutaneous Wounds. *BioMed Research International*, 2015, 1 – 6.
- Hellner, M ; Winter, D ; Von Georgi, R ; Niinstedt, K. (2008). Apitherapy : usage and experience in German beekeepers. *E CAM*, 5 (4), 475 – 479.
- Higashi, K. O ; De Castro, S. L. (1994). Propolis extracts are effective against *Trypanosoma cruzi* and have impact on its interaction with host cells. *J Ethnopharmacol.* 43 (2) : 149 – 155.
- Hilmi, M ; Bradbear, N ; Mejia, D. (2011). Beekeeping and sustainable livelihoods. Food and agriculture organization of the united nations, Rome.
- Huang, S ; Zhang, C. P ; Li, G. Q ;Sun Y. Y ; Wang, K ; Hu, F. L. (2014). Identification of catechol as a new marker for detecting propolis adulteration. *Molecules*, 19 ,10208 – 10217.

- Imdorf, A; Bogdanov, S; Ochoa, R.I; Calderone, N.W. (1999). Use of essential oils for the control of *Varroa jacobsoni* Oud. In honeybee colonies. *Apidologie*, 30, 209 – 228.
- Imdorf, A; Bogdanov, S; Kilchenmann, V; Maquelin, C. (2015). Apilife Var: A new varroacide with thymol as the main ingredient. *Bee world*, 76, 77 – 83.
- Janssens, G ; Bruneau, E ; Lebrun, P. (2006). Préviation des potentialités de production du miel à l'échelle d'un rucher au moyen d'un système d'information géographique. *Apidologie*, 37, 351-365.
- Jasprica, I ; Bojic, M ; Morwar, A ; Besic, E ; Bucan, K ; Saric, M. M. (2007). Evaluation of antioxidative activity of Croatian propolis samples using DPPH and ABTS<sup>·+</sup> stable free radical assays. *Molecules*, 12, 1006 – 1021.
- Jin, Z. M ; Liu X S ; Shi, W. (1994). L'abeille mellifère et la santé de l'homme. *La Belgique apicole*, 1994 : 109 – 113.
- Kamazawa, S; Nakamura, J; Murase, M; Miyagawa, M; Ahn, M. R; Fukumoto, S. (2008). Planr origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95, 781 – 786.
- Kholkhal, F. (2014). Etude Phytochimique et Activité Antioxydante des extraits des composés phénoliques de *Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp euciliatus*. Thèse de doctorat. Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen.
- Komosinska, K ; Olczyk, V. P ; Czack, V. O ; Mencner, L ; Olczyk, K. (2015). Bee pollen chemical composition and therapeutic application. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1 – 6.
- Koudhi, B ; Zmantar, T ; Bakhrouf, A. (2010). Anticarcinogenic and anti biofilms activity of Tunisian propolis extract and its potential protective against cancer cells proliferation. *Anaerobe*, 16 (2010), 566 – 571.

- Krell, R. (1990). Value-Added Products from Beekeeping. FAO Agricultural Services Bulletin N° 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome.
- Kurek, G. A; Stojko, A. R; Górecki, M; Stojko, J; Sosada, M; Zieba, S. G. (2013). Structure and Antioxidant Activity of Polyphenols Derived from Propolis. *Molecules*, 19 (2014), 78 – 101.
- Kuropatnicki, A. K ; Szliszka, E ; Krol, W. (2013). Historical aspects of propolis research in modern times. *Evidence based complementary and alternative medicine*, 2013, 1 – 11.
- Laguerre, M ; Lopez, L. J ; Lecomte, G. J ; Pina, M ; Villeneuve, P. (2007). Outils d'évaluation in vitro de la capacité antioxydant. *Fondamental*, 14 (5), 278 – 292.
- Lateef, M ; Iqbal, Z ; Khan, M. N ; Akhtar, M. S ; Jabbar, A. (2003). Anthelmintic activity of *Adhatoda vesica* roots. *International journal of agriculture and biology*, 5 (1), 86 – 90.
- Lavie, P. (1960 a). Les substances antibactériennes dans la colonie d'abeilles (*Apis mellifica* L.). *Ann. Abeille*, 3 (2), 103 – 182.
- Lavie, P. (1960 b). Les substances antibactériennes dans la colonie des abeilles (*Apis mellifica* L.) (fin). *Ann. Abeille*, 3 (3), 201 – 299.
- Lokossou, S. C ; Yédomonkan, H ; Tossou, G. M ; Tchobo, F. P. (2017). Utilisations thérapeutiques du miel par les populations locales du Bénin. *Phytothérapie*, 15, 339 – 345.
- Louveaux, J. (1958). Recherche sur la récolte du pollen par les abeilles (*Apis mellifica*). *Annale des abeilles*, 111, 113 - 188.
- Louveaux, J ; Maurizio, A ; Vorwohl, G. (1970). Commission internationale de botanique apicole de l'U.I.S.B les méthodes de la mélisso – palynologie. *Apidologie*, 1 (2), 211 – 227.
- Mackowiak, C. (2009). Le déclin de l'abeille domestique *Apis Mellifera* en France. Thèse de Doctorat, université Henri Poincare – Nancy1, France.
- Marcucci, M. C. (1994). Propolis chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie*, 26 (1995), 83 – 99.

- Martinotti, S ; Ranzota, E. (2015). Propolis anew frontier for wound healing. *Burns and trauma*, 3 (9), 1 – 7.
- Mateescu, B. C. (2013). Propolis A medicine. Institut for Apicultural research and development Bucharest, Romania. Apimondia scientific commission of Apitherapy, Louvain.
- Mbayo, M. K ; Kalonda, E. M ; Muya, R. K ; Tshisand, P. T ; Kanangilla, A. B ; Maseho, F. M ; Kihuya, E. N ; Bakari, S. A ; Kahumba, J. B ; Lumbu, J. B. S. (2016). Test d'activité antimittotique et étude chimique préliminaire de quelques Euphorbiaceae du Katanya méridional (RDC). *Phytothérapie*, DOI : 10.1007/S10298 – 016 – 1060 – 5 : 1 – 13.
- McLennan, S. V ; Bonner, J ; Milne, S. L. Charlton, A ; Kurup, S ; Jia, J ; Yue, D. K ; Twigg, S. M. (2008). The antiinflammatory agent propolis improves wound healing in a rodent model of experimental diabetes. *Wound repair and regeneration*, 16 (2008), 706 – 713.
- Mekhoukhe, A. (2008). Etude de certaines activités biologiques des composés phénoliques extraits de cinq plantes médicinales de la région de Bejaia. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaia.
- Midorikawa, K ; Banskota, A. H ; Tezuka, Y ; Nagoaka, T ; Matsushige, K ; Huertas, D. M. A. A. G ; Kadota, S. (2001). Liquid chromatography - Mass spectrometry analysis of propolis. *phytochemical analysis*, 12, 366 – 373.
- Miguel, M ; Doughmi, O ; Aazza, S ; Antunes, D ; Lyoussi, B. (2014). Antioxidant, Anti-inflammatory and Acetylcholinesterase Inhibitory Activities of Propolis from Different Regions of Morocco. *Food Sci. Biotechnol*, 23 (1), 313 – 322.
- Mihai, C. M ; Marghitas, L. A. L ; Dezmirean, D. S ; Chirila, F ; Moritz, R. F. A ; Schluns, H. (2012). Interactions among flavonoids of propolis affect antibacterial activity against the honeybee pathogen *paenibacillus larvae*. *Journal of invertebrate pathology*, 110 (2012), 68 – 72.
- Mouhoubi, Z. (2007). Influence de la température de conservation sur la qualité du miel : effet sur le pouvoir antioxydant. Thèse de magister. Université Abderrahmane Mira, Bejaia.

- Nair, S. (2014). Identification des plantes mellifères et analyses physicochimiques des miels Algériens. Thèse de doctorat. Université d'Oran, Oran.
- Nedji, N; Loucif, A. W. (2014). Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pacific Journal of Tropical Disease*, 4 (6), 433-437.
- Nicolay, J. (2014). Perspectives d'avenir en Apithérapie à l'office. Thèse de doctorat. Université Angers, France.
- Oktar, A. (1994). Le miracle de l'abeille. Edition global, Istanbul.
- Olczyk, P; Komosinska, V. K; Winsz, S. K; Stojko, J; Klimek, K; Kozma, E. M. (2013). Propolis Induces Chondroitin/Dermatan Sulphate and Hyaluronic Acid Accumulation in the Skin of Burned Wound. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 1 – 8.
- Ongoka P. R ; Diatwa, M ; Ampa, R ; Ekouya, A ; Ouamba, J. M ; Abena, A. A. (2012).evaluation in vitro de l'activité anthelminthique des plantes utilisées au Congo Brazzaville dans traitement des maladies parasitaires. *Annales de l'université Marien Ngoubai*, 12 – 13 (4), 101 – 107.
- Ota, C ; Unterkriher, C ; Fantinato, V ; Shimizu, M. T. (2000). Antifungal activity of propolis on different species of *Candida*. *Mycoses*, 44 (2001), 375 – 378.
- Ozcan, M ; Unver, A ; Ceylan, D. A ; Yetizir, R. (2004). Inhibitory effect of pollen and propolis extracts. *Nahrung/Food*, 48 (3), 188 – 194.
- Paska, M. (2014). The rooftop beekeeper : A scrappy guide to keeping urban honeybees. Edition Chornicle Books LLS, San Fransisco, California, USA.
- Pessolato, A. G. T; Martins, D. D. S; Ambro´sio, C. E; Furlanetto, C. M; de Carvalho, A. F. (2011). Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. *Burns*, 37 (2011), 1192 – 1201.
- Philippe, J. M. (2006). Le guide de l'apiculteur. Edition Edisud, le clade, France.

- Probst, I. S ; Sforcin, J. M ; Rall, V. L. M ; Fernandes, A. A. H ; Fernandes, J. A. (2011). Antimicrobial activity of propolis and essential oils and synergism between these natural products. *Journal of venomous animals and toxins including Tropical diseases*, 7 (2), 159 – 167.
- Prost, P.J. (1987). *Apiculture connaître l'abeille conduire le rucher*. Edition Lavoisier, Paris.
- Puker, A ; Abot, A. R ; Matias, R ; Rodrigues, S. R ; Pinto, A. M. (2010). Propolis produced by Africanized honeybees in the Cerrado – Pantanal ecotone : effects of seasonality in production and physico – chemical characteristics. *Sociobiology*, 56 (1), 149 – 162.
- Ramanuskienė, K ; Inkėnienė, A. M ; Petrikaitė, V ; Briedis, V. (2013). Total phenolic content and antimicrobial activity of different Lithuanian propolis solutions. *Evidence Based and alternative medicine*, 2013, 1 – 5.
- Righi, A. A ; Negri, G ; Salatino, A. (2013). Comparative chemistry from eight Brazilian localities. *Evidence based complementary and alternative medicine*, 2013, 1 – 14.
- Rios, N ; Yanez, C ; Rojas, L ; Mora, F ; Usubillaga, A ; Vit, P. (2014). Chemical composition of essential oil of *Apis Mellifera* propolis from Falcon state, Venezuela. *Emir.J.Food.Agric*, 26 (7), 639 – 642.
- Rocha, B. A ; Bueno, P. C. P ; Vaz, M. M. O. L. L ; Nascimento, A. P ; Ferreira, N. U ; Moreno, G. P ; Rodrigues, M. R ; Machado, A. R. M. C ; Barizon, E. P ; Campos, J. C. L ; de Oliveira, P. F ; Acésio, N. O ; Martins, S. P. L ; Tavares, D. C ; Berretta, A. A. (2013). Evaluation of propolis water extract using a reliable RP HPLC methodology and in vitro and in vivo efficacy and safety characterisation. *Evidence based complementary and alternative medicine*, 2013, 1 – 11.
- Saihi, R. (2011). *Etude phytochimique, extraction des produits actifs de la plante Artemisia campestris de la région de Djelfa. Mise en évidence de l'activité biologique. Thèse de magister. Université d'Oran, Oran.*

- Sawaya, A. C. H. F ; Tomazela, D. M ; Cunha, I. B. S ; Bankova, V. S ; Marcucci, M. C ; Custodio, A. R ; Eberli, M. N. (2004). Electrospray ionization mass spectrometry fingerprinting of propolis. *Analyst*, 129, 739 – 744.
- Schmidt, E. M; Santos, C. S; Stock, D; Finger, D; Baader, J; Caetano, I. K; Quináia, S.P; Sawaya, A. C. H. F; Eberlin, M. N; Torres, Y. R. (2013). Effect of extraction solvent on antiradical activity of the obtained propolis extracts. *Journal of Apicultural Research*, 53, 91 – 100.
- Segueni, N ; Abdulmajid, A ; Decame, M ; Rhouati, S ; Lahouel, M ; Antonicelli, F ; Lawaud, C ; Hornebeck, W. (2010 a). Inhibition of stromelysin – 1 by caffeic acid derivatives from a propolis sample from Algeria. *Planta Med*, 77 (2011), 999 – 1004.
- Segueni, N ; Khadraoui, F ; Moussaoui, F ; Zellagui, A ; Gherraf, N ; Lahouel, M ; Rhouati, S. (2010 b). Volatil constituents of Algerian propolis. *Annals of biological research*, 1 (2), 103 – 107.
- Segueni, N ; Zellagui, A ; Moussaoui, F ; Lahouel, M ; Rouati, S. (2011). Flavonoids from Algerian propolis. *Arabian journal of chemistry*, 2013, 1 – 3.
- Segueni, N. (2011). Composition à l'étude de la composition chimique et des propriétés biologiques de la propolis. Thèse de doctorat. Université Mentouri de Constantine, Constantine.
- Segueni, N ; Benblad, K ; Bousseboua, H ; Moussaoui, F ; Zellagui, A ; Lahouel, M ; Rhouati, S. (2014). Antibacterial activity of two Algerian propolis. *Int. J. Pharm. Scien. Rev. Res*, 25 (1), 106 – 110.
- Shailajana, S; Menon, S; Pednekar, S; Singh, A. (2011). Wound healing efficacy of Jatyadi Taila: In vivo evaluation in rat using excision wound model. *Journal of Ethnopharmacology* 138 (2011): 99 - 104.
- Shmidt, J. O. (1997). Bee products chemical composition and application in Bee product. Springer Science, New York.

- Siheri, H ; Alenzi, S ; Tusiimire, J ; Watson, D. G. (2017). The chemical and biological properties of propolis in bee products – chemical and biological properties. Springer international publishing, Switzerland.
- Sorkun, K; Bozcuk, S; Gomurgen, A.N; Tekin, F. (1997). An inhibitory effect of propolis on germination and cell division in the root tips of wheat seedlings in Bee product. Springer Science, New York.
- Sosnowski, Z.M. (1984). Method for extracting propolis and water-soluble dry propolis powder obtained thereby and cosmetic and pharmaceutical preparations containing same. Patent N° EP0109993 A1.
- Stojko, Z. J ; Stokjo, R ; Stokjo ; A. R ; Dzik, A. K ; Stokjo, Z. (2013). Biological activity of propolis – honey balm treatment of experimentally - Evoked burn wounds. *Molecules*, 18 (2013), 14397 – 14413.
- Strant, M. (2014). Utiliser les produits de la ruche pour la santé. *Abeille et C<sup>ie</sup>*, 6 (163), 25 – 28.
- Sun, C; Wu, Z; Wang, Z; Zhang, H. (2015). Effect of Ethanol/Water Solvents on Phenolic Profiles and Antioxidant Properties of Beijing Propolis Extracts. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1 – 9.
- Tanachai, P. P ; Chanchao, C. (2014). Review of the anticancer activities of bee products. *Asian pac Trop Biomed*, 4 (5), 337 – 344.
- Tekeoglu, I ; Akdogan, M ; Kaleli, S. (2016). Bee venom apipuncture ; a succesful therapy for myofascial pain. A case based review. *Journal of apitherapy*, 1 (2016), 20 – 22.
- Tew, J. E. (2006). Propolis the ignored hive product. *Bee culture*, 134 (6), 29 – 31.
- Trumbeckaite, S ; Dauksiene, J ; Bernatoniene, J ; Janulis, V. (2015). Knowledge, Attitudes, and Usage of apitherapy for disease prevention and treatment among undergraduate pharmacy students in Lithuania. *Evidence Based Complementary and alternative medicine*, 2015, 1 – 9.

- Underwood, R.M; Currie, R.W. (2003). The effects of temperature and dose of formic acid on treatment efficacy against *Varroa destructor* (Acari: Varroidae), a parasite of *Apis mellifera* (Hymenoptera: Apidae). *Experimental and Applied Acarology*, 29, 303 – 313.
- Utispan, K ; Chitkul, B ; Kaew, S. K. (2017). Cytotoxic activity of propolis from the stigless *Trigona Sirindhornae* against primary and metastatic head and neck cancer cell lines. *Asian pacific Journal of cancer prevention*, 18 (4), 1051 – 1055.
- Vaquero, M. J. R ; Alberto, M. R ; Manca de Nadra, M. C. (2007). Antioxidant effect of phenolic compounds from different wines. *Food control*, 18 (2007), 93 – 101.
- Velikova, M ; Bankova, V ; Sorkun, K ; Houcine, S ; Tsvetkova, I ; Kujungiev, A. (2000). Propolis from the mediterranean region : chemical composition and antimicrobial activity. *Z. Naturforsch* 55, 790 – 793.
- Vit, P ; Huq, F ; Barth, O. M ; Campo, M ; Pérez, E. M. P ; Barberan, F. A. T ; Santos, E. L. (2015). Use of propolis in cancer research, 8 (2), 88 – 109.
- Wade, C. (1992). *Health from the hive : honey, Be pollen, bee propolis, royal jelly*. Edition keats publishing, Inc, USA.
- Wagh, V. D. (2013). Propolis a wonder bees and its pharmacological potentials. *Advances in pharmacological sciences*, 2013, 1 – 12.
- Wallner, K. (1999). Varroacides and their residues in bee products. *Apidologie*, 30, 235 – 248.
- Webmaster 1 : [www.apinov.com](http://www.apinov.com) consulter le 22/02/2015.
- Webmaster 2 : <http://biogassendi.perso.fr> consulter le 28/11/2014.
- Webmaster 3 : <http://www.st-ambroise.be/consultation/bota.pdf> consulter le 14/02/2018.
- Webmaster 4 : [www.miel.et.propolis.e-monsitecom](http://www.miel.et.propolis.e-monsitecom), consulter le 28/11/2014.
- Webmaster 5 : <http://propolis-sana.com> consulter le 28/11/2014.
- Webmaster 6 : [www.labo52svt.fr](http://www.labo52svt.fr) consulter le 17/09/2016.

- Willard, D. A ; Copper, S. R ; Gamez, D ; Jensen, J. (2004). Atlas of pollen and spores of the Florida Everglades. *Palynology*, 28 (2004), 175 – 227.
- Yang, H; Dong, Y; Du, H; Shi, H; Peng, Y; Li, X. (2011). Antioxidant Compounds from Propolis Collected in Anhui, China. *Molecules*, 16 (2011), 3444-3455.
- Zedan, H ; Honfy, E. R. M ; Ismail, S. A. (2009). Propolis as an alternative treatment for cutaneous warts. *The international society of dermatology*, 48 (2009), 1246 – 1249.
- Zouglache, D. S. (2009). Etude de l'activité biologique des extraits du fruit de *Zyziphus lotus L.* Thèse de magister. Université El Hadj Lakhdar, Batna.

# *Annexes*

**Annexe A : étude phytochimique et activité antioxydante**

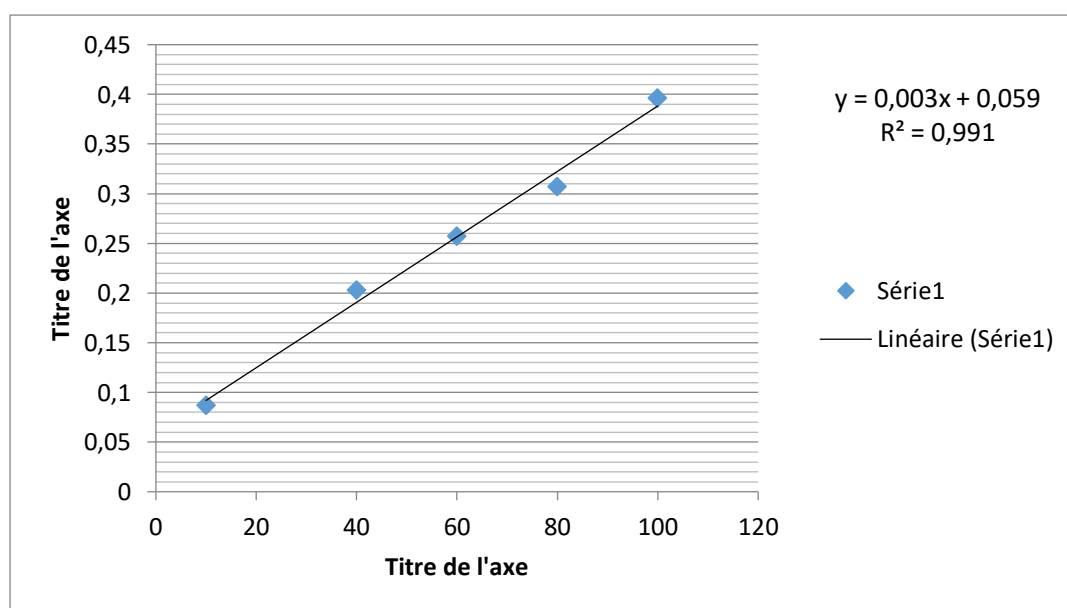
**Tableau n° 01 : valeurs des quantités équivalentes des composés phénoliques et de l'activité antioxydant des extraits alcoolosolubles de la propolis.**

Origine de propolis		Phénols totaux (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)	Tanins (mg/g)	Rendement d'extraction (%)	% of DPPH	IC50 Mg/ml
Beni Talla	<b>F</b>	180,30 ± 0,72	144,68 ± 1,079	8,6 ± 1,51	9,10	88,92 ± 5,06	2,57
	<b>R</b>	193,38 ± 6,65	81,9 ± 1,84	5,18 ± 0,33	7,23	69,71 ± 8,98	2,45
Sidi Ali Ben Youb	<b>F</b>	197,74 ± 2,62	141,91 ± 1,94	8,15 ± 0,72	17,76	83,96 ± 1,88	1,22
	<b>R</b>	187,13 ± 3,01	69,66 ± 3,73	7,83 ± 0,55	4,42	80,83 ± 7,79	1,62
Telagh	<b>F</b>	185,94 ± 5,83	146,58 ± 1,09	9,63 ± 0,17	20,83	65,31 ± 13,20	10
	<b>R</b>	199,74 ± 2,31	137,98 ± 16,86	4,9 ± 2,6	9,82	78,69 ± 1,58	7,07
Mascara 1	<b>F</b>	197,52 ± 1,21	154,13 ± 1,27	8,98 ± 0,69	12,06	85,15 ± 1,32	0,98
	<b>R</b>	197,36 ± 8,22	160,53 ± 1,79	3,25 ± 0,1	10,13	90,83 ± 0,26	1,47
Mascara 2	<b>F</b>	179,22 ± 7,53	159,88 ± 0,98	27,53 ± 2,78	23,73	88,35 ± 1,59	0,045
	<b>R</b>	203,77 ± 2,42	165,71 ± 0,25	7,41 ± 0,65	10,76	87,32 ± 1,65	4,57
Propolis commercial	<b>F</b>	220,44 ± 7,05	159,61 ± 0,43	8,2 ± 0,67	20,10	88,25 ± 0,82	0,25
	<b>R</b>	208,02 ± 2,01	167,88 ± 0,50	6,28 ± 1,66	7,59	82,35 ± 5,64	4,07
Oued Taourira	<b>F</b>	185,63 ± 0,47	148,38 ± 0,82	7,6 ± 0,59	17,30	90,72 ± 1,20	5,24
	<b>R</b>	191,57 ± 4,48	153,88 ± 2,38	1,36 ± 0,44	7,03	74,8 ± 4,01	5,88
Ain Trid	<b>F</b>	183,55 ± 8,72	146,88 ± 0,22	6,36 ± 0,41	16,06	92,37 ± 1,29	0,29
	<b>R</b>	191,74 ± 0,28	160,06 ± 2,16	2,21 ± 0,52	8,36	89,53 ± 2,19	1,69
Sfisef	<b>F</b>	191,63 ± 1,93	137,08 ± 10,01	8,5 ± 0,13	11,16	78,66 ± 0,27	1,25
	<b>R</b>	176,46 ± 0,41	112 ± 6,65	1,75 ± 0,61	7,79	79,38 ± 4,47	4,07
Sidi Dahou	<b>F</b>	194,77 ± 5,02	163,68 ± 0,73	4,86 ± 0,12	17,63	78,28 ± 1,89	19,95
	<b>R</b>	176,1 ± 11,69	144,03 ± 2,36	1,3 ± 0,25	9,19	72,86 ± 9,68	8,51

Légendes : F : filtrat ; R : résidu

**Tableau N° 02 : valeurs des quantités équivalentes des composés phénoliques et de l'activité antioxydant des extraits hydrosolubles de la propolis.**

Origine de propolis		Phénols totaux (mg/g)	Flavonoïdes (mg/g)	Tanins (mg/g)	Rendement d'extraction (%)	% of DPPH	IC50 Mg/ml
Beni Talla	F	177,94 ± 4,41	15,68 ± 1,58	4,43 ± 0,16	8,16	41,34 ± 2,29	30,31
	R	157,77 ± 11,94	10,3 ± 0,49	3,75 ± 0,35	2,13	41,90 ± 0,33	8,01
Sidi Ali Ben Youb	F	243,05 ± 0,38	22,83 ± 1,32	8,98 ± 1,62	12,96	26,88 ± 3,62	42,62
	R	241,94 ± 1,27	18,58 ± 3,57	9,35 ± 0,49	6,96	44,16 ± 13,19	23,67
Telagh	F	219,74 ± 6,66	19,31 ± 0,67	1,83 ± 0,23	3,86	42,56 ± 3,82	13,89
	R	232,38 ± 2	19,65 ± 0,65	1,68 ± 0,20	2,62	53,65 ± 4,58	6,55
Mascara 1	F	243,19 ± 1,35	41,68 ± 0,66	7,5 ± 0,81	5,83	56,75 ± 0,57	13,19
	R	239,88 ± 3,26	25,91 ± 0,36	3,16 ± 0,28	3,66	58,48 ± 2,47	8,04
Mascara 2	F	219,52 ± 1,39	34,33 ± 1,45	0,88 ± 0,23	1,76	60,76 ± 0	3,49
	R	216,44 ± 4,99	32,73 ± 1,8	0,95 ± 0,44	0,86	62,05 ± 0,94	1,5
Propolis commercial	F	244,33 ± 0,43	136,28 ± 1,37	3,95 ± 0,4	20,13	77,32 ± 3,99	3,32
	R	242,22 ± 3,65	143,88 ± 6,88	5,66 ± 0,29	4,83	81,11 ± 1,99	0,29
Oued Taourira	F	232,02 ± 0,58	27,01 ± 1,1	1,45 ± 0,3	8,9	38,93 ± 0,86	34,87
	R	244,55 ± 2,65	36,65 ± 0,21	2,5 ± 1,08	2,93	65,02 ± 2,95	4,09
Ain Trid	F	243,82 ± 1,42	56,31 ± 1,1	8,45 ± 0,54	5,03	64,72 ± 4,32	6,88
	R	243,52 ± 0,62	51,2 ± 1,6	2,81 ± 0,62	3,39	66,27 ± 5,34	2,66
Sfisef	F	242,24 ± 0,54	42,35 ± 0,94	5,66 ± 0,11	7,9	53,80 ± 2,86	19,89
	R	241,49 ± 4,15	44,45 ± 0,78	5,98 ± 0,30	3,95	48,74 ± 1,41	16,44
Sidi Dahou	F	230,52 ± 1,30	23,11 ± 0,59	1,91 ± 0,90	2,6	52,79 ± 6,71	6,95
	R	232,72 ± 0,78	28,28 ± 1,2	1,63 ± 1,57	1,79	63,52 ± 0,35	3,72



**Figure n° 01 : courbe d'étalonnage des phénols totaux.**

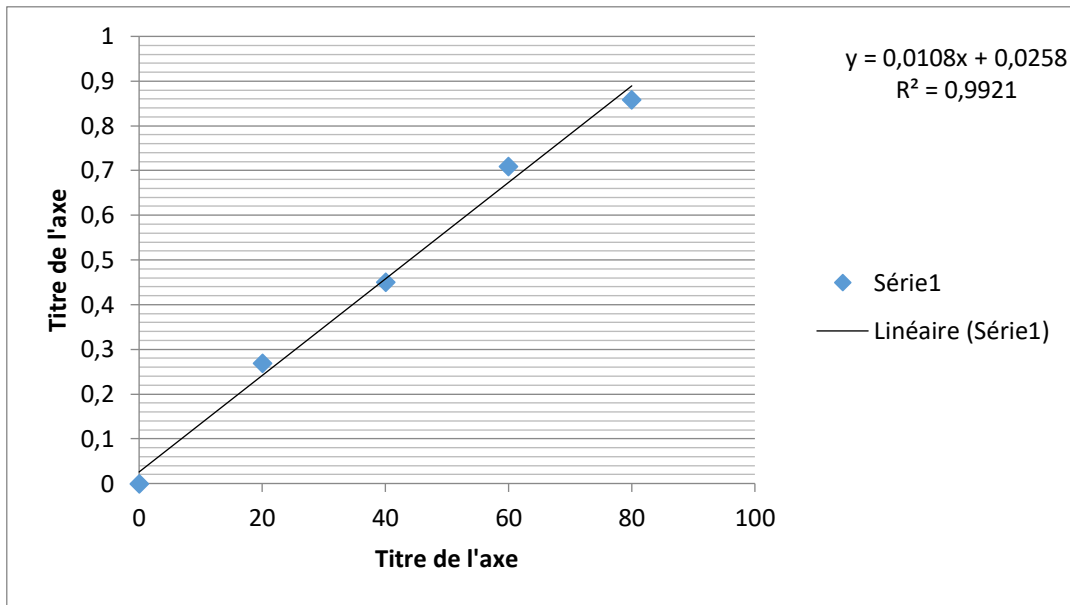


Figure n° 02 : courbe d'étalonnage des flavonoïdes.

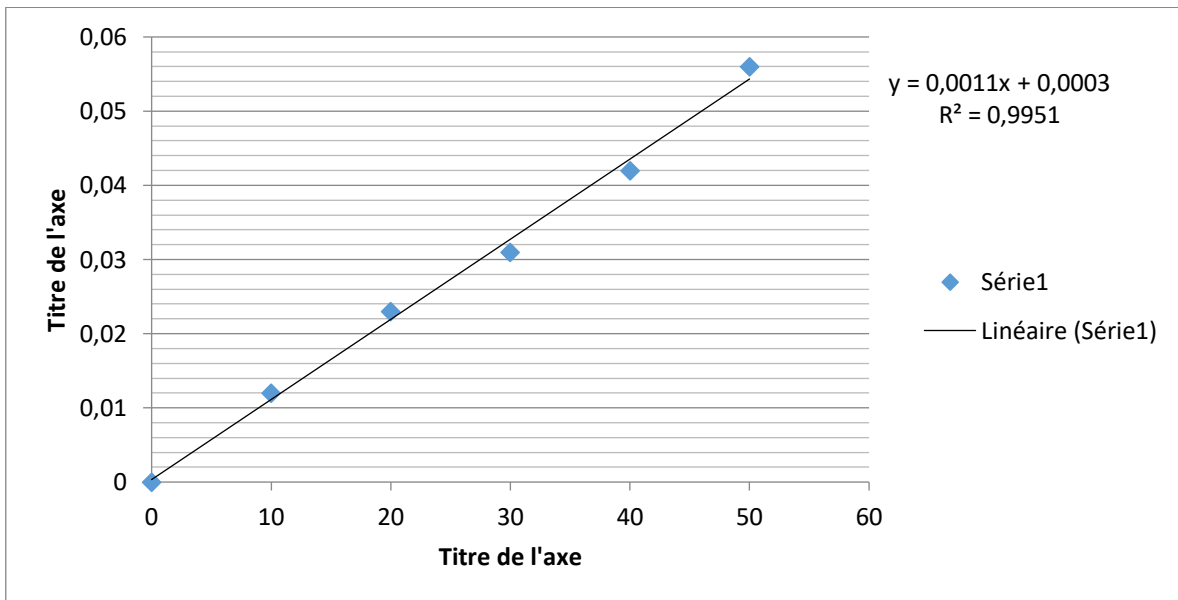


Figure n° 03 : courbe d'étalonnage des tanins.

**Annexe B : activité antimitotique**

**Tableau n° 01 : taux d'inhibition de la croissance racinaire des extraits de la propolis à différentes concentrations.**

Les concentrations (mg/ml)	Mascara1	Mascara2	Telagh	Ain Trid	Sidi Dahou
<b>C1</b>	100	95,74	100	92	95,65
<b>C2</b>	87,17	84,61	58,79	87,5	71,42
<b>C3</b>	70,68	78,04	32,65	53,84	34,37
<b>C4</b>	54,68	46,37	28,39	35,08	32,89
<b>C5</b>	35,95	40	27,05	32,6	31,32
<b>C6</b>	32,71	29,03	20,73	25	30,35
<b>C7</b>	28,16	25,18	19,64	23,75	26,66

**Tableau n° 02 : valeurs de l'indice de mitose des extraits de propolis à différentes concentrations.**

Les concentrations (mg/ml)	Mascara1	Mascara2	Telagh	Ain Trid	Sidi Dahou
<b>C1</b>	0	0,02	0	0,028	0,022
<b>C2</b>	0,056	0,068	0,18	0,045	0,136
<b>C3</b>	0,193	0,102	0,375	0,27	0,477
<b>C4</b>	0,329	0,42	0,659	0,42	0,579
<b>C5</b>	0,64	0,613	0,704	0,58	0,647
<b>C6</b>	0,81	0,75	0,738	0,44	0,551
<b>C7</b>	1,15	1,14	1,02	0,69	0,625

**Tableau n° 03 : valeurs de la CMI de la germination des graines de lentille des extraits alcoolosolubles de la propolis**

Origine de propolis	1er jrs	2éme jrs	3éme jrs
<b>Beni Talla</b>	0	0,48	0,97
<b>Sidi Ali Ben Youb</b>	0	0,95	0,95
<b>Telagh</b>	0	1,11	1,11
<b>Mascara1</b>	0	0,64	0,64
<b>Mascara2</b>	0,63	1,27	1,27
<b>Propolis commercial</b>	0	1,07	1,07
<b>Oued Taourira</b>	0,46	0,46	1,85
<b>Ain Trid</b>	0,43	0,43	0,86
<b>Sfisef</b>	0	0,59	1,19
<b>Sidi Dahou</b>	0	0,94	1,88

**Tableau n° 04** : valeurs de la CMI de la germination des graines de lentille des extraits hydrosolubles de la propolis

Origine de propolis	1er jrs	2ème jrs	3ème jrs
<b>Beni Talla</b>	0,21	0,21	1,74
<b>Sidi Ali Ben Youb</b>	0,34	0,69	2,77
<b>TELAGH</b>	0,1	0,1	0,1
<b>Mascara1</b>	0,15	0,15	1,24
<b>Mascara2</b>	0,04	0,09	0,37
<b>Propolis commercial</b>	0,53	1,07	1,07
<b>Oued Taourira</b>	0,23	0,95	0,95
<b>Ain Trid</b>	0,13	0,53	0,53
<b>Sfisef</b>	0,21	0,42	1,69
<b>Sidi Dahou</b>	0,07	0,28	0,28

### Annexe C : activité cicatrisante

**Tableau n° 01** : évolution du pourcentage de contraction des brulures dans le groupe témoin.

Rats	J0	2ème jrs	5ème jrs	8ème jrs	11ème jrs	14ème jrs	17ème jrs	20ème jrs	23ème jrs
<b>R1</b>	/	/	/	/	/	/	/	/	/
<b>R2</b>	0	1,01	1,73	15,26	23,30	46,36	56,79	81,1	92,31
<b>R3</b>	0	1,91	2,87	13,39	24,06	33,33	39,92	47,53	58,81
<b>R4</b>	0	2,63	3,19	5,47	7,55	10,89	23,82	34,41	47,69
<b>R5</b>	0	1,80	2,15	5,47	21,49	32,64	42,84	57,15	71,57
<b>R6</b>	0	1,18	1,83	9,31	19,81	44,47	50,91	81,57	92,37
<b>Moyenne</b>	0	1,71	2,36	9,78	19,25	33,54	42,86	60,36	<b>72,55</b>
<b>Ecart type</b>	0	0,64	0,65	4,49	6,74	14,12	12,55	20,79	<b>19,94</b>

## Annexes

**Tableau n° 02 :** évolution du pourcentage de contraction des brulures dans le groupe traité par crème Hebermine.

Rats	J0	2ème jrs	5ème jrs	8ème jrs	11ème jrs	14ème jrs	17ème jrs	20ème jrs	23ème jrs
<b>R1</b>	0	4,72	15,86	32,21	50,76	53,34	54,33	79,74	92,48
<b>R2</b>	0	2,13	12,28	21,73	28,39	47,78	69,76	77,77	92,09
<b>R3</b>	0	0,50	2,27	7,89	16,54	27,61	37,73	45,77	63,42
<b>R5</b>	0	1,26	10,10	11,86	14,69	32,62	35,60	60,90	70,15
<b>R6</b>	0	3,53	16,66	22,07	25,65	38,38	47,62	61,01	81,71
<b>Moyenne</b>	0	2,43	11,44	19,16	27,21	39,95	49,01	65,04	<b>79,97</b>
<b>Ecart type</b>	0	1,70	5,77	9,56	14,40	10,60	13,86	13,99	<b>13,01</b>

**Tableau n° 03:** évolution du pourcentage de contraction des brulures dans le groupe traité par pommade de propolis.

Rats	J0	2ème jrs	5ème jrs	8ème jrs	11ème jrs	14ème jrs	17ème jrs	20ème jrs	23ème jrs
<b>R1</b>	0	5,33	8,74	15,40	16,64	59,30	76,88	78,86	86,02
<b>R3</b>	0	4,81	12,61	17,89	51,22	74,25	79,48	91,73	97,22
<b>R4</b>	0	1,94	13,94	23,48	28,82	64,66	91,79	94,05	96,20
<b>R5</b>	0	4,42	6,17	10,54	46,96	70,57	87,41	94,11	100
<b>R6</b>	0	7,59	13,61	18,17	22,73	32,58	80,07	93,41	95,21
<b>Moyenne</b>	0	4,82	11,02	17,10	33,28	60,28	83,13	90,44	<b>94,93</b>
<b>Ecart type</b>	0	2,02	3,41	4,70	15,15	16,50	6,22	6,54	<b>5,29</b>

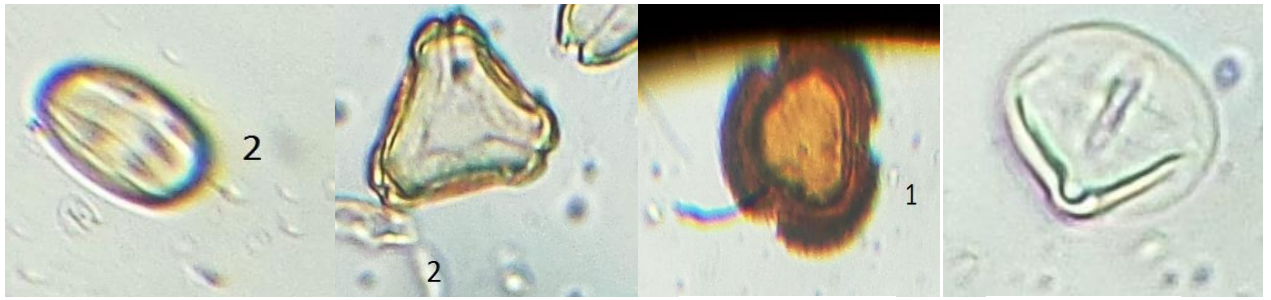
### Annexe D : analyse pollinique de la propolis

#### ➤ Préparation de la glycérine gélatinée pour colorer les grains de pollen :

7 g de feuille de gélatine alimentaire, coupé en petits morceaux sont mis à tremper dans un bécher avec 40mL eau distillée, pendant 2h.

Placer au bain-marie à T° <60°C, laisser fondre en remuant avec une spatule. Peser 52 g de glycérine (ou = 30mL), introduire dans la gélatine, remuer pendant 5mn (Webmaster 6).

# Annexes

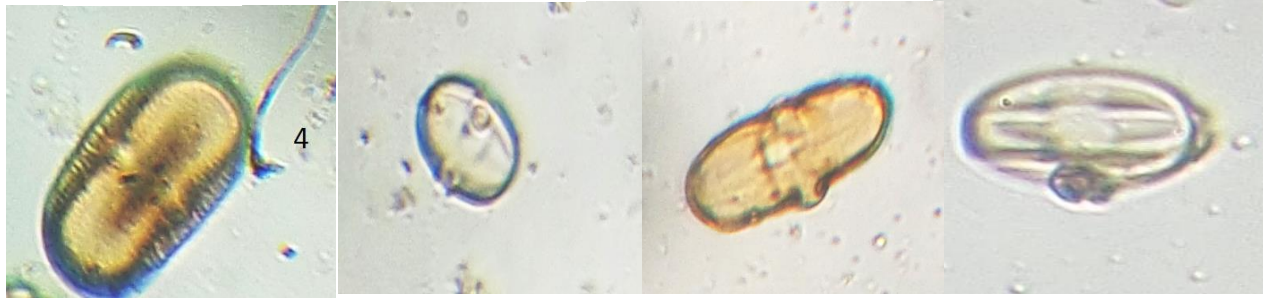


*Medicago*

*Eucalyptus*

*Foeniculum*

*Trifolium*

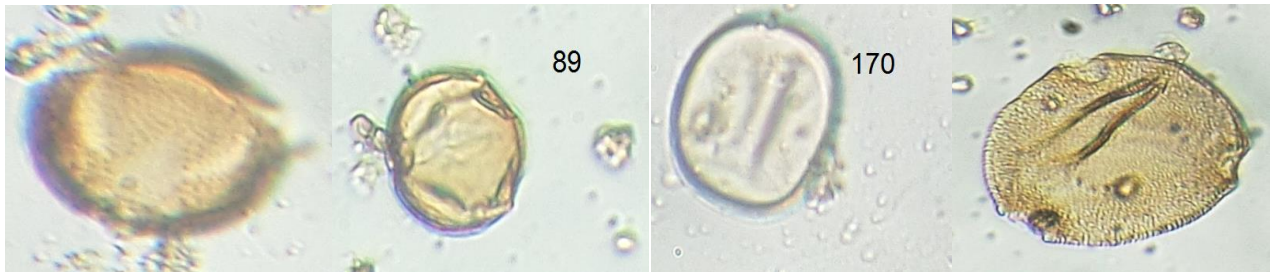


*Ammi*

*Astragalus*

*Daucus*

*Lotus*

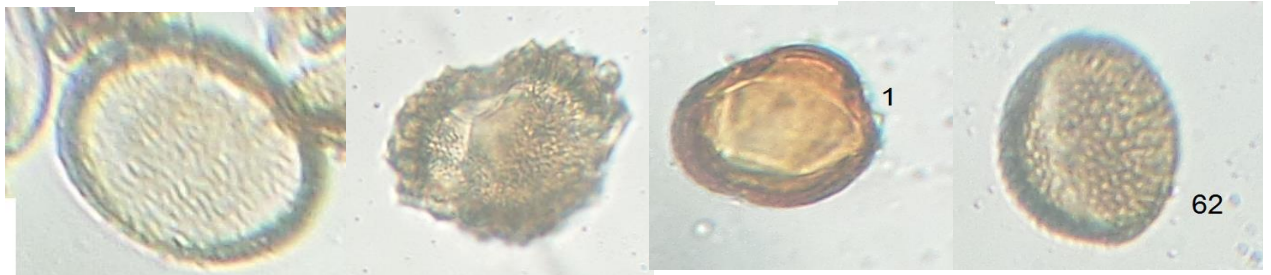


*Raphanus*

*Quercus*

*Stipa*

*Tilia*



*Pistacia*

*Pinus*

*Chamaerops*

*Sinapis*



*Achillea*

*Marrbium*

*Olea*

*Malva*

# Annexes



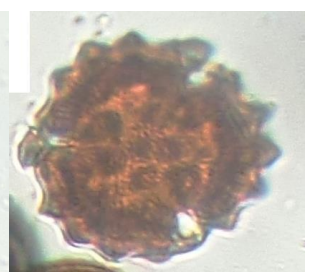
*Cladium*



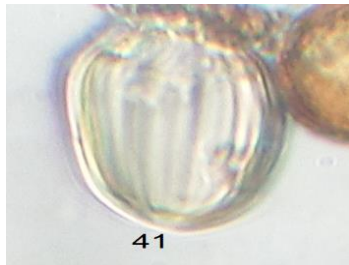
*Carex*



*Juniperus*



*Cirisium*



*Ephedra*



*Centaurea*



*Asphodelus*



*avena*



*Aloe*



*Juniperus*



*Acacia*



*Rosmarinus*



*Asparagus*



*Asphodelus*



*Lavandula*



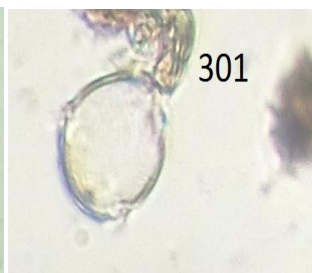
*Allium*



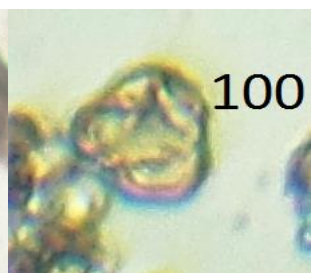
*cistus*



*Brachypodium*



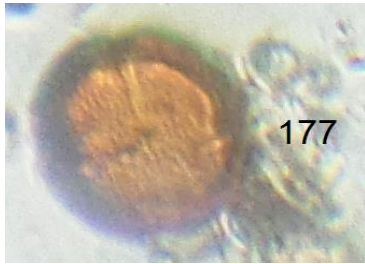
*Calicotome*



*Arbutus*

**Annexes**

---



*Citrus*



*Daphne*



*Eruca*



*Fraxinus*



*Hedera*



*Lathyrus*



*Medicago*



*Onobrochys*



*Origanum*



*Oxalis*



*Papaver*



*Pisum*



*Plantago*



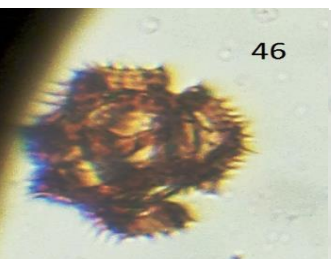
*Rhamnus*



*Rubus*



*Rununculus*



*Taraxacum*



*Taxus*



*Sisymbrium*



*Salix*



**Figure n° 01** : observation microscopique des grains de pollen dans les échantillons de la propolis étudiés (GrossissementX200) (Debab, 2019).

### - **Matériels de laboratoire :**

Nous avons utilisé le matériel courant de laboratoire à savoir :

- Balance de précision (Radwag AS (220) C2 series) ;
- Evaporateur rotatif (LABOROTA 4000) ;
- Spectrophotomètre (Thermo – spectronic UVB 111801) ;
- Microscope optique (Hund Wetzlar H 600 LL) ;
- Centrifugeuse (SIGMA 82369) ;

### - **Réactifs chimiques :**

Ethanol, méthanol, Folin Ciocalteu,  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  (carbonate de sodium),  $\text{NaNO}_3$  (nitrate de sodium),  $\text{AlCl}_3$  (tri chlorure aluminium),  $\text{NaOH}$  (Hydroxyde de sodium), vanilline,  $\text{HCl}$  (acide chlorhydrique), DPPH (2, 2-diphényl-1-acrylylhydrazyle), DMSO (diméthylsulfoxyde), Carmen acétique,  $\text{KOH}$  (Hydroxyde de Potassium), acide acétique glacial, anhydride acétique, acide sulfurique concentré, glycérine.

*Productions  
scientifiques*

# Antioxidant Activity of Propolis of West Algeria

## Activité antioxydant de la propolis de l'Ouest Algérien

M. Debab · F. Toumi-Benali · M.M. Dif

© Lavoisier SAS 2016

**Abstract** Propolis is a resinous material that bees collect from the buds and bark of some trees, especially coniferous trees. This natural mastic is rich in active principles, especially phenolic compounds that have major therapeutic properties. The study of the antioxidant activity of propolis extracts from different localities of West Algeria showed that the amount of phenolic compounds and the scavenging activity detected by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl test depends on the geographical situation and local flora of each area of study. The study also confirmed that the remaining extracts are rich in active compounds that can value the other biological activities.

**Keywords** Propolis · Phenolic compounds · Antioxidant activity · Biological activities

**Résumé** La propolis est une matière résineuse que les abeilles collectent à partir d'écorces et de bourgeons de certains arbres, notamment des conifères. Ce mastic naturel est riche en principes actifs surtout les composés phénoliques qui ont des propriétés thérapeutiques majeurs. L'étude de l'activité antioxydant des extraits de propolis de différentes localités de l'Ouest Algérien ont montré que la quantité en composés phénoliques ainsi que l'activité anti radicalaire par le test de DPPH dépendent de la situation géographique et la flore locale de chaque région d'étude. L'étude a confirmé aussi que le résidu est riche en d'autres constituants actifs qu'on peut la valoriser dans d'autres activités biologiques.

**Mots clés** Propolis · Composés phénoliques · Activité antioxydant · Activités biologiques

### Introduction

Much of the current literature concerning propolis has focused on the chemical constituents and biological activity

of propolis and the botanical origins of the resins from which the propolis mixtures are derived [1]. Propolis is a bee product of vegetal origin. The source plants might vary with respect to the local flora [2]. The main propolis components can be identified in the vegetal sources visited by bees [3]. Honeybees collect the resin from tree bark and leaf buds. Resin is masticated, with the addition of salivary enzymes, and the partially digested material is mixed with beeswax and used in the hive [4]. In temperate climates, poplar trees appear to be the primary source for the resins [5]. It is now generally accepted that propolis is collected by honeybees from tree buds or other botanical sources in the North Temperate Zone, which extends from the Tropic of Cancer to the Arctic Circle. The best sources of propolis are species of poplar, willow, birch, elm, alder, beech, conifer, and horse chestnut [6]. To understand what causes the differences in chemical composition, it is necessary to keep in mind the origin of propolis [7]. According to the Algerian flora, we can deduce that our propolis is originally of pine (*Pinus* sp.), which occupies the semiarid areas: Oak (*Quercus suber* and *Quercus canariensis*), Chestnut, Cypress, Poplar, and Casuarina are found in the North East of the country [8]. In the wake of the propagation of diseases caused by oxidative stress such as cancer, Alzheimer, and inflammatory-related pathologies, it has become urgent to find natural nontoxic antioxidants devoid of adverse side effects and that is why researchers are accelerating the pace in the field of ethnopharmacology [9]. Propolis is highly regarded for its medicinal properties for humans, especially in Eastern Europe, South America, and Asia [10]. More than 300 constituents have been identified in propolis, among which phenolic compounds such as flavonoids, phenolic acids, and phenolic acids esters [11]. Flavonoids and phenolic acids or their esters often rise up to 50% of all propolis constituents. Several biological activities such as antibacterial, antiviral, antioxidant, anti-inflammatory, anticancer, and antifungal properties have been reported for propolis and this resin is a highly valued bee product [10]. By their antioxidant activity, flavonoids are able to attenuate the development of cancer and inflammatory diseases [12]. Nevertheless, its antioxidant activity varies greatly depending on the floral source [13].

M. Debab · F. Toumi-Benali · M.M. Dif  
Laboratoire d'écodéveloppement des espaces,  
Université Djillali Liabes, Sidi Bel Abbès, Algérie  
khattoura@hotmail.com

So we attempt through this study to evaluate the antioxidant activity of propolis from different locations of the North West Algeria.

## Materials and methods

### Propolis samples

Propolis samples were collected from hives in nine different geographical parts of the north west of Algeria (Beni Talla, Sidi Ali Ben youb, Telag, Mascara (called Mascara1), experimental station of the university of Mascara (called Mascara2), Oued Taourira, Ain Trid, Sfisef, and Sidi Dahou), and the tenth sample was considered as propolis prepared commercially that we called commercial propolis (Fig. 1).

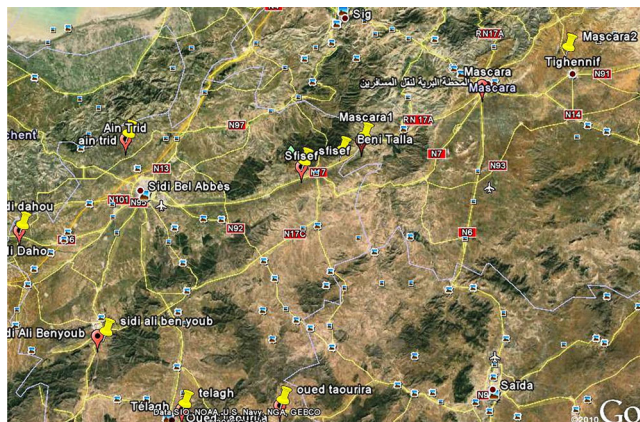
### Extraction procedure

The crude propolis (6 g each) was extracted with 20 ml of 70% v/v ethanol at room temperature for 7 days. The extracts obtained were stored and protected from light at 4 °C for subsequent analyses. The remains after filtrations were reextracted with a 70% v/v ethanol in the same conditions such as crude propolis.

### Total polyphenols contents

Total polyphenol contents in the ethanolic extracts of propolis (EEP) were determined according to the Folin–Ciocalteu colorimetric method with some modifications [14].

Two hundred fifty microliters of the EEP solutions was mixed with 1 ml of the Folin–Ciocalteu reagent and 1 ml of 7.5% Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (sodium carbonate). The absorbance was measured at 765 nm against blank (Folin–Ciocalteu reagent) after 30 min of incubation at room temperature. Total poly-



**Fig. 1** Geographical location of study areas

phenols contents were expressed as milligram per gram of gallic acid equivalent (GAE).

### Flavonoids contents

The amount of total flavonoids contents was determined by the method that employs dehydrate aluminum chloride [15].

Five hundred microliters of the EEP solutions was mixed with 1.5 ml of distilled water and 250 µl of 5% NaNO<sub>3</sub> (sodium nitrate), after 5 min, we added 250 µl of 10% AlCl<sub>3</sub>, after 11 min 500 µl of 4% NaOH was added. The absorbance was measured at 510 nm against a blank (AlCl<sub>3</sub>). Flavonoid contents were expressed as milligram per gram of catechic acid equivalent.

### Tannins contents

Tannin contents were determined by the method that employed the vanillin under acidic conditions [16]. Fifty microliters of the EEP solutions was mixed with 1,500 µl of 4% vanillin (diluted in methanol) and 750 µl of the concentrated hydrochloric acid. The absorbance was measured at 550 nm after 20 min of incubation at room temperature against blank (mixture of vanillin and hydrochloric acid).

Tannins contents were expressed as milligram per gram of catechic acid equivalent.

### Evaluation of antiradical activity by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl

Evaluation of antioxidant activity of propolis extracts was performed by the Yang's method [11], with some modifications: 50 µl of the EEP solutions was added to 1.950 ml of methanolic 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) solution (2.5 mg/ml). The absorbance was measured at 515 nm after 30 min of incubation at room temperature against blank (methanol). The percentage scavenging effect was calculated as

$$\text{Scavenging rate} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100\%$$

where A<sub>1</sub> = absorbance of control (DPPH) without sample; A<sub>2</sub> = absorbance in the presence of sample.

### Statistical analysis

All determinations were performed in triplicate. Variables were expressed as mean values and standard deviations. *n*-way multivariate analysis of variance (MANOVA) (*P* < 0.05) was performed using the SPSS V 20 software.

## Results

### Total polyphenols, flavonoids, and tannins contents

Total polyphenols, flavonoids, and tannins contents of propolis extracts from different areas were investigated in Figs. 2–4.

The amounts of polyphenols, flavonoids, and tannins contents depending on the geographic location of different samples ( $P < 0.05$ ): polyphenol contents oscillate between  $180.30 \pm 0.72$  mg/6 g (propolis extract of Beni Talla) and  $220.44 \pm 7.05$  mg/6 g (propolis commercial extract). Flavonoid contents vary between  $137.08 \pm 10.01$  mg/6 g (propolis extract of Sfisef) and  $163.68 \pm 0.73$  mg/6 g (propolis extract of Sidi Dahou). The amounts of tannins ranged between  $27.53 \pm 2.78$  mg/6 g (propolis extract of Mascara2) and  $4.86 \pm 0.12$  mg/6 g (propolis extract of Sidi Dahou).

Polyphenols, flavonoids, and tannins contents between the filtrate and the remains of different extracts of propolis demonstrate a significant difference, and the amounts of the studied compounds in propolis extracts remain higher than the filtrate extracts: polyphenol contents in propolis extracts of Beni Talla: filtrate extracts:  $180.30 \pm 0.72$  mg/6 g, remain-

ing extracts:  $193.38 \pm 6.65$  mg/6 g. Flavonoid contents in the same location (Beni Talla): filtrate extracts:  $144.68 \pm 1.079$  mg/6 g, remaining extracts:  $81.9 \pm 1.84$  mg/6 g. Tannins contents: filtrate extracts:  $8.6 \pm 1.51$  mg/6 g, remaining extracts:  $5.18 \pm 0.33$  mg/6 g.

### Evaluation of antioxidant activity

The results of the evaluation of antioxidant activity can be seen in Fig. 5.

Radical scavenging was thought to be their hydrogen donating ability. DPPH is a stable free radical and accepts an electron or a hydrogen radical to become a stable diamagnetic molecule [17].

EEP extract of propolis from Mascara2 had the best powerful antiradical activity by their inhibitory concentration of 50% of the DPPH radicals (IC<sub>50</sub>) value 0.045 mg/ml, and the EEP extract of Sidi Dahou appears to be the less powerful antiradical with their IC<sub>50</sub> value 19.95 mg/ml. The IC<sub>50</sub> values of the other studies areas were ranged between mentioned values.

The remaining of the EEP extracts of propolis shows a less antiradical activity than the filtrate: the IC<sub>50</sub> of the

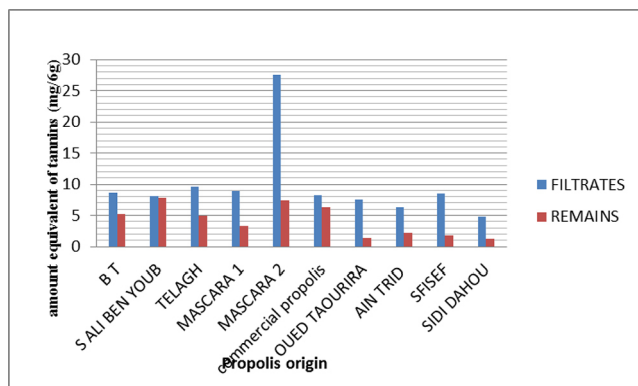


Fig. 2 Tannins contents

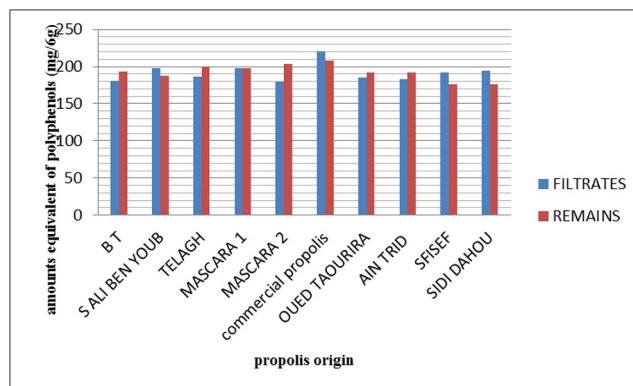


Fig. 4 Polyphenols contents

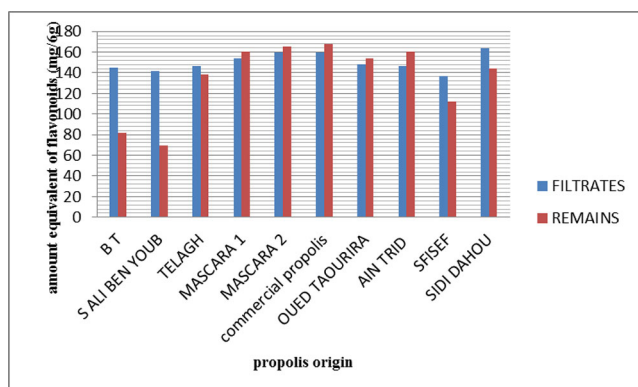


Fig. 3 Flavonoids contents

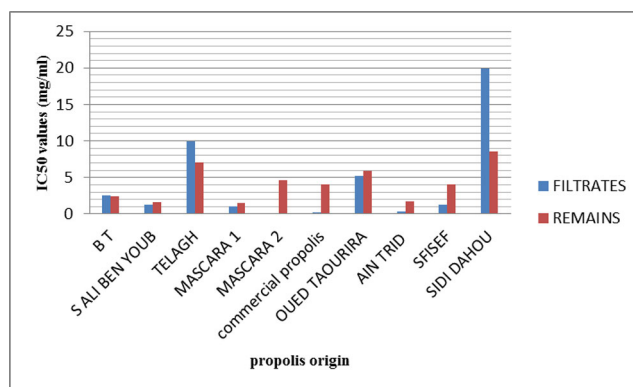


Fig. 5 IC<sub>50</sub> values (mg/ml) of different extracts

filtrate extract from Mascara2 is 0.045 mg/ml and the remaining extract is 4.57 mg/ml. However, an exception appeared in the EEP extracts of Telagh and Sidi Dahou, where the IC50 values of the remaining extracts were less than the filtrate extracts (filtrate extract of Telagh and Sidi Dahou were, respectively, 10 and 19.95 mg/ml, remaining extracts were 7.07 and 8.51 mg/ml).

## Discussion

The amounts of total phenolic and flavonoids found in propolis extracts changed according to the origin [18]. Many researches that focused on studying propolis in Algeria showed a clear contrast in the amount of the phenolic compounds: in the propolis of the western Algeria, it has been found that the total polyphenol contents varied between 9.99 and 46.63 mg/g of propolis samples, whereas the flavonoid content of EEP varied between 9.52 and 29.63 mg/g [19]. Propolis samples studied in the North Eastern of Algeria (region of Annaba) demonstrate that the amount of total polyphenols ranged between 100.90 and 257.4 mg GAE/g EEP, whereas the flavonoid content varied between 58.99 and 91.44 mg/g of EEP [20]. It found that in Morocco, different regions produce propolis containing different concentrations ( $P < 0.05$ ) of phenols ranging from a minimal value of 0.74 mg/g for propolis to a maximal value of 91.22 mg/g. The highest concentration of flavonoids was (34.27 mg/g) and the lowest was (0.20 mg/g) [18]. In the Tunisian studied propolis, there are high levels of total flavonoids (10 mg of quercetin equivalent (QE)/g extract), condensed tannins (4.97 mg catechin equivalent(CE)/g of extract), and total phenols (2.93 mg of catechic acid equivalent (CAE)/g extract) (feeding of Acacia trees Sfax) [21]. The antioxidant activity of propolis depends also on their origin: the IC50 values studied in different regions of Algeria vary between 0.007 and 0.184 mg/ml [22].

The results obtained in this study showed that the propolis prepared commercially for marketing is rich in phenolic compounds, and it has a very high antioxidant activity compared to other samples that are collected directly from the hive to the raw state, without any treatment.

The results also showed that the remains of ethanol extracts are also rich in active compounds and have a very interesting antiradical activity, thus giving priority to the valued in other biological activities other than antioxidants.

## Conclusion

This study focused on the evaluation of antioxidant activity of propolis. This resinous material that has very important therapeutic effects is less known and rarely used in traditional medicine in the West of Algeria.

The results obtained in this study have shown that propolis of Western Algeria is rich in active principles and their antiradical power is very important and differ according to the geographical location. The study also showed that the remains are also rich in bioactive substances, so it is reused in various fields: therapeutics, cosmetics, apicultural, industrial, or otherwise.

## References

1. Finstrom MS, Spivak M (2010) Propolis and bee health: the natural history and significance of resin use by honey bees. *Apidologie* 41:295–311
2. Bankova V, Propova M, Trusheva B (2014) Propolis volatile compounds: chemical diversity and biological activity: a review. *Chem Cent* 28:1–8
3. Melliou E, Stratis E, Chinou I (2007) Volatile constituents of propolis from various regions of Greece—Antimicrobial activity. *Food Chem* 103:375–80
4. Oliveira AP, França HS, Kuster RM, et al (2010) Chemical composition and antibacterial activity of Brazilian propolis essential oil. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis* 16:121–30
5. Marie Philippe J (2007) *Le guide de l'apiculteur*. Edition Edisud, la clade, Provence, France, 221 p
6. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W (2013) Historical aspects of propolis research in modern times. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013:1–11
7. Bankova V (2005) Recent trends and important developments in propolis research. *eCAM* 2:29–32
8. Ferhoum F (2010) *Analyses physico chimiques de la propolis locale selon les étages bioclimatiques et les deux races d'abeilles locales (Apis mellifica intermissa et Apis mellifica sahariensis)*. Thèse de Magister, Université M'Hamed Bouggara, Wilaya de Boumerdes, Algérie, 121 p
9. Debbache N, Atmani D, Atmani DJ (2014) Chemical analysis and biological activities of *Populus nigra*, flower buds extracts as source of propolis in Algeria. *Industrial crops and products*. 53:85–92
10. Schmidt EM, Stock D, Chada FJG, et al (2014) A comparison between characterization and biological properties of Brazilian fresh and aged propolis. *BioMed Res Int*:1–10
11. Yang H, Dong Y, Du H, et al (2011) Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. *Molecules* 16:3444–55
12. Boutabet K, Kesba W, Alyane M, et al (2011) Polyphenolic fraction of Algerian propolis protects rat kidney against acute oxidative stress induced by doxorubicin. *Indian J Nephrol* 21:101–6
13. Kesba W, Rouibah H, Lahouel M (2014) Polyphenolic fraction of Algerian propolis reverses doxorubicin induced oxidative stress in liver cells and mitochondria. *Pak J Pharm Sci* 27:1891–7
14. Boufadi YM, Soubhye J, Riazi A, et al (2014) Characterization and antioxidant properties of six Algerian propolis extracts: ethyl acetate extracts inhibit myeloperoxidase activity. *Int J Mol Sci* 15:2327–45
15. Kholkhal F (2014) *Etude phytochimique et activité antioxydante des extraits des composés phénoliques de Thymus ciliatus ssp coloratus et ssp eucliliatus*. Thèse de doctorat, Université Abou Bekr Belkaid, Wilaya de Tlemcen, Algérie, 164 p
16. Kanoun K (2011) *Contribution à l'étude phytochimique et activité antioxydante des extraits de Myrtus communis L. (Rayhane) de la région de Tlemcen (Honaine)*. thèse de Magister, Université Abou Bekr Belkaid, Wilaya de Tlemcen, Algérie, 96 p

17. Elmastas M, Gülçin I, Beydemir Ş, et al (2006) A study on the in vitro antioxidant activity of Juniper (*Juniperus communis* L.) fruit extracts. *Anal Lett* 39:47–65
18. Miguel M, Doughmi O, Aazza S, et al (2014) Antioxidant, anti-inflammatory and acetylcholinesterase inhibitory activities of propolis from different regions of Morocco. *Food Sci Biotechnol* 23:313–22
19. Benhanifia M, Mohamed W, Bellik Y, et al (2013) Antimicrobial and antioxidant activities of different propolis samples from north-western Algeria. *Int J Food Sci Technol* 48:2521–7
20. Nedji N, Loucif-Ayad W (2014) Antimicrobial activity of Algerian propolis in foodborne pathogens and its quantitative chemical composition. *Asian Pac J Trop Dis* 4:433–7
21. Garoui E, Troudi A, Fetoui H, et al (2011) Propolis attenuates cobalt induced-nephrotoxicity in adult rats and their progeny. *Exp Toxicol Pathol* 64:837–46
22. Belfar MM, Lanez T, Rebiai A, et al (2015) Evaluation of antioxidant capacity of propolis collected in various areas of Algeria using electrochemical techniques. *Int J Electrochem Sci* 10:9641–51

## Wound Healing Activity of Propolis of West Algeria

### Activité cicatrisante de la propolis de l'Ouest Algérienne

M. Debab · F. Toumi-Benali · H. Salem

© Lavoisier SAS 2018

**Abstract** Propolis is a resinous substance that bees use to defend their colonies against any pathogen. It has been used in traditional medicine since ancient times because of its therapeutic properties. Pollen analysis of propolis of Ain Trid has shown that the region of Ain Trid is rich in plant species visited by bees (31 genus identified) and that the majority of these species are considered as medicinal plants, which gives propolis an important place in wound healing. The study of the wound healing activity is carried out in vivo on the Wistar rats divided into 3 groups: group 1 treated with propolis ointment, group 2 treated with commercial cream, and group 3 considered as untreated. The duration of treatment was estimated to be 23 days. The results obtained showed that the group treated by propolis ointment showed a high cure rate, in which the percentage of wound closure reached up to  $94.93\% \pm 5.29$  in the group 1, while in the group 2 arrived to  $79.97\% \pm 13.01$ , and in group 3 was  $72.55\% \pm 19.94$ . The results demonstrated also that the number of days required to contract 50% of wound area was different among the groups, in the 12th day in group 1, 16th day in group 2, and 18th day post wounding in group 3. These results have shown that propolis can be prepared and used in traditional medicine as a natural ointment for the treatment of skin diseases in our region.

**Keywords** Propolis · Therapeutic properties · Wound healing · Propolis ointment · Traditional medicine

**Résumé** La propolis est une substance résineuse utilisée par les abeilles pour défendre leurs colonies contre tout agent pathogène. Leur utilisation dans la médecine traditionnelle a été soutenue depuis des temps anciens en raison de ses propriétés thérapeutiques majeures qui caractérisent. L'analyse pollinique de la propolis de Ain Trid a démontré que la zone de Ain Trid est riche en espèces végétales visitées par les abeilles (31 genres recensés) et que la majorité de ces

espèces sont considérées comme plantes médicinales, ce qui donne à la propolis des activités biologiques très importantes telles que l'activité cicatrisante. L'étude de l'activité cicatrisante est effectuée in vivo sur les rats Wistar divisés en trois groupes : le groupe 1 traité avec une pommade de propolis, le groupe 2 traité avec de la crème commerciale et le groupe 3 considéré comme non traité. La durée du traitement a été estimée à 23 jours. Les résultats obtenus ont montré que le groupe traité par pommade de propolis a montré un taux de guérison élevé, dans lequel le pourcentage de fermeture de la brûlure a atteint  $94,93 \% \pm 5,29$ , alors que dans le groupe 2 est arrivé à  $79,97 \% \pm 13,01$ , et dans le groupe 3 était de  $72,55\% \pm 19,94$ . Les résultats ont également démontré que le nombre de jours requis pour contracter 50 % de la surface de la brûlure était différent parmi les groupes, le 12<sup>e</sup> jour requis pour le groupe 1, 16<sup>e</sup> jours pour le groupe 2 et 18<sup>e</sup> jours pour le groupe 3. Ces résultats ont montré que la propolis peut être préparée et utilisée dans la médecine traditionnelle comme une pommade naturelle pour le traitement des maladies de la peau dans notre région.

**Mots clés** Propolis · Propriétés thérapeutiques · Activité cicatrisante · Pommade de propolis · Médecine traditionnelle

### Introduction

Burns are extreme thermal injuries that are caused by short or long exposure to a physical, chemical or biological agent [1]. Most of burning cases are caused by building fires, or in contact with boiled water, water steam and flammable gases [2]. Use of traditional medicinal remedies and plants in the treatment of burns and wounds is an important aspect of health management and at the same time is an efficient way to provide cheaper healthcare options [3]. Propolis is a widely consumed folk medicine in the traditional medicinal system since ancient times [4]. Hippocrates prescribed the use of this resinous substance to help heal sores and ulcers, both external and internal [5]. In the first century AD,

M. Debab (✉) · F. Toumi-Benali · H. Salem  
Laboratoire d'écodéveloppement des espaces,  
université DjillaliLiabes, Sidi-Bel-Abbès, Algérie  
e-mail : khattoura@hotmail.com

Cornelius Celsus wrote about propolis as a drug for promoting suppuration, for opening wounds, and for treatment of abscesses [6]. Propolis has a long tradition of medicinal use in many parts of the world. Many European countries are interested in natural products to heal diseases and propolis is an important product used for this purpose. It is found in pharmaceutical and cosmetic products, such as anti-acne lotion, face creams, ointments, lotions and solutions [7]. Because of its popularity in folk medicine, propolis has become the subject of intense pharmacological and chemical studies for the last 30 years. Numerous studies have proven its versatile pharmacological activities: antibacterial, antifungal, antiviral, anti-inflammatory, hepatoprotective, antioxidant, antitumor etc. [8]. It is one of the most significant bee products. It contains substances with high biotic activities which are especially valuable in the stimulation of reconstructive processes of damaged tissues [9], and is an excellent candidate for the treatment of burns due to its antiviral and antioxidant properties [1]. It was observed by the action of propolis, an intensification of the epithelium proliferation process within the canker burned skin and active regeneration wound. The ointment of propolis also has bacteriostatic properties, bactericides, antifungal and antiviral that inhibit wound infection while speeding their healings [10]. The aim of our study is to assess the use of a natural ointment based on propolis extract to treat burns in rats; this study is based on macroscopic observation followed by mathematical evolution of the wound area. So to improve their traditional use in our region, accompanying with other natural products, that have healing effect such as honey.

## Materials and methods

### Propolis sample

Propolis sample was collected from hives by a beekeeper of the north west of Algeria (region of Ain Trid).

### Pollen analyses of propolis

The botanical origin of propolis collected in the region of Ain Trid was identified by the characterization of the pollen grains contained in propolis, using the method of pollen analysis according to (Barth, 1998) [11].

### Extraction procedure

For preparing the ointment of propolis, we used Krell's method with some modifications [12]: 30 g of propolis were extracted with 100 ml of a 96% v/v ethanol at room temperature for 15 days. The extract obtained was evapo-

rated at 50 °C in rotary evaporator to obtain a soft extract, which was mixed with pure Vaseline in the ratio of 15% of propolis extract in water bath until it melted; then the mixture was cooled. This mixture was used as the propolis ointment for application on burn wounds in rats.

## Wound healing activity

### Animals

The experiment was done in the University of Mascara "Mustafa Istambouli": 18 Wistar rats (males and females), weighing between 240 g and 280 g. The animals were housed in individual cages and were kept in a light-dark cycle of 12 h light and 12 h darkness. There was free access to food and water.

Rats were randomly divided into three groups of six each. Group 1 consisted of rats treated with propolis ointment, Group 2 included rats that were treated with commercial cream based on silver sulfadiazine called "Hebermine", and served as a reference standard (positive control), Group 3 contained untreated rats that served as a control group [13].

### Protocol

For the burns procedures, the animals were locally shaved and anesthetized with (40 mg/kg) thiopental intra peritoneal (IP) each rat. Burns were made on one of the side of each rat with the stamp (5 cm<sup>2</sup>) that is heated for 20 seconds in 110 °C. Then, it was put on the side of rat, without pressure for 5 s. Following the burn procedures, all animals are immediately injected intra peritoneal (IP) with a solution of analgesic paracetamol (10 mg/ml) [1].

The groups 1 and 2 are, respectively, received topical application a 0.5 g of propolis ointment and Hebermine's cream immediately after burn injury, every 2 days.

The treatment lasted 23 days, because this period is crucial to the final healing result [1].

### Measurement of wound area

During the wound healing period, the wound boundaries were photographed and measured using callipers. Wound contraction expressed as a percentage of reduction of original wound size was calculated using the following equation:

$$\text{Wound closure (\%)} = [(A_0 - A_n) / A_0] \times 100\%$$

where  $A_0$  refers to the initial wound size,  $A_n$  to the wound size at a specific day [13].

## Statistical analysis

All determinations were performed in triplicate. Variables are expressed as mean values and standard deviations (SD); the data were analysed using one way ANOVA (analyze of variances), post hoc comparison using LSD test.

## Results

### Pollen analysis of propolis

Pollen analysis of propolis in the Ain Trid region showed that it contains 680 grains of pollen distributed over 31 genus of plants. The most dominant pollen grains are: Centaurea 29,26%; Eucalyptus 12,05%; Ammi 8,23%; *Olea* 6,76%; the others are less dominant (< 5%) and are as follows: Astragalus, Daucus, Foeniculum, Lotus, Medicago, Trifolium, Achillea, Asphodelus, Avena, Carex, Ceratonia, Cirsium, Cladium, Ephedra, Juniperus, Malva, Marrubium and Chamaerops, Pinus, Pistacia, Quercus, Raphanus, Reseda, Sinapis, Stipa and other unidentified genus (< 1%) (Fig. 1).

### Evaluation of wound healing activity

We record any death of the rats, or signs of wounds infection in the experimental study (Figs 2, 3).

We can divide the development of wound's contraction among the studied groups in two phases:

From the 2<sup>nd</sup> to 11th day post wounding, the percentage of wound's closure of the treated groups (group 1 and 2) appear a not significant difference, and thus the untreated group (group 3), that the results shown a convergence in the percentage of wound's contraction, by way of illustration: the percentage of contraction on the second day post

wounding in G1 4,82% ± 2,02, G2 2,43% ± 1,70, and G3 1,71% ± 0,64, while in the 5th day reach up to 11,02% ± 3,41 in G1, 11,44% ± 5,77 in G2 and 2,36% ± 0,65 in G3. In the 11th day: 33,28% ± 15,15 in G1, 27,21% ± 14,40 in G2, and 19,25% ± 6,74 in G3.

From the 14th day post wounding to 20th day: the percentage of wound's contraction shows a significant difference ( $P < 0,05$ ) between the studied groups; the group treated with propolis ointment shows a high percentage of wound's closure, compared with other groups: in the 14th day, the percentage of contraction reaches 60,28% ± 16,50 in G1, 39,95% ± 10,60 in G2, and 33,54% ± 14,12 in G3, while in the 17th day: 83,13% ± 6,22 in G1, 49,01% ± 13,86 in G2 and 42,86% ± 12,55 in G3. The percentage of contraction continued to increase until day 20 that it recorded 90,44% ± 6,54 in G1, 65,04% ± 13,99 in G2, and 60,36% ± 20,79 in G3. At the last day post wounding (23th day), the statistical analyses demonstrate that was no significant difference between the treated groups and between the G2 and G3.

Evolution of the percentage of wounds contraction of studied groups shown in figure 3 demonstrate that the number of days required to contract 50% of size initial of the burn wounds varied from group to another, by way of illustration: In the group treated by propolis ointment, healing of 50% of wound area was done in the 12th day post wounding, while in the group treated by Hebermine's cream arrived to 16th day post wounding, and in the untreated group reached up to the 18th day post wounding.

## Discussion

Pollen analyses of the Ain Trid propolis give us information on the plants that were visited by bees and on the nature of

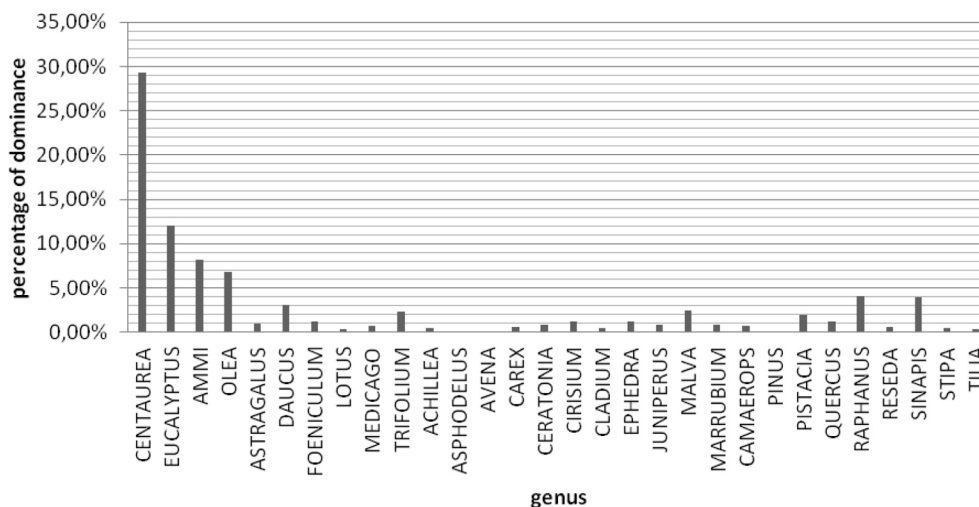
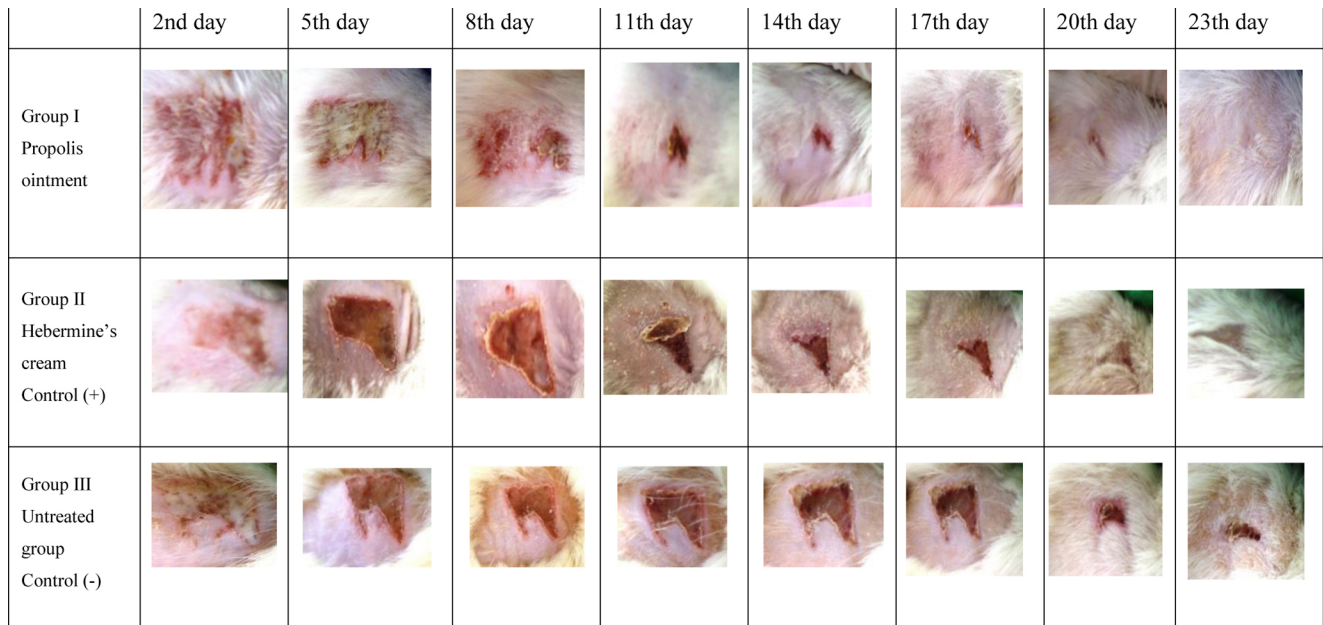
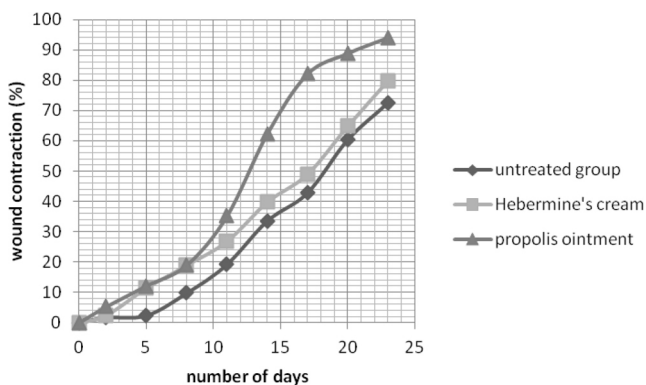


Fig. 1 Botanical origin of propolis of Ain Trid



**Fig. 2** Macroscopic changes of the wound healing for different groups



**Fig. 3** Evolution of the percentage of wounds contraction of studied groups

the flora of the region. The majority of plants were identified to be medicinal plants: (Eucalyptus, Olea, Ammi, Centaurea, Malva, Daucus, Quercus, etc.) thus giving our propolis very important therapeutic properties, especially in the case of wound healing. The results obtained showed that the use of propolis ointment to treat second burn degree for rats was better than silver sulfadiazine-based commercial cream, the difference appears clearly from the 14th day to the 17th day.

In experimental studies conducted on an animal model, it was shown that propolis extracts incorporated in various vehicles (gel, ointments) displays a great therapeutic potential with respect to third degree burn wounds. The preparations were more effective therapeutically than silver sulfadiazine [14]. Studies on the treatment of minor burns in

patients demonstrated that the use of propolis skin cream may be a viable and desirable alternative to the use of silver sulfadiazine [15]. Side effects were not observed after burns treatment with propolis, according to clinical and histopathological assessments; propolis accelerates regenerative and reconstructive processes [16]. According to obtained results, Propolis ointment can be prepared traditionally for popular use, according to Krell's method [12]: 30 g of propolis were extracted with 100 ml of a 96% v/v ethanol at room temperature for 15 days. The extract obtained was evaporated in water bath, or allowed to evaporate in the open air, then the soft extract is mixed with pure Vaseline, honey bees wax or animal fat in the ratio of 15% of propolis extract until they melted. The mixture obtained is placed in glass containers, allowed to cool and then used.

## Conclusion

Our results showed that propolis ointment of West Algeria has the capacity to heal burn wounds excellently and activate the epithelialization of the wound scar better than commercial cream, in which allows to prepared and used to treat skin disease traditionally in our region. This capacity to treat the wounds due to botanical origin of propolis that is rich in medicinal plants.

**Conflicts of interests :** the authors have no conflicts of interests to declare.

## References

1. Pessolato AG, Martins Ddos S, Ambrósio CE, et al (2011) Propolis and amnion reepithelialise second-degree burns in rats. *Burns* 37:1192–201
2. Hashemi SA, Madani SA, Abediankenari S (2015) The review on properties of aloe vera in healing of cutaneous wounds. *BioMed Research International (Hindawi)* 2015:1–6
3. Shailajan S, Menon S, Pednekar S, Singh A (2011) Wound healing efficacy of JatyadiTaila: In vivo evaluation in rat using excision wound model. *J Ethnopharmacol* 138:99–104
4. Iyyam Pillai S, Palsamy P, Subramanian S, Kandaswamy M (2010) Wound healing properties of Indian propolis studied on excision wound-induced rats. *Pharm Biol* 48:1198–206
5. Kuropatnicki AK, Szliszka E, Krol W (2013) Historical aspects of propolis research in modern times. *Evid Based Complement Alternat Med* 2013:1–11
6. Wade C (1992) *Health from the Hive: Honey...Bee Pollen...Bee Propolis... Royal Jelly*, NTC Contemporary, United States of America, 380 p
7. Marcucci MC (1994) Propolis: chemical composition, biological properties and therapeutic activity. *Apidologie* 23:83–99
8. Cvek J, Medić-Sarić M, Jasprica I, et al (2007) Optimisation of an extraction procedure and chemical characterisation of Croatian propolis tinctures. *Phytochem Anal* 18:451–9
9. Jastrzębska-Stojko Z, Stojko R, Rzepecka-Stojko A, et al (2013) Biological activity of propolis-honey balm in the treatment of experimentally-evoked burn wounds. *Molecules* 18:14397–413
10. Bruneau E, Barbançon JM, Bonaffé P, et al (2002) *Le traité Rustica de l'apiculture*, Édition Rustica, Paris, 528 p
11. Barth OM (1998) Pollen analysis of Brazilian propolis. *Grana* 37:97–101
12. Krell R (1990) *Value-Added Products from Beekeeping*. FAO Agricultural Services Bulletin 124. Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome
13. Ammar I, Bardaa S, Mzid M, et al (2015) Antioxidant, antibacterial and in vivo dermal wound healing effects of *Opuntia* flower extracts. *Ijbiomac* 81:483–90
14. Kurek-Górecka A, Rzepecka-Stojko A, Górecki M, et al (2013) Structure and antioxidant activity of polyphenols derived from propolis. *Molecules* 19:78–101
15. Gregory SR, Piccolo N, Piccolo MT, et al (2002) Comparison of propolis skin cream to silver sulfadiazine: a naturopathic alternative to antibiotics in treatment of minor burns. *J altern complement Med* 8:77–83
16. Olczyk P, Komosinska-Vassev K, Winsz-Szczotka K, et al (2013) Propolis induces chondroitin/dermatan sulphate and hyaluronic acid accumulation in the skin of burned wound. *Evid Based Complement Alternat Med (Hindawi)* 2013:1–8