

Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
Département de Microbiologie
Spécialité Microbiologie fondamentale



Réf :.....

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

MASTER

Thème

**Etude de l'activité antibactérienne de
quelques produits de la ruche**

Présenté par :

Bouda Thiziri & Bounab Lahna

Soutenu le : **20 Juin 2018**

Devant le jury composé de :

Mr. Djoudi Ferhat

MCA

Président

Mr. Amir Nadir

MCA

Encadreur

Mme. Gharout Alima

MCB

Examinatrice

Année universitaire : 2017 / 2018

Remerciements

Nous remercions tout d'abord Allah le tout puissant, pour nous avoir donné la force et la patience, la santé et la volonté pour réaliser ce modeste travail. Car l'homme propose mais Dieu dispose. Seigneur, veuillez toujours diriger nos pas.

Nous remercions nos chers parents qui nous ont aidé à être ce que nous sommes et qui nous ont entouré avec tant d'amour et d'affection.

*Nous tenons à exprimer toute notre gratitude envers notre promoteur **Mr Amir Nadir**, pour avoir toujours eu confiance en nous et pour son soutien. Il a toujours été à l'écoute et disponible tout au long de la réalisation de ce mémoire.*

*Nos profonds remerciements s'adressent à **Mr Djoudi Ferhat** pour l'honneur qu'il nous a fait de présider ce jury.*

*Nous adressons aussi nos plus vifs remerciements à **Mme Gharout Alima** d'avoir bien voulu s'intéresser à ce travail et d'accepter de l'examiner, nous sommes très honorés de sa présence dans ce jury.*

Avec tout notre respect on tient à remercier Mme Rahmani pour son aide, ses orientations judicieuse, ses qualité d'ordre et d'efficacité, Ainsi que pour Mr Touati Abdel Aziz et son équipe de laboratoire(LEM) pour la mis à notre disposition.

Un grand merci pour Mr Touati, apiculteur de la région de chelatta, ainsi qu'à ses collaborateurs pour leur aide précieuse et généreuse.

Je tiens également à exprimer mes vifs remerciements à toutes les personnes qui ont contribué de près ou de loin à la réalisation de notre travail.

Je présente mes chaleureux remerciements aux enseignants du département de biologie pour leur aide et leur orientation durant notre formation.

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*Mes parents, pour l'exemple qu'ils m'ont donné et me donnent,
et surtout pour m'avoir fait confiance pendant ces années
d'études, malgré quelques frayeurs le but est*

Atteint !

A mes grands- parents, je leurs souhaitent une longue vie.

Mes chers frères « farouk », « fayçal »

Mon unique chère sœur « Lisa » et son époux

Mes oncles & mes tantes.

Mes cousin & cousine et à toute la famille.

Mes chères amies & amis.

*Merci à Lahna, un binôme rêvé, souvent patiente,
toujours disponible*

*A toute la promotion microbiologie fondamentale
2017 / 2018.*

Thiziri

Dédicaces

Je dédie ce travail à :

*À la mémoire de mes grands-parents qui n'ont pas pu partager
avec moi cet instant de bonheur et de joie que Dieu les
bénissent.*

*Merci à mes parents, pour l'exemple qu'ils m'ont donné et me
donnent, et surtout
pour m'avoir fait confiance pendant ces années d'études,
malgré quelques frayeurs le but est
Atteint !*

À ma chère grand- mère, je la souhaite une longue vie.

Mes chers frères «Juba», « Amazigh», « Takfarinas»

Mes oncles & mes tantes

Mes cousin & cousine et à toute la famille

Mes chères amies & amis

*Merci à Thiziri, un binôme rêvé, souvent patiente,
toujours disponible*

À toute la promotion microbiologie fondamentale

2017 / 2018.

Lahna

Liste des abréviations

CMI: Concentration minimale inhibitrice.

DMSO: Dimethyl Sulfoxyde.

EAG: Equivalent acide galique

G+: Gram positive.

G-: Gram negative.

GM: Gentamicine.

H : heure.

Mg : milligramme.

MH : Muller Hinton.

SARM : *Staphylococcus aureus* résistance à methiciline.

µl : microlitre.

Liste des figure

Figure 1: Composition générale du miel.	2
Figure 2: Composition générale de la gelée royale	3
Figure3 : Composition générale du venin.	4
Figure 4: Composition générale de la propolis.....	5
Figure 5 : Composition générale du pollen	6
Figure 6: Composition générale de la cire.....	7
Figure 7: Echantillons des produits de la ruche analysés.	11
Figure 8: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits éthanoliques.	18
Figure 9: Activité antibactérienne sur <i>S.aureus</i> ATCC 29213	20
Figure 10: Activité antibactérienne sur <i>B.subtilis</i> ATCC 6633.....	20
Figure 11: Activité antibactérienne sur <i>SARM RMA34</i>	20
Figure 12: Avtivité antibacterienne sur <i>B.subtilis</i> ATCC 6633	21
Figure 13: Activité antibacterienne sur <i>S.aureus</i> ATCC 29213	21
Figure 14: Activité antibactérienne de la propolis sur <i>SARM RMA34</i>	24
Figure 15: Activité antibactérienne du pollen sur <i>S.aureus</i> ATCC 29213	24
Figure 16: Activité antibactérienne de la gelée royale sur <i>SARM RMA34</i>	25
Figure 17: Activité antibactérienne de la gelée royale sur <i>S.aureus</i> ATCC29213.	25
Figure 18: Synergie Extrait/ATB sur <i>B.subtilis</i> ATCC6633.	26
Figure 19: Synergie avec ATB sur <i>S.aureus</i> ATTC29213.....	26
Figure 20: Synergie sur <i>A.baumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588.....	27
Figure 21: Synergie sur <i>SARM RMA34</i>	27
Figure 22: (A) Effet bactériostatique (Extrait pollen sur <i>SARM RMA34</i>).....	29
Figure 23: (B) Effet bactéricide de (Extrait de la propolis sur <i>S.aureus</i> ATCC 29213).....	29

Liste des tableaux

Tableau I : Description des échantillons collectés.	11
Tableau II: Taux d'extraction et concentration obtenues.	17
Tableau III: Résultats de l'aromatogramme de l'extrait éthanolique de la propolis.	19
Tableau IV: Résultats d'aromatogramme de l'extrait éthanolique du pollen.....	21
Tableau V: Résultat de l'aromatogramme de l'extrait éthanolique des quatre produits.	23
Tableau VI : Synergie entre les extraits et l'antibiotique.....	26
Tableau VII: Résultats de la synergie entre les deux extraits.	27
Tableau VIII: Résultats de l'activité bactéricide ou bactériostatique.....	28
Tableau IX: Résultats des concentrations minimales inhibitrices (mg/ml).	29

Table des matières

Remerciements

Dédicaces

Liste des abréviations

Liste des figures

Liste des tableaux

Introduction 1

Synthèse bibliographie

I. Généralités sur les produits de la ruche..... 2

I.1. Miel..... 2

I.2. Gelée royale 3

I.3. Venin 4

I.4. Propolis..... 4

I.5. Pollen 6

I.6. Cire 6

II. Propriétés biologiques des produits de la ruche 7

II.1 Miel 7

II.2. Propolis 8

II.3. Gelée royale 8

II.4. Pollen..... 9

II.5. Cire 9

II.6. Venin 10

Matériel et Méthode

I. Matériel et méthodes..... 11

I.1. Origine des échantillons 11

I.2. Extraction des composés phénoliques 12

I.3. Dosages des Composés phénoliques totaux 12

I.4. Evaluation de l'activité antibactérienne 13

I.4.1. Souches testées..... 13

I.4.2. Réisolement des souches..... 13

I.4.3. Préparation de la suspension bactérienne	13
I.4.4. Aromatogramme	13
I.5. Etude de la synergie.....	14
I.5.1. Synergie extrait éthanolique pollen/propolis	15
I.5.2. Synergie extraits /antibiotiques.....	15
I.6. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique	15
I.7.Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI).....	16

Resultat et discussion

I. Résultat et discussion	17
I.1. Extraction éthanoliques	17
I.2. Détermination du taux d'extraction.....	17
I.3 .Teneurs en polyphénols	18
I.4.Résultats des activités antibacteriennes.....	19
I.4.1.Résultats des Aromatogrammes.....	19
I.5. Etude de la synergie.....	25
I.5.1. Synergie extraits /antibiotiques.....	25
I.5.2. Synergie extrait éthanolique pollen/propolis.....	27
I.6. Résultats de l'activité bactéricide ou bactériostatique.....	28
I.7. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)	29

Conclusion et perspectives

Conclusion et perspectives	31
---	-----------



Introduction

« *Si l'abeille venait à disparaître, l'homme n'aurait plus que quelques années à vivre* », Albert Einstein... Les abeilles font partie depuis des millénaires de la culture et du patrimoine humain, elles sont donc essentielles au maintien d'une biodiversité végétale très importante pour l'humanité (Paterson, 2008), d'où la nécessité de faire connaître l'importance de ce petit insecte et les produits dérivés de la ruche.

Les produits issus du travail de ce petit insecte sont utilisés depuis des millénaires dans différents domaines (alimentaire, médicale, pharmaceutique...). La grande importance de ces produits stimule l'homme et l'incite à persévérer dans les recherches scientifiques pour mettre en lumière leurs vertus (Bacher, 2008).

La santé et la beauté font parties des préoccupations de l'Homme qui continue toujours à chercher le meilleur moyen de les entretenir. Ses recherches ont connu une évolution Considérable ces dernières années, et plusieurs industriels tels que les firmes pharmaceutiques et l'industrie du cosmétique, intègrent les produits de la ruche dans la composition de leurs produits (Bacher, 2008).

En effet, profitant de l'essor de plus en plus important des médecines naturelles telles que l'apithérapie, les produits de la ruche s'inscrivent dans cette tendance, le plus souvent en complément des traitements conventionnels de certaines pathologies (Bruneau, 2002 ; Werner et Laccourreye, 2011).

Les chercheurs scientifiques ont démontré les multiples vertus des produits de la ruche: antibactériennes, antifongiques, antivirales,... à l'heure où la médecine moderne se trouve confrontée à divers problèmes (résistances aux antibiotiques, augmentation des dépenses de santé...). Toutefois ces recherches restent encore peu nombreuses ou incomplètes (Boukraa et *al.*, 2008)

L'objectif de la présente étude est de mettre en avant les produits de la ruche locaux (région de Chellata Akbou) et d'explorer le potentiel antibactérien des extraits éthanoliques de quatre produits à savoir : la gelée royale, le miel, le pollen et la propolis sur quelques souches bactériennes résistantes.



I. Généralités sur les produits de la ruche

Dans une colonie il y a 3 sortes d'abeilles : environ 50.000 ouvrières, 3000 mâles et 1 reine. Les ouvrières occupent, selon leur âge, toutes les fonctions de la ruche. Seules les ouvrières produisent et récoltent les produits de la ruche (Dennett, 2006).

I.1. Miel

Selon (Romi, 2001), le miel est défini comme étant la denrée produite par les abeilles "*Apis mellifera*" à partir du nectar de la plante ou à partir des sécrétions provenant des parties vivantes des plantes. Mais également à partir d'excrétions d'insectes butineurs laissées sur les parties vivantes de la plante. Le miel est une substance naturelle sucrée dont l'élaboration résulte d'un procédé complexe. Les abeilles brassent le nectar, récolté avec leurs pièces buccales et y ajoutent leurs sécrétions. Une fois transformé, prédigéré et déshumidifié, le miel est entreposé dans des alvéoles de cire fermées. Il est récolté, et extrait généralement par centrifugation, puis filtré et conditionné (Flurin, 2009).

Le miel est un aliment glucidique à haute valeur énergétique. Il est recommandé pour embellir la peau et soigner les blessures, et dans le traitement des plaies, de la fièvre, des ulcères et dans la préparation de pâtes médicinales. Mais encore pour l'amélioration de la vue, de l'activité sexuelle ou encore dans le traitement de la toux, des angines (Harper, 2010).

Il existe une diversité des miels dont la composition varie selon la variété. Les proportions des principaux constituants du miel sont reportées sur la figure suivante :

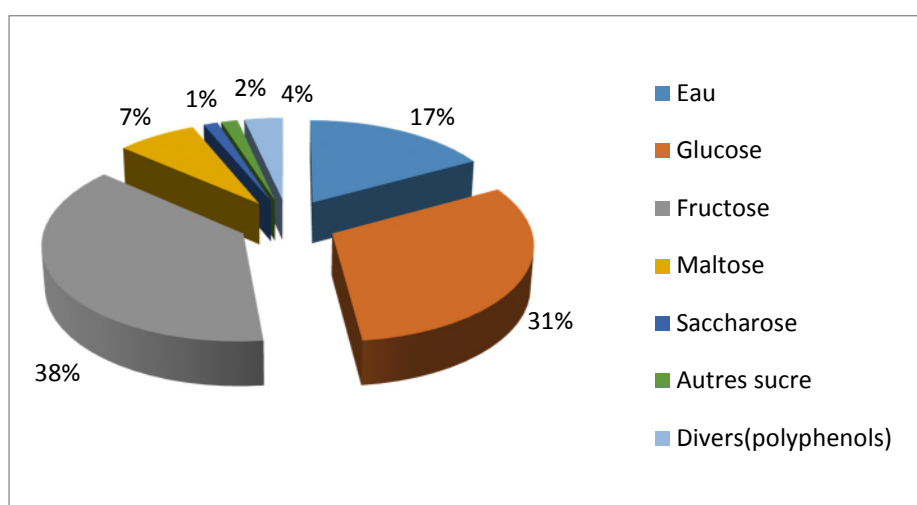


Figure 1: Composition générale du miel (Bruneau, 2002).



I.2. Gelée royale

Appelé également « lait maternel de l'abeille » c'est le produit de sécrétion des glandes hypo pharyngiennes qui se trouvent dans la tête des abeilles ouvrières. Nourriture exclusive des reines ou lors des 3 premiers jours de la vie larvaire des abeilles, la gelée royale, d'aspect visqueux, blanc crémeux à jaune doré pale, est sécrétée par les nourricières (Khenfer et al., 2001).

La gelée royale est prélevée directement dans les cellules royales, il convient de suivre un certain protocole pour une récolte importante. Le principe consiste à rendre la ruche orpheline en lui retirant sa reine, les ouvrières vont alors s'atteler à la remplacer et vont produire des cellules royales et des reines (Jan-Prost 2005).

Elle est traditionnellement utilisée pour traiter diverses maladies telles que le diabète, les douleurs articulaires, le stress, la fatigue physique et intellectuelle, l'hypertension artérielle, l'hépatite chronique, les troubles menstruels et l'infertilité...etc. (Philippe, 1999).

La variabilité de composition de la gelée royale (tableau 2) est moins importante que celle du miel. Elle est majoritairement composée d'eau et des glucides (Ravazzi, 2007).

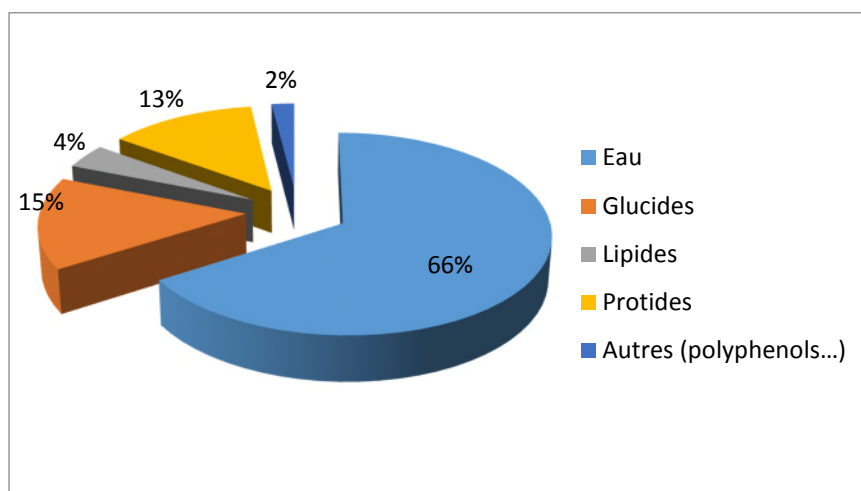


Figure 2: Composition générale de la gelée royale (Ravazzi, 2007).



I.3. Venin

Le venin est une sécrétion produite par les glandes à venin, stockée dans une poche spécifique et injectée au travers du dard lors de la piqûre. Seuls les individus femelles de la ruche en produisent (Clément, 2006). Le venin est un liquide translucide dont la composition varie en fonction du nectar et du pollen consommés, de l'âge et de l'espèce concernée (Domerego et Blanchard, 2007).

Le venin est récolté en faisant subir aux abeilles de légers électrochocs qui les incitent à piquer à travers une fine membrane en caoutchouc déposée sur une plaque de verre. Le venin est recueilli puis lyophilisé (Bruneau et *al.*, 2003; Rössler et *al.*, 2006). Il est bénéfique en cas de rhumatisme ; où il peut être injecté directement par piqûre d'abeille à l'endroit de la douleur ou appliqué sous forme de pommade. Des préparations au venin sous forme de poudres sont également efficaces dans le traitement du Zona, et de certaines éruptions cutanées et inflammations.

L'histogramme suivant résume la composition générale du venin :

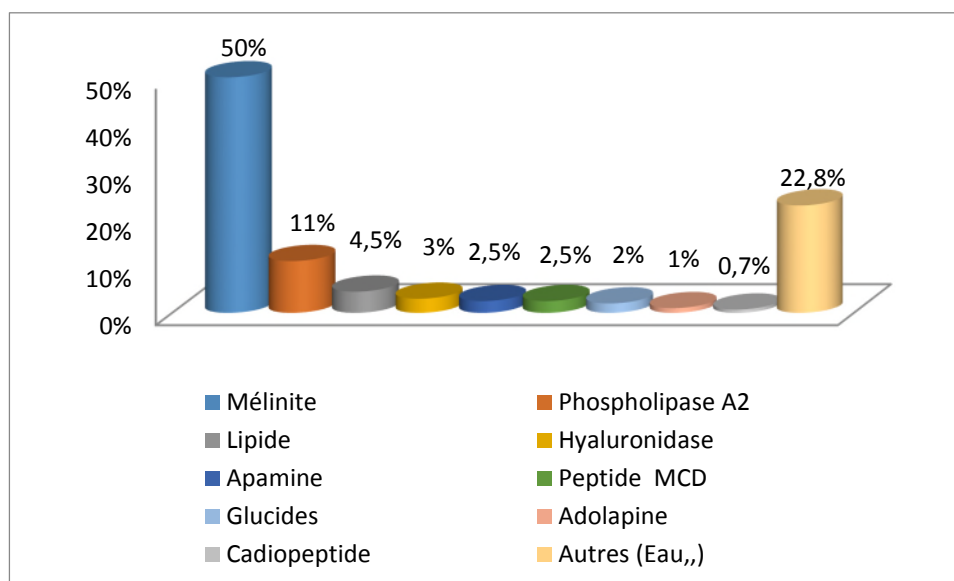


Figure3 : Composition générale du venin (Dennett, 2006) .

I.4. Propolis

La propolis est une substance résineuse élaborée à partir de la salive des abeilles et de la résine récoltée sur les bourgeons et les écorces d'arbres blessés. Elle est utilisée par l'abeille pour protéger sa ruche (Cherbuliez et Domerego, 2003). Elle devient friable en



dessous de 15°C, molle à haute température. Sa couleur est variable selon la situation géographique. Elle a une odeur spécifique, son goût est pimenté, et est très peu soluble dans l'eau, mais soluble dans l'alcool (Alphandéry, 2002).

Pour récolter la propolis, l'apiculteur pose dans la ruche une grille souple constituée de nombreux petits trous que l'abeille va combler. Il place ensuite la grille au réfrigérateur, la propolis devient cassante et se détache facilement (Cherbuliez et Domerego, 2003).

Elle est utilisée traditionnellement comme thérapeutique contre les atteintes respiratoires, oto-rhino-laryngologie, de la région buccale ou contre les dermatoses grâce à ses actions anti-inflammatoires, anesthésiantes, analgésiques, immuno-stimulatrices et cicatrisantes. Elle trouve aussi une application en médecine vétérinaire dans le traitement des plaies infectées ou encore dans le traitement de la fièvre aphteuse (Mathis et Caullery, 1941 ;Cherbuliez et Domerego, 2003).

L'histogramme suivant résume les proportions des composants de la propolis :

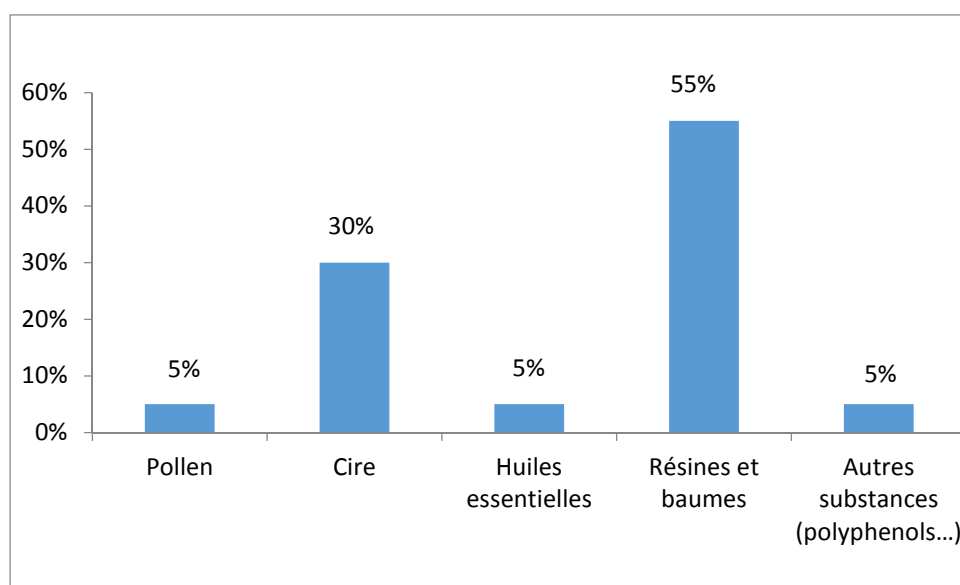


Figure 4: Composition générale de la propolis (Philippe, 1999).

La propolis est composée aussi de plus de 40 flavonoïdes, de composés phénoliques, d'aldéhydes aromatiques, d'acides gras aliphatiques, de sucres, d'acides aminés, d'oligo-éléments et de vitamine. On peut la trouver dans différents produits tels que ; des pommades, des emplâtres, des lotions ou de gaze (Caillas, 1964).



I.5. Pollen

Le pollen, petit élément sphérique ou ovoïde de taille oscillant entre 20 et 40 microns est contenu dans les sacs polliniques des anthères de la fleur. Il sert à féconder la partie femelle de la fleur et constitue les gamètes males dans le règne végétal (Gharbi, 2011).

L'abeille travaille les anthères de la fleur avec ses parties buccales pour en faire tomber les grains de pollen. Avec ses pattes elle brosse soigneusement son corps velu recouvert de pollen et le ramène à la ruche sous forme de pelotes (Paterson, 2008).

L'apiculteur récolte le pollen grâce à une trappe à pollen qu'il dispose à l'entrée de la ruche. Cette récolte doit se faire lors des périodes où la reine pond le moins pour maintenir la croissance du couvain (Gadner et *al.*, 2008).

L'utilisation médicale de pollen est reconnue au début de moyen âge, il est utilisé dans le traitement des affections chroniques de la prostate, les maladies cardiaques et troubles gastriques. Il protège également les effets néfastes des rayons X (Harper, 2010).

La composition du pollen (figure 5), varie fortement en fonction de l'origine florale.

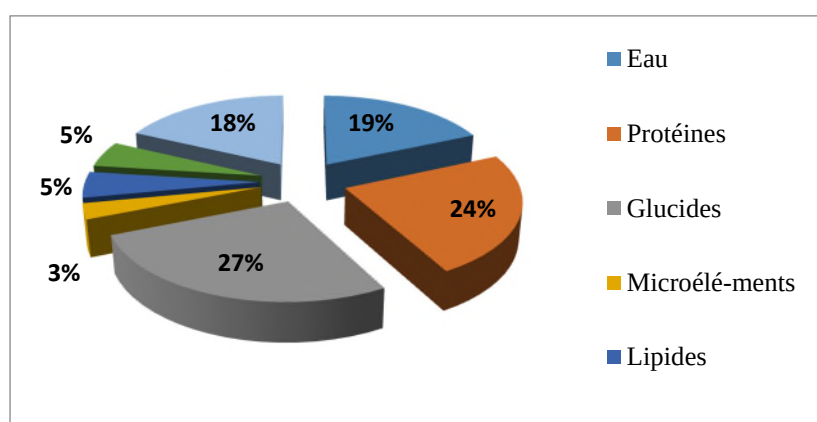


Figure 5 : Composition générale du pollen (Rossant, 2011).

I.6. Cire

La cire est une matière molle, jaunâtre et fusible produite par glandes cirières des ouvrières âgées d'environ deux semaines qui sont situées sur la face ventrale de l'abdomen de l'abeille (Gharbi, 2011). Elle est fabriquée à partir du miel par la réduction chimique des sucres et en utilisant les protéines du pollen (Gekker et *al.*, 2005).

La cire est utilisée en médecine pour traiter les brûlures, les plaies et pour des soins de



la peau, sous forme de préparations comme les emplâtres. Elle est aussi utilisée pour le traitement des amygdalites purulentes par application sur la nuque (Alphandéry, 2002).

La cire présente une composition plus complexe que les autres produits (figure 6).

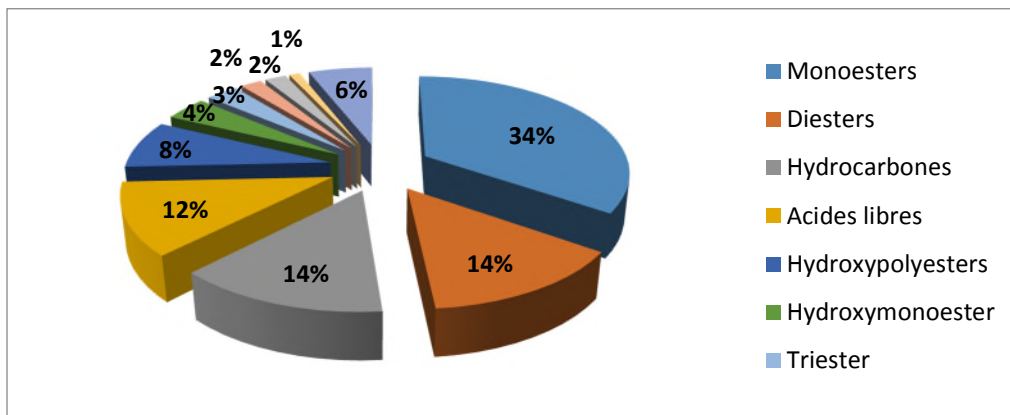


Figure 6: Composition générale de la cire (Clément, 2011).

II. Propriétés biologiques des produits de la ruche

II.1 Miel

Le miel possède en plus de ses activités énergétiques et nutritionnelles une action cicatrisante et désinfectante, il peut aider la plaie à se refermer (Dumbrava et al., 2013). Il présente une action dynamisante, apéritive, antioxydante (par le bêta-carotène, les polyphénols...) (Viuda-Martos et al., 2008). En concentration suffisamment importante, les flavonoïdes du miel réduiraient l'état inflammatoire et permettraient ainsi de soulager les patients souffrant de brûlures, plaies...etc (Erejuwa et al., 2012). Des études ont montré des activités antifongiques contre *Candida albicans*, *Candida glabrata*, *Candida krusei* et *Trichosporon sp* (Shenoy et al., 2012), ainsi que des activités antivirales contre l'herpès simplex de type 1 et de type 2 sur les lésions, notamment grâce aux flavonoïdes (Amoros et al., 1992) et au monoxyde d'azote (Cavia et al., 2007) contenus dans certains miels.

L'activité antibactérienne du miel a été signalée pour la première fois en 1892 sur certains bactéries telles que *Salmonella Typhi*, *Salmonella Paratyphi*, et *Staphylococcus aureus* (Cortopassi-Laurino et Gelli, 1991). Leurs effets antibactériens sont dus aux différentes substances qui varient, selon l'origine botanique (Cooper et al., 1999). Tous les miels n'ont pas la même activité antibactérienne, mais il présente de manière générale une



activité envers des espèces bactériennes aérobies et les anaérobies, aussi bien Gram(+) que Gram(−) (Ahmadi–Motamayel et *al.*, 2013). Quatre facteurs sont largement mis en avant pour expliquer cette action antibactérienne à savoir : l’osmolarité, le pH acide, le peroxyde d’hydrogène, et le système non-peroxyde. Cependant, le principal agent responsable de cette activité est le peroxyde d’hydrogène, formé après l’oxydation du glucose par la glucose-oxydase, durant la maturation du miel (Avisse, 2014).

II.2. Propolis

La propolis possède des propriétés anesthésiantes locales dues aux huiles essentielles ou encore des propriétés cicatrisantes (Donadieu, 1993). Elle lutte aussi contre les caries dentaires, les gingivites et réduit l’inflammation (Mossalayi et *al.*, 2014). La propolis présente également une action antivirale contre le poliovirus, les virus de type Herpes et VIH grâce à la présence de flavonoïdes et de composés aromatiques (galangine, pinocembrine...) (Gekker et *al.*, 2005). Elle inhibe aussi le développement des champignons pathogènes tels que : *Candida albicans*, *Trichophyton rubrum* ou encore *Microsporum canis* (Hegazi et *al.*, 2000). Elle est également connue pour ses actions anti-oxydantes dues en partie aux flavonoïdes Inouye et *al.*, (2011) ;(Chen et *al.*, 2012) ont rapporté des actions antiparasitaires (contre la toxoplasmose) et une activité anticancéreuse *in vivo* sur les animaux.

La propolis a un spectre antibactérien très large grâce à sa composition en flavonoïdes (pinocembrine, galangine) et acides aromatiques (acide caféique et acide férulique) (Búfalo et *al.*, 2013) qui empêcheraient la division bactérienne. Des études ont mis en évidence une synergie avec la pénicilline et la streptomycine, contre les Gram positifs, tels que *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus*, *Paenibacillus alvei* (Trusheva et *al.*, 2010), ou encore sur les Gram négatifs comme les salmonelles, *Proteus mirabilis* ou *Helicobacter*. En revanche, une faible activité de la propolis a été constatée sur *E. coli* et les *Pseudomonas* (Ghedira et *al.*, 2009).

II.3. Gelée royale

La gelée royale présente de nombreuses propriétés biologiques et thérapeutiques. Elle possède des propriétés anti-tumorales grâce à l’acide hydroxytransdecenoïque (Fujiwara,1990), mais également une activité antivirale, utile dans les traitements des hépatites et des gripes (Boukaraa, 2008). Sa richesse en antioxydants aide à lutter contre



Le vieillissement cellulaire, en favorisant l'oxygénation des tissus, par les composés polyphénoliques qu'elle contient (Caillas, 1964) . Cette substance possède aussi une action anti-inflammatoire qui découle de l'inhibition de la production des cytokines pro-inflammatoires (Ncube et *al.*, 2008). Elle présente aussi une activité inhibitrice sur des champignons tels que *Candida albicans*, *C. glabrata*, *C. krusei* et *Trichosporon* spp (Boukaraa, 2008).

Des études ont montré que la gelée royale possède une activité antibactérienne. En effet, elle inhibe certaines bactéries Gram (+) et Gram (-). Cette activité est due en majorité à la présence d'un acide gras; l'acide trans-10-hydroxy-2-décénoïque, des protéines et des peptides qui sont actifs sur différentes bactéries: *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus* (Genç et Aslan, 1999 ; Bărnăuțiu et *al.*, 2011).

II.4. Pollen

Le pollen exhibe une action protectrice contre les radicaux libres, causes de nombreuses maladies cardio-vasculaires et de cancers, grâce aux différentes vitamines qu'il contient et ses divers flavonoïdes (Pierson et *al.*, 1995), il exerce aussi une action antifongique contre *Candida glabrata* (Fatrcová-Šramková et *al.*, 2013). Il présente, également un pouvoir antioxydant et anti-inflammatoire important, grâce à sa composition en flavonoïdes principalement (Pascoal et *al.*, 2014).

Certaines études ont démontré que le pollen inhibe la croissance des souches d'*Escherichia coli*, de *Staphylococcus aureus*, de *Pseudomonas aeruginosa* et bien d'autres micro-organismes pathogènes (Pascoal et *al.*, 2014).

II.5. Cire

La cire a peu de propriétés thérapeutiques connues. Cependant, c'est une matière première fréquemment ajoutée à la formulation de nombreux produits (Hussein, 2001).

Alemáan et *al.*, (1998) ont démontré que la cire a un effet protecteur contre les ulcères d'estomacs. Elle présente aussi des propriétés anti-inflammatoires et cicatrisantes, avec des propriétés anti-oxydantes et antibiotiques. Elle est appliquée par les abeilles sur les alvéoles pour protéger la colonie des infections fongiques et/ou bactériennes (Begon, 1978).



II.6. Venin

Le venin d'abeille est connu pour ses propriétés anti-inflammatoires essentiellement dans les maladies articulaires grâce à la phospholipase A2, l'apamine (Durban et *al.*, 2013). Il possède aussi des propriétés anticancéreuses, et antiparasitaires contre *Trypanosoma cruzi* (Adade et *al.*, 2012). Il présente aussi une action antivirale qui empêcherait la fixation de certains virus (notamment le virus de l'herpès simplex de type 1) et leur pénétration (Gharbi, 2011).

Plusieurs études ont montré que le venin présente une activité antibactérienne grâce sa composition majeure en mellitine et la phospholipase A2 qui désorganisent les membranes cellulaires par la formation des pores, action plutôt dirigée vers des bactéries à Gram négatif. (Lazarev et *al.*, 2011). On peut citer une efficacité sur *Borrelia burgdoferi*, responsable de la maladie de Lyme. Des études *in vivo* sur des souris ont montré une activité contre *Mycoplasma hominis* (responsables d'infections uro-génitales) (Lazarev et *al.*, 2011).



I. Matériel et méthodes

Notre expérimentation a été réalisée au niveau du laboratoire Microbiologie de l'université d'Abderrahmane Mira de Bejaia. Cette étude consiste à tester l'activité antibactérienne de quelques échantillons des produits de la ruche.

I.1. Origine des échantillons

Les échantillons des produits de la ruche sont au nombre de quatre (tableau I), récoltés durant l'année 2017 dans la région (Chelatta, Akbou) et offerts par les apiculteurs.

L'ensemble des échantillons (figure 07) ont été déposés dans des flacons en verre bien fermés et enrobés avec du papier aluminium pour assurer l'obscurité, puis transportés et conservés au réfrigérateur.

Tableau I: Description des échantillons collectés.

Echantillons	Etat	Couleur	Poids (g)
Miel	Cristallisé	Marron	250
Gelée royale	Gélatineuse	Blanche	10
Propolis	Poudre	Marron	150
Pollen	Solide	Jaune	150



Figure 7: Echantillons des produits de la ruche analysés.



I.2. Extraction des composés phénoliques

Les composés phénoliques totaux des produits de la ruche (miel, gelée royale, propolis, pollen) ont été extraits en utilisant comme solvant l'éthanol absolu qui permet l'extraction d'un maximum de composants biologiquement actifs et l'obtention des polyphénols (Cunha *et al.*, 2004; Medana *et al.*, 2008)

Une quantité de 6g de chaque produit a été mélangée avec 300ml de solvant d'extraction. Après 4 heures de macération à température ambiante sous agitation légère et constante, les extraits ont été laissés à 4°C pendant 24 heures, puis filtrés sur papier wattman. Le solvant a été évaporé sous une hotte chimique. Les extraits secs destinés aux tests microbiologiques ont été récupérés avec le DMSO (Dimethyl Sulfoxyde). Les extraits ainsi obtenus, ont été conservés à 4°C dans des flacons en verre bien fermés et conservés à l'abri de la lumière.

I.3. Dosages des Composés phénoliques totaux

- **Principe**

Le réactif de Folin-Ciocalteu, mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$), oxyde les composés phénoliques; les oxydes métalliques produits sont de couleur bleue, dont l'absorbance est proportionnelle à la quantité de polyphénols présents dans l'échantillon (Boizot et Charpentier, 2006).

- **Mode opératoire**

La teneur en composés phénoliques est estimée selon la méthode de (Kähkönen *et al.*, 1999). Un volume de 1 ml du réactif de Folin-Ciocalteu est ajouté à 0,2 ml d'extrait. Après 3 minutes, 0,8 ml de la solution de carbonate de sodium (7,5%) sont ajoutés. Après 1 heure d'incubation, l'absorbance est mesurée à 740 nm. La concentration en composés phénoliques des extraits, exprimée en gramme équivalent acide gallique par 100 g de matière sèche, est déterminée en se référant à la droite d'étalonnage (annexe I).



I.4. Evaluation de l'activité antibactérienne

I.4.1. Souches testées

Pour cette activité, six souches ont été utilisées dont trois à Gram positif à savoir *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *SARM RMA34*, et trois autres à Gram négatif à savoir *Escherichia coli* pAmpc S159, *Pseudomonas aeruginosa* ViM P510, *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588.

L'ensemble de ces souches appartiennent à la collection du Laboratoire d'écologie Microbienne (LEM) de l'université de Bejaia.

I.4.2. Réisolement des souches

Les souches conservées sont repiquées sur le milieu Muller Hinton. Le milieu de cultureensemencé est incubé à l'étuve à 37° C pendant 18-24 heures.

I.4.3. Préparation de la suspension bactérienne

Trois à cinq colonies bien isolées issues d'une culture de 18-24 heures sont dissociées dans 3 ml d'eau physiologique suivi d'une agitation à l'aide d'un Vortex.

I.4.4. Aromatogramme

L'activité antibactérienne a été évaluée pour les produits purs et les extraits éthanoliques obtenus à différentes concentrations, en utilisant la technique de diffusion en milieu gélosé (Mueller Hinton) par deux méthodes. Deux essais ont été réalisés pour chaque test d'activité.

I.4.4.1. Méthode des disques

C'est une méthode de mesure *in vitro* du pouvoir antibactérien sur milieu gélosé à l'agar (MH) réalisée dans une boîte de Pétri. Le contact se fait par l'intermédiaire d'un disque de papier Wattman (Bauer et *al.*, 1966).



Les antibiotiques habituellement testés existent sous forme de disques de 6 mm de diamètre. Pour reproduire les mêmes conditions, nous avons utilisé le papier Wattman coupé en disques (6 mm) avec un contour régulier pour donner une zone d'inhibition facile à mesurer. Les disques ont été autoclavés 20 minutes à 120°C.

Dans chaque boîte de Pétri préalablementensemencée, six de ces disques ont été disposés. Cinq ont été chargé par 5 µl des extraits éthanolique à tester à différentes concentration (5, 15, 25, 50, 60 mg/ml), le dernier à été chargé d'un même volume de DMSO (témoin négatif). Un témoin positif (antibiotique GM) a été déposé au centre de la boîte.

Les boîtes obtenues ont été laissées pour diffuser pendant 2 heures à 4°C. Elles sont ensuite incubées à l'étuve pendant 18-24h à 37°C. Les diamètres des zones d'inhibition ont été mesurés par un pied à coulisse.

I.4.4.2. Méthode des puits

Le protocole suivi est celui dicté par Adwan et *al*, 2004. Dans chaque boîteensemencée, six puits (environ 6mm) ont été creusés dans la gélose à l'aide de la partie supérieure d'une pipette Pasteur dans lequel sera coulée une petite quantité de gélose au fond du puits. Chaque puits recevra un volume de 50µl de chaque produit à différentes concentrations (5, 15, 25, 50, 60 mg/ml). Un puits recevra 50µl de DMSO (témoin négatif). Un antibiotique (GM) a été déposé au centre de la boîte.

L'incubation est effectuée à 37°C pendant 18 à 24 h après une période de diffusion de 2h à 4°C.

Pour ces deux techniques, la sensibilité du germe testé a été évaluée selon le diamètre de la zone d'inhibition obtenue. En effet, la sensibilité d'un germe est nulle pour un diamètre inférieur ou égal à 8 mm. Elle est limitée pour un diamètre compris entre 8 et 14 mm, et moyenne pour un diamètre entre 14 et 20 mm. Pour un diamètre supérieur ou égal à 20 mm le germe est très sensible (Durauffourd et *al.*, 1990).

Pour déterminer le pouvoir antibactérien du miel pur, nous avons opté pour la méthode de dilution en milieu solide (Dold et Witzenhausen, 1955), cette technique consiste à dissoudre 3g de miel dans 17ml de gélose MH lors de la préparation du milieu. Les boîtes préalablementensemencées sont incubées 24h à 37°C.



I.5. Etude de la synergie

I.5.1. Synergie extrait éthanolique pollen/propolis

Les extraits qui ont présenté les effets antibactériens les plus importants ont fait l'objet de tests de synergie. Les extraits éthanoliques (pollen/propolis) ont été mélangés à différentes volumes ($V_{\mu l} / V_{\mu l}$) (20/80, 80/20, 50/50, 90/10, 10/90) puis testés sur quatre souches : *Acinetobacter boumannii* VEB-1 ATCC A131107588, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *SARM RMA34* et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 par la méthode des disques sur milieu MH. Les boîtes sont laissées pendant 2 heures à 4°C, puis incubées à l'étuve pendant 18-24h à 37°C.

I.5.2. Synergie extraits /antibiotiques

Les mêmes extraits actifs ont fait l'objet de l'étude de la synergie avec un antibiotique (gentamicine) sur les mêmes souches bactériennes. Le disque d'antibiotique déposé sur le milieuensemencé, a été imbibé par 5 μ l de chaque extrait éthanolique concentré à 100mg/ml pour la propolis et 88mg/ml pour le pollen. Les boîtes sont laissées pendant 2 heures à 4°C, puis incubées à l'étuve pendant 18-24h à 37°C.

I.6. Détermination de l'activité bactéricide ou bactériostatique

La nature de l'activité de chacun des produits testés a été déterminée par la méthode de Pibiri, (2003). À partir des aromagrammes de 24 h, les zones translucides entourant les disques ont été repiquées à l'aide d'une anse stérile dans des tubes à essai contenant le milieu nutritif. Les tubes ont été par la suite incubés à 37°C, puis observés après 24 h puis 48H.

Un test de confirmation a été réalisé pour les tubes ne présentant aucun trouble ; un deuxième repiquage a été effectué sur MH (en stries). Au bout de 24 h d'incubation à 37°C, l'absence de développement bactérien confirme l'effet bactéricide.



I.7. Détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée en utilisant la méthode de diffusion (disques) en milieu gélosé (Mueller Hinton) décrite plus haut.

Une série de dilutions de 1/2 ,1/4, 1/8, 1/16, est réalisée pour la plus faible concentration des extraits ayant présentés une activité antibactérienne (5mg/ml pour la propolis et 25mg/ml pour le pollen).



I. Résultat et discussion

I.1. Extractions éthanoliques

Une extraction est réalisée avec un solvant (éthanol) qui entre dans la composition de plusieurs préparations thérapeutiques (Park et *al.*, 1998). Son efficacité dans l'étude de l'activité antibactérienne est confirmée (Rhajaoui et *al.*, 2001; Park et *al.*, 2002). Il s'évapore facilement et solubilise les composants actifs des produits (Krell, 1996).

I.2. Détermination du taux d'extraction

Le rendement de l'extraction éthanolique est déterminé par le calcul de la différence entre le poids de boîte de Pétri et le poids de boîte Pétri vide. Le pourcentage d'extraction est calculé comme suit :

$$\text{Taux d'extraction (\%)} = [(P_1 - P_0)/E] 100$$

P_0 : Poids boîte Pétri vide (g)

P_1 : Poids de boîte de pétri après évaporation du solvant(g)

E : Poids de l'échantillon initial (g)

Le taux de rendement ainsi que les concentrations finales de l'extraction sont rapportés dans le tableau suivant :

Tableau II: Taux d'extraction et concentration obtenues.

Produits	poids de l'extrait sec (g)	Volume (ml)	Rendement (%)	Concentration obtenue (mg/ml)
Miel	4.45	21	74,1	210
Propolis	2.65	25	44,1	100
Pollen	3.05	34.5	50,8	88
Gelée royale	1.26	21	21	60



I.3 .Teneurs en polyphénols

Les résultats du dosage des composés phénoliques totaux des extraits éthanoliques des quatre produits de la ruche ont été exprimées en g d'équivalent acide gallique par 100g de l'extrait éthanolique de chaque produits (g EAG/100g). Les teneurs en polyphénols totaux sont illustrées dans la figure (08)

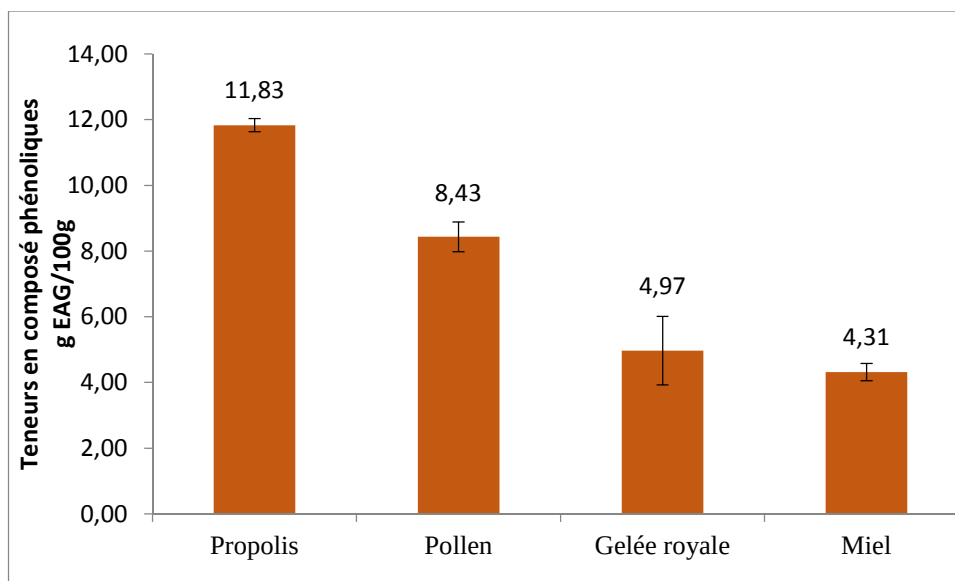


Figure 8: Teneurs en composés phénoliques des différents extraits éthanoliques.

La propolis présente la teneur la plus élevée en composés phénoliques (11,83g EAG/100g), suivie par le pollen (8,43g EAG/100g). La gelée royale et le miel possèdent des teneurs relativement faibles en ces composés avec 4,97g EAG/100g et 4,31 g EAG/100g, respectivement.

Mouhoubi-Tafinine et *al.*, (2016), ont rapporté des teneurs en composés phénoliques de la propolis (5,351g EAG/100g) inférieures à celles obtenus dans notre étude. De même Blanc et *al.* (2009), ont rapporté des teneurs en polyphénols du pollen (2,938 g EAG/100g) moins importantes que celles obtenues. Ces variations dans les teneurs en composés phénoliques seraient en relation avec l'origine botanique et l'année de récolte (Hegazi 2000).

(Nabas et al., 2014), ont démontré que les faibles teneurs aux polyphénols contenues dans la gelée royale seraient dues à la teneur en eau qu'est très élevée, une grande partie des polyphénols seront ainsi dégradés à cause des réactions chimiques enzymatiques et bactériennes.



Des valeurs de polyphénols plus importantes ont été rapportées par Ouchemoukh et al., (2007). Cette variation prouve que le taux en polyphénols varie en fonction de la source florale du miel, ainsi que des conditions climatiques et géographiques.

I.4. Activités antibacteriennes

Les résultats de l'activité antibacterienne sont exprimés par la mesure des diamètres des zones d'inhibition obtenues (mm).

I.4.1. Aromatogrammes

I.4.1.1.Méthode des disques

a .Propolis

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques à différentes concentrations sur les souches bactériennes sont reportés sur le tableau suivant :

Tableau III: Résultats de l'aromatogramme de l'extrait éthanolique de la propolis.

Concentrations mg/ml	<i>E.coli</i> PAmpc S159	<i>S.aueus</i> ATCC 29213	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	<i>P.aeruginosa</i> ViM P510	SARM RMA34	<i>A.baumannii</i> VEB-1 ATTCC A131107588
Pur (100)	-	17,5±0,70	21,0±1,41	-	16,0±1,41	7,0±0
5	-	14,5±0,70	17,0±0	-	12,5±0,70	8,0±0
15	-	17,0±1,41	18,5±0,70	-	14,5±0,70	8,5±0,70
25	-	18,0±1,41	19,0±0	-	15,0±0,70	9,5±0,70
50	-	20,0±0,70	20,5±0,70	-	17,0±0,70	11,5±0,70
60	-	20,0±2,82	20,0±0	-	18,0±0,70	11,0±1,41

(-) absence de zones d'inhibition.

Les résultats obtenus montrent des effets antibactériens importants des extraits éthanoliques de la propolis sur quatre des six souches testées. Les diamètres des zones d'inhibition obtenus sont proportionnels aux concentrations des extraits utilisés. Les meilleures zones d'inhibition ont été constatées sur *S.aueus* ATCC 29213 et *B.subtilis* ATCC 6633 (figure 9, 10, 11). La zone d'inhibition la plus importante (21,0±1,41mm)



a été obtenue sur *B.subtilis* ATCC 6633 avec la concentration de 100mg/ml, alors qu'elle a produit la plus faible zone d'inhibition (7mm) sur *A.baumannii* VEB-1 ATTCC A131107588. Les diamètres obtenus indiquent que certains composés actifs de la propolis sont solubles dans l'éthanol. Cette activité serait le résultat de l'action des polyphénols présents en grandes concentrations dans certains produits de la ruche telle que démontré par Kujumgiev et *al.*, 1999 et Rhajaoui et *al.*, 2001.

Aucune activité n'a été constatée sur *E.coli* PAMpc S159 et *P.aeruginosa* ViM P510 contrairement aux résultats rapportés par Sanpa et *al.*, (2012) et Adomavičiūtė et *al.*, (2017). En effet, la composition de la propolis varie selon la localisation géographique, les conditions climatiques, la période de récolte et le type de l'abeille productrice, ce qui pourrait affecter ses propriétés biologiques notamment antimicrobiennes (Hegazi et *al.*, 2000).

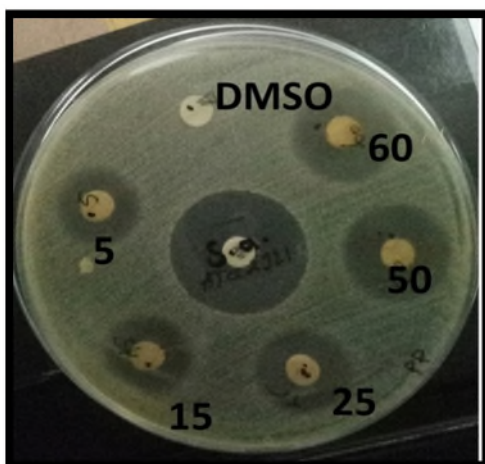


Figure 9: Activité antibactérienne sur *S.aureus* ATCC 29213

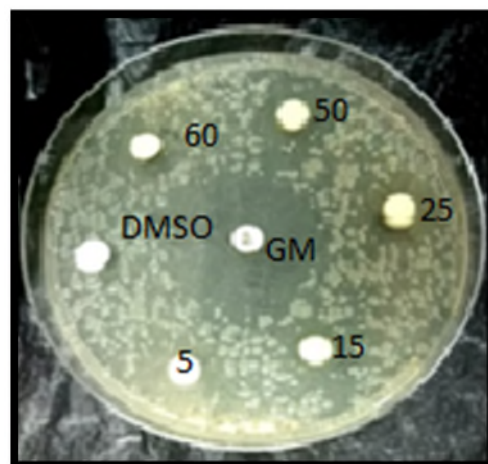


Figure 10: Activité antibactérienne sur *B.subtilis* ATCC 6633

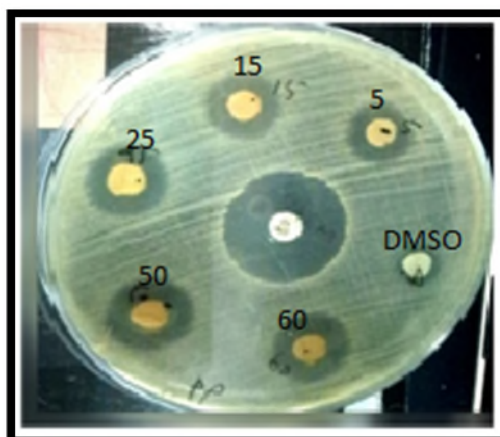


Figure 9: Activité antibactérienne sur SARM RMA34



b .Pollen

Le tableau IV présente les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques du pollen à différentes concentrations vis-à-vis des six souches testées.

Tableau IV: Résultats d'aromatogramme de l'extrait éthanolique du pollen.

Concentrations mg/ml	<i>E.coli</i> <i>PAmpc</i> <i>S159</i>	<i>S.aueus</i> <i>ATCC</i> <i>29213</i>	<i>B. subtilis</i> <i>ATCC</i> <i>6633</i>	<i>P.aeruginosa</i> <i>ViM P510</i>	<i>SARM</i> <i>RMA34</i>	<i>A.baumannii</i> <i>VEB-1 ATCC</i> <i>A131107588</i>
Pur(88)	-	8,0±0	18,0±0	-	10,0±0,70	-
5	-	7,0±0,40	11,50±0,70	-	8,0±0,70	-
15	-	8,0±1,41	14,0±1,41	-	8,0±0	-
25	-	10,50±0,70	15,50±0,70	-	8.50±0,70	-
50	-	12 ,0±0,50	13,50±0,70	-	10.0±0,70	-
60	-	11 ,0±0,41	11,0±1 ,41	-	9.0±0,41	-

(-) absence de zones d'inhibition

L'effet inhibiteur le plus fort a été constaté sur *B.subtilis* ATCC 6633 avec l'extrait éthanolique pur concentré à 88mg/ml avec une zone d'inhibition de 18,0±0 mm, suivi par *S.aueus* ATCC 29213, *SARM* RMA34, *A.boumannii* VEB-1 ATCC A131107588 avec des zones d'inhibition variant entre 8 et 12mm (Figure 12 ,13). Selon Pierson et *al.*,(1995). Cette différence de sensibilité serait liée aux différents composés phénoliques qu'ils contiennent. Cependant, aucun halo d'inhibition n'est obtenu avec *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ViM P510, contrairement à Lavie, (1960) qui a rapporté que l'extrait éthanolique du pollen possède une activité sur *E. coli*. Cette différence de résultats reviendrait à l'origine florale du pollen mais également à son utilisation par les abeilles ce qui lui confère une, plus ou moins, grande activité antimicrobienne.

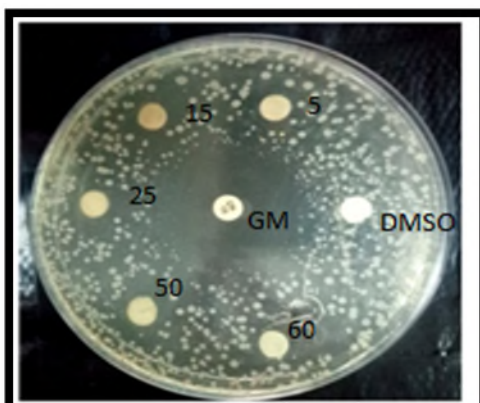


Figure 11: Avtivité antibacterienne sur *B.subtilis* ATCC 6633

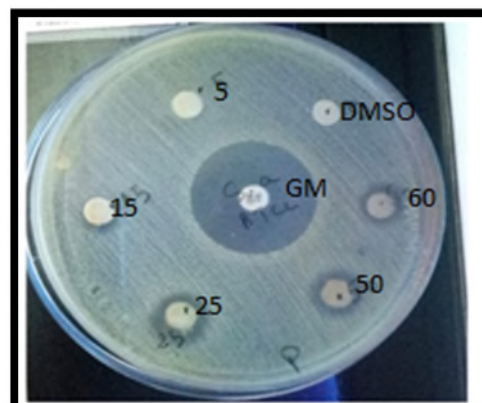


Figure 10: Activité antibacterienne sur *S.aureus* ATCC 29213



c .Gelée royale

Les résultats obtenus montrent que l'extrait éthanolique de la gelée royale ne possède aucune activité antibactérienne sur les six souches testées, ceci pourrait être en rapport avec leurs compositions phénoliques (faibles teneurs). En effet Genç et Aslan, (1999) ont démontré que l'activité antibactérienne de la gelée royale est due à d'autres composés autres que les polyphénols. Pour confirmer cette activité, nous avons testé le produit pur sur les différentes souches par des spots à la surface de la gélose Muller Hinton. Aucune activité n'a été obtenue par cette méthode.

d .Miel

L'ensemble des souches étudiées présentent une résistance à toutes les concentrations de l'extrait éthanolique du miel testé. En effet, Donadieu, (1978) et ouchemoukh,(2012) ont rapporté que les miels possèdent en général des propriétés communes, mais chacun se caractérise par des propriétés thérapeutiques propres. Ces dernières sont dépendants de plusieurs facteurs à savoir ; la composition, la nature du miel, l'âge de l'abeille, la nature et l'origine des fleurs, le climat, la saison de l'élevage et le mode d'extraction de miel. Aljadi et Kamaruddin, (2004) ont démontré que les composés phénoliques interviennent faiblement dans le processus antibactérien du miel, ce qu'est en accord avec les travaux de (Efem, 1988) qui a démontré que l'activité antibactérienne du miel serait due au pH, à l'effet osmotique, au peroxyde d'hydrogène, ou à la présence d'inhibine.

Les résultats obtenus par la méthode de dilution sur gélose montrent une absence de prolifération des souches *S.aureuse* ATCC 29213, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *SARM RMA34* par contre *Acinetobacter baumannii* VEB-1 ATCC A131107588, *Escherichia.coli* PAmpc S159, et *Pseudomonas aeruginosa* ViM P510 se sont développées dans ce milieu riche en miel, ce qui démontre que le miel pur possède une activité contre les Gram positif essentiellement Ceci peut être attribué à la différence de la structure membranaire ; la paroi cellulaire des bactéries à Gram (+) et à Gram (-). Ce résultat concorde avec celui de (Guillon, 1996) rapportant une action inhibitrice du miel pur sur *S.aureus* ATCC 29213, *SARM RMA34*, en suivant le même protocole.



I.4.1.2. Méthode des puits

L'effet antibactérien des extraits éthanoliques de quatre produits de la ruche sont étudiées sur six souches bactériennes en utilisant 50µl d'extrait.

Tableau V: Résultat de l'aromatogramme de l'extrait éthanolique des quatre produits.

Produits/Bactéries	Dilution	<i>E.coli</i> <i>P</i> Ampc <i>S</i> 159	<i>S.aueus</i> <i>ATCC</i> 29213	<i>B.subtilis</i> <i>ATCC</i> 6633	<i>P.aeruginosa</i> <i>ViM</i> P510	<i>SARM</i> <i>RMA34</i>	<i>A.baumannii</i> <i>VEB-1 ATCC</i> <i>A131107588</i>
Propolis	5	-	12,5±0,70	-	-	10,5±0,70	-
	15	-	14,5±0,70	-	-	11±0	-
	25	-	16,0±0	-	-	12,5±0,70	-
	50	-	16,0±0	-	-	14±0	-
	60	-	17,0±0	-	-	15±0	-
Pollen	5	-	12,5±0,70	-	-	7±0	-
	15	-	14,5±0,70	-	-	7±0	-
	25	-	16,0±0	-	-	7±0	-
	50	-	16,0±0	-	-	12,5±0,70	-
	60	-	17,0±0	-	-	13±0	-
Miel	5	-	-	-	-	-	-
	15	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-
Gelée royale	5	-	-	-	-	-	-
	15	-	-	-	-	-	-
	25	-	-	-	-	-	-
	50	-	-	-	-	-	-
	60	-	-	-	-	-	-

(-) absence de zones d'inhibition.

Les résultats relatifs à l'activité antibactérienne des différentes concentrations des extraits éthanoliques sur les six souches bactériennes testées, sont représentés dans le tableau (V) et illustrés par les figures (14 ,15). Les extraits éthanoliques du pollen et de la propolis possèdent un effet antibactérien sur *S.aureus ATCC 29213* avec une meilleure zone d'inhibition (17mm) à une concentration de 60mg/ml, et une activité sur *SARM RMA34* dont les meilleures zones d'inhibition étaient de 13mm pour l'extrait de pollen et 15mm pour extrait de la propolis concentrés à 60mg/ml. Par contre *E. coli PAmpc S159*, *A.baumannii VEB- ATTCC A131107588*, *B.subtilis ATCC 6633* et *P.aeruginosa ViM PAmpc S159* étaient résistantes pour les extraits éthanoliques de ces deux produits.



Cependant aucun halo d'inhibition n'a été obtenu pour l'ensemble des extraits éthanoliques du miel et de la gelée royale sur les souches testées quelque soit la concentration.

En comparant ces résultats à ceux obtenus par la méthode des disques (voir tableaux III et IV), nous remarquons une faible zone d'inhibition obtenue avec les souches *S.aureus* ATCC 29213 et *SARM* RMA34 et une absence des zones d'inhibition avec les autres souches testées. L'évaluation de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques par la méthode des puits, n'a pas donné un résultat significatif. Cela est probablement lié à une faible diffusion de ces produits en milieu solide.



Figure 13: Activité antibactérienne de la propolis sur *SARM* RMA34

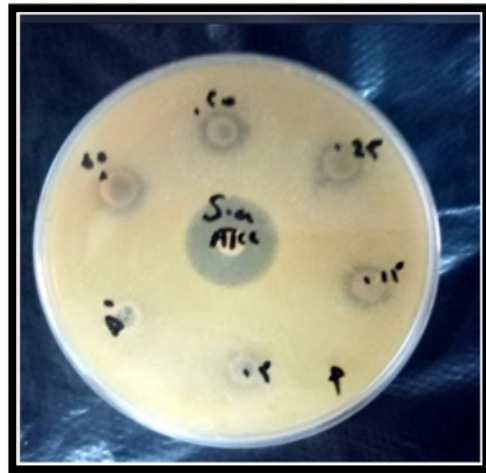


Figure 12: Activité antibactérienne du pollen sur *S.aureus* ATCC 29213

Vu la résistance des souches testées aux extraits éthanoliques de la gelée royale, l'effet antibactérien de la gelée royale pure a été testé tel que fait par Manfredi et Chiodo (2000) et Horn et Hammes, (2002). Les résultats obtenus ont montré un effet antibactérien sur *S.aureus* ATCC 29213, *SARM* RMA34 et *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec des diamètres d'inhibition de 23mm, 21 et 20mm respectivement (figure 17 et 18) et absence d'activité sur *E. coli* PAMpc S159, *P.aeruginosa* ViM P510 et *A.baumannii* VEB-1 ATCC A131107588.



Selon Barnuti et *al.* 2011, l'effet antibactérien majeur de la gelée royale est attribué à une particulière 10-carbone molécule d'acide gras (acide 10-hydroxy-décénoïque).

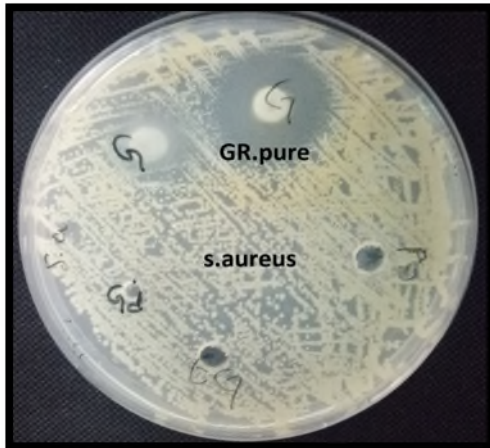


Figure 14: Activité antibactérienne de la gelée royale sur *S.aureus* ATCC29213.

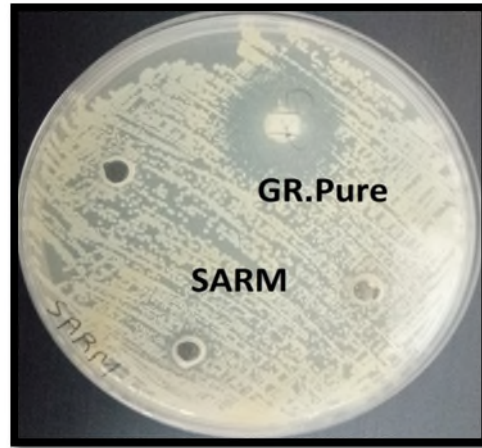


Figure 15: Activité antibactérienne de la gelée royale sur *SARM* RMA34.

I.5. Etude de la synergie

La synergie est l'amélioration de l'activité individuelle de deux composés différents une fois combinés. Si la combinaison entraîne un effet détérioré, on parlera alors d'antagonisme. L'effet moins synergique mais non antagoniste est appelé addition ou indifférence (Rani et al., 2009).

I.5.1. Synergie extraits /antibiotiques

Chaque extrait éthanolique du pollen et de propolis a été combiné avec l'antibiotique (gentamicine), pour déterminer la capacité éventuelle des deux extraits éthanoliques à augmenter l'effet antibactérien. L'antibiotique testé a inhibé les souches *S.aureus* ATCC 29213, *SARM* RMA34, *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec des zones d'inhibitions de 21mm, 20mm et 18mm, respectivement.



Tableau VI : Synergie entre les extraits et l'antibiotique.

Souches	Diamètre de la zone d'inhibition (mm)					
	extrait PP	extrait PP/GM	Différence	extrait P	extrait P/GM	Différence
<i>SARM RMA34</i>	16	21	+1	10	21	+1
<i>S.aureus ATCC29213</i>	17,5	22	+1	8	23	+2
<i>B. subtilis ATCC 6633</i>	21	19	+1	18	20	+2

PP : propolis ; p : pollen ; GM : Gentamicine

Les résultats des synergies réalisées entre chaque extrait et l'antibiotique (tableau VI) montrent que les deux extraits améliorent légèrement l'efficacité de l'antibiotique qui se traduit par un léger gain de 1 mm pour la propolis et de 1 à 2mm pour le pollen.

L'effet synergique peut être en général dû à la formation d'un complexe plus efficace dans l'inhibition d'une espèce particulière de microorganismes, soit par inhibition de la structure cellulaire ou en provoquant la lyse ou la mort de ces microorganismes (Cherbuliez et Domerego, 2003). Les combinaisons synergiques représentent une grande source inexploitée de nouveaux produits pharmaceutiques avec des mécanismes d'action nouveaux et multiples qui peuvent surmonter la résistance microbienne (Ncube et *al.*, 2008).

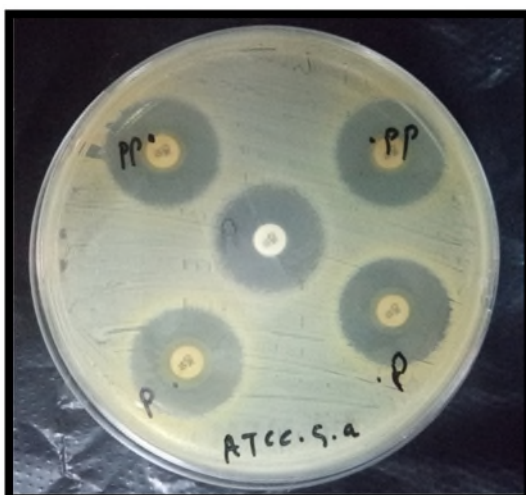


Figure 17: Synergie avec ATB sur *S.aureus* ATCC29213.

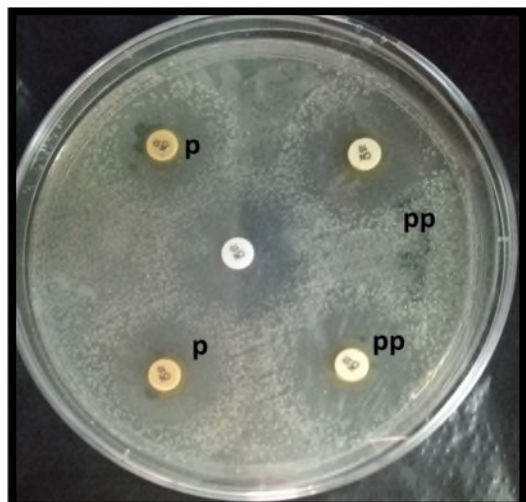


Figure 16: Synergie Extrait/ATB sur *B.subtilis* ATCC6633.



I.5.2. Synergie extrait éthanolique pollen/propolis

L'extrait éthanolique de la propolis a été combiné avec l'extrait éthanolique du pollen à différentes proportions (20 µl propolis (PP)/80 µl pollen (P), 80 µl PP/20 µl P, 90 µl P/10 µl PP, 10 µl P/90 µl PP, 50 µl PP/50 µl P).

Tableau VII : Résultats de la synergie entre les deux extraits.

Bactéries /produits	PP	P	20PP/80P	80PP/20P	90P/10PP	10P/90PP	50P/50PP
<i>S.aureus</i> ATCC29213	17,5±0,70	8,0±0	17±0	15±0	14±0,41	13±0,70	17±0
<i>SARM RMA34</i>	16,0±1,41	10,0±0,7	15±0,35	12±0	14±0,41	14±0,70	11±0
<i>A.baumannii</i> VEB1 ATCC A131107588	7,0±0	11±1,42	9±0,35	6±0	6±0,35	11±0	10±0
<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	21,0±1,41	18,0±0	12±0,35	11±0	12±0,35	11±0	12±0

PP : propolis ; p : pollen

D'après les résultats obtenus qui sont rapportés sur le tableau VII et illustrés par les figures 20 et 21, les tests de synergie réalisées entre l'extrait de pollen et l'extrait de propolis à différents volumes, n'ont révélé aucune amélioration de l'activité antibactérienne vis-à-vis des souches testées. Par contre un effet inverse des mélanges a été constaté sur la souche *Bacillus subtilis* ATCC 6633 avec une diminution importante des diamètres des zones d'inhibition.



Figure 19: Synergie sur *SARM RMA34*.

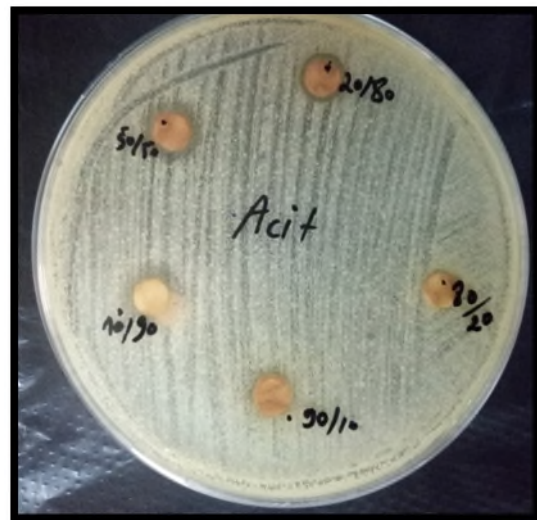


Figure 18: Synergie sur *A.baumannii* VEB-1 ATCC A131107588.



I.6. Activité bactéricide ou bactériostatique

Les antibiotiques se définissent comme étant « une substance chimique produite par un microorganisme qui tue ou inhibe la croissance d'un autre microorganisme » (Madigan et *al.*, 2009). Ceci s'applique également aux produits naturels tels que les produits de la ruche (Cherbuliez and Domerego, 2003).

Le tableau VIII présente les résultats du test de l'activité bactéricide ou bactériostatique de nos extraits sur les souches testées.

Tableau VIII: Résultats de l'activité bactéricide ou bactériostatique.

Bactéries Produits	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>SARM</i> <i>RMA 34</i>	<i>B.subtilis</i> ATCC 6633	<i>A.baumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588
Propolis	B	b	b	B
Pollen	b	b	b	Nt

b : bactériostatique, **B** : bactéricide, (**nt**) non testé.

A l'issue des deux périodes d'incubation, il a été constaté que l'extrait éthanolique de la propolis possède une activité bactéricide vis-à-vis de *S.aureus* ATCC 29213 (figure 23.B) et d'*A.baumannii* VEB-1 ATCC A131107588, confirmé par l'ensemencement sur milieu solide. Par contre elle a une action bactériostatique sur les souches (*SARM RMA 34*, *B.subtilis* ATCC 6633). Elle inhiberait la croissance microbienne en bloquant la division cellulaire et/ou en détruisant la paroi bactérienne, principalement sur les bactéries à Gram positif (Cherbuliez et Domerego, 2003).

L'extrait éthanolique du pollen exerce un effet bactériostatique sur *SARM RMA34* (figure 22.A), *Bacillus subtilis* ATCC 6633 et *S. aureus* ATCC 29213 caractérisé par l'apparition d'un trouble dans tous les tubes.

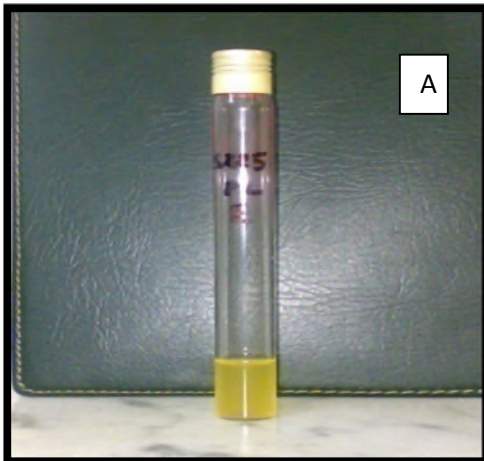


Figure 21: (A) Effet bactériostatique (Extrait pollen sur *SARM RMA34*).

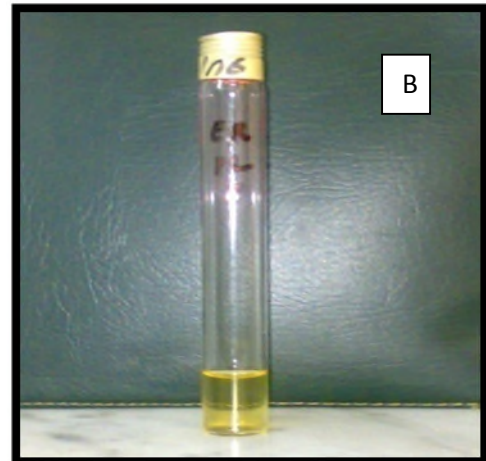


Figure 20: (B) Effet bactéricide de (Extrait de la propolis sur *S.aureus ATCC 29213*).

I .7. Concentrations minimales inhibitrices (CMI)

La concentration minimale inhibitrice (CMI) est déterminée par la méthode de dilution sur milieu solide. Les résultats sont résumés dans le tableau (IX).

Tableau IX: Résultats des concentrations minimales inhibitrices (mg/ml).

Bactéries Produits	<i>S.aureus</i> ATCC 29213	<i>SARM</i> RMA 34	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>A.baumannii</i> VEB-1 ATCC A131107588
Propolis	0.62±0	0.62±0	5±0	5±0
Pollen	25±0	5±0	5±0	/

(/) Non testé

La meilleure CMI est observée avec l'extrait éthanolique de la propolis contre *SARM RMA 34* et *S.aureus ATCC29213* avec une valeur de 0.62mg/ml. la CMI la plus élevée (25 mg/ml) est enregistrée avec l'extrait éthanolique du pollen contre *S.aureus ATCC29213*.

La comparaison des valeurs des CMI de l'extrait éthanolique de la propolis obtenus, avec d'autres résultats déjà publiés montre que notre produit est plus actif sur *S. aureus ATCC29213* et *SARM RMA 34* que celui de l'Egypte (une CMI de 2,2-2,6mg/ml pour *S. aureus ATCC29213* et *SARM*) (Hegazi et al., 2000).



Par contre Rhajaoui et *al.*, (2001) ont trouvé que la propolis de l'Uruguay et de la Chine étaient plus actives que celle étudiée dans le présent travail (une CMI de 0.08-0.1mg/ml pour *S.aureus* ATCC29213).



Conclusion et perspectives

Le travail réalisé sur les quatre produits de la ruche (gelée royale, miel, pollen et propolis) de la région (chelatta d'Akbou), a permis la mise en évidence de l'effet antibactérien des extraits éthanoliques de ces quatre produits sur quelques souches bactériennes. Ce travail a permis de dégager les conclusions suivantes :

- Tous les produits étudiés renferment des composés phénoliques à des concentrations bien différentes. La propolis est la plus riche avec une teneur de 11,86mg EAG/100g de poudre suivi du pollen, le miel et la gelée royale qui présentent des teneurs relativement faibles.
- L'évaluation de l'activité antibactérienne, par les deux méthodes de diffusions sur gélose (puits et disques) sont réalisées pour les extraits éthanoliques des quatre produits, testés sur des souches bactériennes sauvages et résistantes. La méthode des disques montre que la propolis est le produit le plus actif sur les souches (*S.aureus*, *SARM*, *B. subtilis* ATCC 6633, *A. baumannii*) suivie par le pollen qui est peu actif sur (*S.aureus*, *SARM*, *Bacillus*). Par contre, les deux extraits (miel et gelée royale) ne présentent aucun effet antibactérien sur toutes les souches testées. Cette activité est plus importante pour les échantillons riches en composés phénoliques. Comparant les deux; la méthode des disques a permis d'obtenir de meilleurs résultats que celle des puits.
- *B.subtilis* ATCC 6633 est la souche la plus sensible aux extraits éthanoliques de la propolis et du pollen avec des zones d'inhibition allant jusqu'à 21mm de diamètre.
- Le miel pur montre un effet antibactérien sur toutes les bactéries à Gram positif testé par la méthode de dilution en milieu solide. La gelée royale pure possède une activité sur *B.subtilis* ATCC 6633, *S.aureus* ATCC29213 et *SARM* RMA 34 par la méthode des puits.
- L'étude de la synergie entre les deux extraits éthanolique (pollen et propolis) et avec l'antibiotique ne montre pas une augmentation significative dans l'action contre les souches étudiées.
- L'étude de l'activité bactéricide et/ou bactériostatique des extraits éthanoliques a montré que l'extraits de la propolis étaient bactéricides, par contre celui du pollen étaient plutôt bactériostatique vis-à-vis des souches testées.



- La meilleur CMI est observée avec l'extrait éthanolique de la propolis contre *SARM RMA 34* et *S.aureus ATCC29213* avec valeur de 0.62mg/ml.

Les résultats de cette étude ouvrent la voie à la compréhension de la qualité des produits de la ruche et leur implication dans la santé individuelle et collective des abeilles, mais également de l'homme. Ils nous ont permis également de mettre en avant les produits de la ruche locaux et de comparer leurs efficacités à ceux d'autres régions du monde.

Afin de compléter le présent travail, des études complémentaires peuvent être envisagées à savoir :

- ✓ Evaluer l'activité antibactérienne sur une large gamme de bactéries pathogènes et résistantes afin de valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement des différentes maladies.
- ✓ Etudier d'autre propriétés des produits de la ruche (effets antiviraux, antifongiques gastro-protecteurs, anti-inflammatoires), ainsi qu'identifier les composés impliqués dans ces activités.
- ✓ La réalisation des testes *in vivo* afin d'évalue les différents effets thérapeutique des produits de la ruche.

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

Adade, C.M., Chagas, G.S., and Souto-Padron, T. (2012). Apis mellifera venom induces different cell death pathways in Trypanosoma cruzi. Parasitology 139, 1444–1461.

Adomavičiūtė, Erika, Pupkevičiūtė, Solveiga, Juškaitė, Vaida, *et al.* Formation and Investigation of Electrospun PLA Materials with Propolis Extracts and Silver Nanoparticles for Biomedical Applications. *Journal of Nanomaterials*, 2017, vol. 2017.

Adwan, K., Abu-Hasan, N., Adwan, G., Jarrar, N., Abu-Shanab, B., and Al-Masri, M. (2004). Molecular epidemiology of antibiotic-resistant Escherichia coli isolated from hospitalized patients with urinary tract infections in Northern Palestine. Polish Journal of Microbiology 53, 023–026.

Ahmadi–Motamayel, Fatemeh, Hendi, Seyedeh Sare, Alikhani, Mohammad Yusof, *et al.* antibacterial activity of honey on cariogenic bacteria. *journal of dentistry (tehran, iran)*, 2013, vol. 10, no 1, p. 10.

Alemáan, C.L., Más, R.M., Rodeiro, I., Noa, M., Hernández, C., Menéndez, R., and Gámez, R. (1998). Reference database of the main physiological parameters in Sprague-Dawley rats from 6 to 32 months. Laboratory Animals 32, 457–466.

Aljadi, A.M., and Kamaruddin, M.Y. (2004). Evaluation of the phenolic contents and antioxidant capacities of two Malaysian floral honeys. Food Chemistry 85, 513–518.

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

Amoros, M., Simões, C.M.O., Girre, L., Sauvager, F., and Cormier, M. (1992). Synergistic effect of flavones and flavonols against herpes simplex virus type 1 in cell culture. Comparison with the antiviral activity of propolis. Journal of Natural Products 55, 1732–1740.

Avisse I. Grand traité des miels, Editions Le Bureau, 2014, p. 293-80-111-113.

Bacher R. Les abeilles, le miel et l'apiculture, 2008, Edition Terre vivante p. 138,8

Bărnuțiu, L.I., Mărghitaș, L.A., Dezmirean, D.S., Mihai, C.M., and Bobiș, O. (2011). Chemical composition and antimicrobial activity of Royal Jelly-REVIEW. Scientific Papers Animal Science and Biotechnologies 44, 67–72.

Bauer, A.W., Kirby, W.M., Sherris, J.C., and Turck, M. (1966). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method. *American Journal of Clinical Pathology* 45, 493.

Begon, J. (1978). cire pure d'abeilles. Belgique Apicole.

Boizot N., Charpentier J-Paul. (2006). Méthode rapide d'évaluation du contenu en composés phénoliques des organes d'un arbre forestier. INRA, Amélioration, Génétique et Physiologie Forestières, Laboratoire d'Analyses Biochimiques, BP 20619-45166.

Boukraa, Laid. (2008). Activité Additif de la gelée royale et miel contre *Pseudomonas aeruginosa*. *Révision de la médecine alternative*; 13 (4): 330-333.

Bruneau E. 2002. Le miel. In «Le Traité Rustica de l'Apiculture». Edition Rustica, p : 354-364.

Bruneau, M. (2002). Évolution des étagements ethnopolitiques dans les montagnes sino-indochinoises. *Hérodote* 89–117.

Bruneau, M., Chang, S.E., Eguchi, R.T., Lee, G.C., O'Rourke, T.D., Reinhorn, A.M., Shinozuka, M., Tierney, K., Wallace, W.A., and Von Winterfeldt, D. (2003). A framework to quantitatively assess and enhance the seismic resilience of communities. *Earthquake Spectra* 19, 733–752.

Búfalo, M.C., Ferreira, I., Costa, G., Francisco, V., Liberal, J., Cruz, M.T., Lopes, M.C., Batista, M.T., and Sforcin, J.M. (2013). Propolis and its constituent caffeic acid suppress LPS-stimulated pro-inflammatory response by blocking NF- κ B and MAPK activation in macrophages. *Journal of Ethnopharmacology* 149, 84–92.

Caillas A. *Qu'est-ce que l'apipuncture ou l'apithérapie*, L'abeille de France n°574 Septembre 1974, p.309-310.

Cavia, M.M., Fernández-Muino, M.A., Alonso-Torre, S.R., Huidobro, J.F., and Sancho, M.T. (2007). Evolution of acidity of honeys from continental climates: Influence of induced granulation. *Food Chemistry* 100, 1728–1733.

Chen, C.-N., Hsiao, C.-J., Lee, S.-S., Guh, J.-H., Chiang, P.-C., Huang, C.-C., and Huang, W.-J. (2012). Chemical modification and anticancer effect of prenylated flavanones from Taiwanese propolis. *Natural Product Research* 26, 116–124.

Cherbuliez, T., and Domerego, R. (2003). *L'apithérapie: médecine des abeilles* (Ed. Amyris).

Clement H. (dir.). *Le Traité Rustica de l'Apiculture*, 2° Edition, Paris, Editions Rustica, 2006, 528p.

Cooper, R.A., Molan, P.C., and Harding, K.G. (1999). Antibacterial activity of honey against strains of *Staphylococcus aureus* from infected wounds. *Journal of the Royal Society of Medicine* 92, 283–285.

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

Cunha, I., Sawaya, A.C., Caetano, F.M., Shimizu, M.T., Marcucci, M.C., Drezza, F.T., Povia, G.S., and Carvalho, P. de O. (2004). Factors that influence the yield and composition of Brazilian propolis extracts. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 15, 964–970.

Dennett, D. C. (2006). *Breaking the spell: Religion as a natural phenomenon* (Vol. 14). Penguin.

Dold, H., and Witzhausen, R. (1955). Ein Verfahren zur Beurteilung der örtlichen inhibitorischen (keimvermehrungshemmenden) Wirkung von Honigsorten verschiedener Herkunft. *Zeitschrift Für Hygiene Und Infektionskrankheiten* 141, 333–337.

Donadieu Y. *Le miel thérapeutique naturelle*, 2° Edition, Paris, Maloine edit., 1978, 36p.

Dumbrava, D.-G., Bordean, D.-M., Raba, D.-N., Druga, M., Moldovan, C., and Popa, M.-V. (2013). ANTIOXIDANT PROPERTIES AND OTHER PHYSICOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF SOME HONEY VARIETIES FROM WEST ROMANIAN AREA. *International Multidisciplinary Scientific GeoConference: SGEM: Surveying Geology & Mining Ecology Management*, p101.

Duraffourd C., D'Hervicourt L., Lappraz J.C. *Cahiers de phytothérapie clinique. Examen de laboratoire galénique. Elements thérapeutiques synergiques*. 2ème édition Masson (Paris), 1990; 87 pp.

Durban, J., Pérez, A., Sanz, L., Gómez, A., Bonilla, F., Rodríguez, S., Chacón, D., Sasa, M., Angulo, Y., and Gutiérrez, J.M. (2013). Integrated “omics” profiling indicates that miRNAs are modulators of the ontogenetic venom composition shift in the Central American rattlesnake, *Crotalus simus simus*. *BMC Genomics* 14, 234.

Efem, S.E.E. (1988). Clinical observations on the wound healing properties of honey. *British Journal of Surgery* 75, 679–681.

Erejuwa, O.O., Sulaiman, S.A., and Ab Wahab, M.S. (2012). Honey: a novel antioxidant. *Molecules* 17, 4400–4423.

Fatrcová-Šramková, K., Nôžková, J., Kačániová, M., Máriássyová, M., Rovná, K., and Stričík, M. (2013). Antioxidant and antimicrobial properties of monofloral bee pollen. *Journal of Environmental Science and Health, Part B* 48, 133–138.

Flurin, C.B. (2009). Miels et gelée royale: leur origine, leur nature, leur composition et leurs propriétés reconnues. *Phytothérapie* 7, 87–90.

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

Gadner, H., Grois, N., Pötschger, U., Minkov, M., Aricò, M., Braier, J., Broadbent, V., Donadieu, J., Henter, J.-I., and McCarter, R. (2008). Improved outcome in multisystem Langerhans cell histiocytosis is associated with therapy intensification. *Blood* 111, 2556–2562.

Gekker, G., Hu, S., Spivak, M., Lokensgard, J.R., and Peterson, P.K. (2005). Anti-HIV-1 activity of propolis in CD4⁺ lymphocyte and microglial cell cultures. *Journal of Ethnopharmacology* 102, 158–163.

Genç, M., and Aslan, A. (1999). Determination of trans-10-hydroxy-2-decenoic acid content in pure royal jelly and royal jelly products by column liquid chromatography. *Journal of Chromatography A* 839, 265–268.

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 en Médecine-pharmacie, Université Claude-Bernard - Lyon I, pp. 221.

Ghedira, K., Goetz, P., and Le Jeune, R. (2009). Propolis. *Phytothérapie* 7, 100–105.

Guillon, N. (1996). Etude de l'activité antibactérienne du miel. PhD Thesis.

Hegazi, A.G., Farghal, A.A., and El Hady, F.K.A. (2000). Antiviral activity and chemical composition of European and Egyptian propolis. In Congreso Internacional de Propóleos. Buenos Aires, Argentina, p.

Horn, H., and Hammes, W.P. (2002). The influence of temperature on honey quality parameters. *Deutsche Lebensmittel-Rundschau* 98, 366–372.

HUSSEIN, M.H. (2001). L'apiculture en Afrique I. Les pays du nord, de l'est, du nord-est et de l'ouest du continent. *Nous* 14, 7.

Inouye, S., Takahashi, M., and Abe, S. (2011). Composition, Antifungal and Radical Scavenging Activities of 4 Propolis. *Medical Mycology Journal* 52, no 4.

Jean-Prost P. Apiculture, 7e Edition LAVOISIER, 2005, p. 682.

Kähkönen, M.P., Hopia, A.I., Vuorela, H.J., Rauha, J.-P., Pihlaja, K., Kujala, T.S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47, 3954–3962.

Khenfer, M.M., Morlier, P., and Azzouz, L. (2001). Manufacturing process of multilayer sheets. *Concrete Science and Engineering* 3, 185–188.

Krell, R. (1996). Value-added products from beekeeping (No. 124). Food & Agriculture Org..
Kujumgiev, A., Tsvetkova, I., Serkedjieva, Y., Bankova, V., Christov, R., and Popov, S. (1999). Antibacterial, antifungal and antiviral activity of propolis of different geographic origin. *Journal of Ethnopharmacology* 64, 235–240.

Lavie, P. (1960). LES SUBSTANCES ANTIBACTÉRIENNES DANS LA COLONIE D'ABEILLES (APIS MELLIFICA L.)(fin). In *Annales de l'Abeille*, (EDP Sciences), pp. 201–299.

Lazarev, V.N., Polina, N.F., Shkarupeta, M.M., Kostjukova, E.S., Vassilevski, A.A., Kozlov, S.A., Grishin, E.V., and Govorun, V.M. (2011). Spider venom peptides for gene therapy of Chlamydia infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 55, 5367–5369.

Madigan, N.N., McMahon, S., O'Brien, T., Yaszemski, M.J., and Windebank, A.J. (2009). Current tissue engineering and novel therapeutic approaches to axonal regeneration following

spinal cord injury using polymer scaffolds. *Respiratory Physiology & Neurobiology* 169, 183–199.

Manfredi, R., and Chiodo, F. (2000). The effects of alternative treatments for HIV disease on recommended pharmacological regimens. *International Journal of Antimicrobial Agents* 13, 281–285.

Mathis, M., & Caullery, M. (1941). *Le peuple des abeilles* (Vol. 6). Presses universitaires de France.

Medana, C., Carbone, F., Aigotti, R., Appendino, G., and Baiocchi, C. (2008). Selective analysis of phenolic compounds in propolis by HPLC-MS/MS. *Phytochemical Analysis* 19, 32–39.

Mossalayi, M.D., Rambert, J., Renouf, E., Micouneau, M., and Mérillon, J.M. (2014). Grape polyphenols and propolis mixture inhibits inflammatory mediator release from human leukocytes and reduces clinical scores in experimental arthritis. *Phytomedicine* 21, 290–297.

Mouhoubi-Tafnine, Z., Ouchemoukh, S., and Tamendjari, A. (2016). Antioxydant activity of some algerian honey and propolis. *Industrial Crops and Products* 88, 85–90.

Nabas, Z., Haddadin, M.S., Haddadin, J., and Nazer, I.K. (2014). Chemical composition of royal jelly and effects of synbiotic with two different locally isolated probiotic strains on antioxidant activities. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences* 64, 171–180.

Ncube, N.S., Afolayan, A.J., and Okoh, A.I. (2008). Assessment techniques of antimicrobial properties of natural compounds of plant origin: current methods and future trends. *African Journal of Biotechnology* 7.

Ouchemoukh, S., Louaileche, H., and Schweitzer, P. (2007). Physicochemical characteristics and pollen spectrum of some Algerian honeys. *Food Control* 18, 52–58.

Park, H., Kreunen, S.S., Cuttriss, A.J., DellaPenna, D., and Pogson, B.J. (2002). Identification of the carotenoid isomerase provides insight into carotenoid biosynthesis, prolamellar body formation, and photomorphogenesis. *The Plant Cell* 14, 321–332.

Park, Y.K., Koo, M.H., Abreu, J.A., Ikegaki, M., Cury, J.A., and Rosalen, P.L. (1998). Antimicrobial activity of propolis on oral microorganisms. *Current Microbiology* 36, 24–28.

Pascoal, A., Rodrigues, S., Teixeira, A., Feás, X., and Estevinho, L.M. (2014). Biological activities of commercial bee pollens: Antimicrobial, antimutagenic, antioxidant and anti-inflammatory. *Food and Chemical Toxicology* 63, 233–239.

Paterson, P.D. (2008). *L'apiculture* (Éditions Quae). Paris:10-11p.

Philippe J. M. le guide de l'apiculteur, Troisième Edition EDISUD, 1999, p.1087.

Pibiri, M.-C. C-A .Roulet(2003). "Study of effect of essential oils on staphylococcus aureus and pseudomonas aeruginosa". *Healthy Buildings 2003*, Singapore.

Pierson, E.S., Li, Y.Q., Zhang, H.Q., Willemse, M.T.M., Linskens, H.F., and Cresti, M. (1995). Pulsatory growth of pollen tubes: investigation of a possible relationship with the periodic distribution of cell wall components. *Acta Botanica Neerlandica* 44, 121–128.

Rani, A., Jain, S., Dureja, P., Kumar, R., and Kumar, A. (2009). Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of environmentally safe potent antimicrobial agents. *World Appl Sci J* 5, 59–63.

Ravazzi G. Abeilles et apiculture, 2007, Edition de Vecchi S.A, pp, 152, 111.

Rhajaoui, M., Oumzil, H., Faid, M., Lyagoubi, M., Elyachoui, M., and Benjouad, A. (2001). Antibacterial activity of a Moroccan propolis extracts. *Science Letters* 3, 1–3.

Romi, R. (2001). Codex Alimentarius: De l'ambivalence à l'ambiguïté. *Revue Juridique de l'environnement* 26, 201–213.

Rö's sler, U.K., Bogdanov, A.N., and Pfeleiderer, C. (2006). Spontaneous skyrmion ground states in magnetic metals. *Nature* 442, 797–801.

Rossant A, Desmouliere A (2011). Le miel, un composé complexe aux propriétés surprenantes Thèse de doctorat : Pharmacie. Limoges : Université de Limoges. 132

Ouchemoukh S. (2012). Caractérisation physicochimique, profils polliniques, glucidiques et phénoliques et activités antioxydantes de miels Algériens. Thèse de Doctorat de Biologie en Biocimie. Université Abderrahmane Mira, Faculté des Sciences de la nature et de la vie, Béjaia, pp.21-90.

Sanpa, S., Sutjarittangtham, K., Tunkasiri, T., Eitssayeam, S., and Chantawannakul, P. (2012). Ultrasonic extraction of Thai propolis for antimicrobial and antioxidant properties. In *Advanced Materials Research*, (Trans Tech Publ), pp. 371–374.

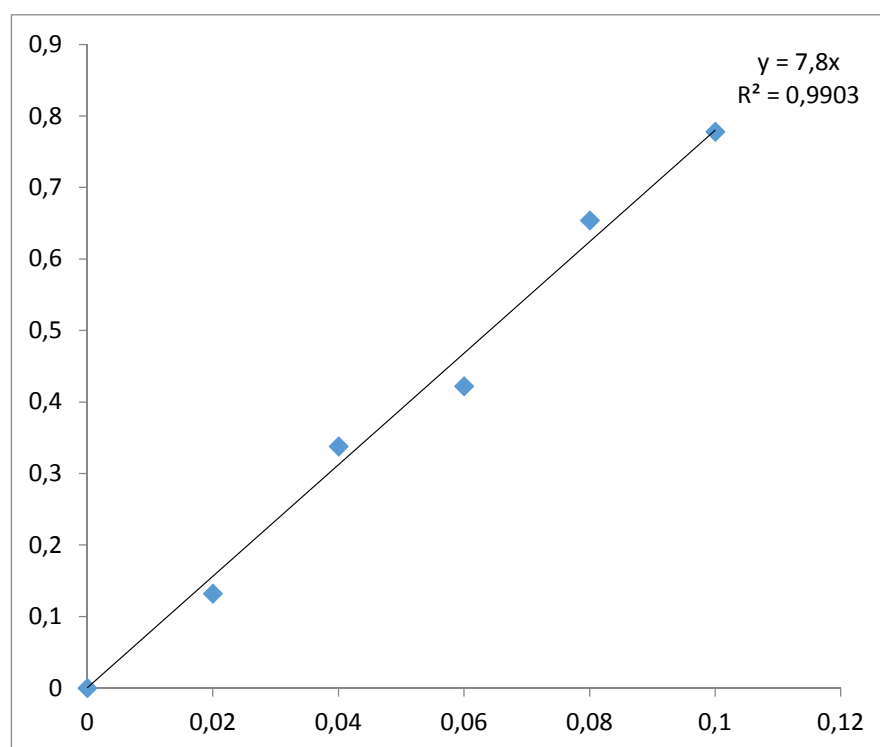
Shenoy, Vishnu Prasad, Ballal, Mamatha, Shivananda, P. G., *et al.* (2012). Honey as an antimicrobial agent against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from infected wounds. *Journal of global infectious diseases*, vol. 4, no 2, p. 102.

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

Viuda-Martos, M., Ruiz-navajas, Y., Fernández-lópez, J., *et al.*, 2008. Functional properties of honey, propolis, and royal jelly. *Journal of food science*, vol. 73, no 9.

Werner A. and Laccourreye O. (2011). Honey in otorhinolaryngology: when, why and how? *European Annals of Otorhinolaryngology, Head and Neck diseases*, p: 128, 133-137.

Annexe

**Annexe 1 :** Courbe d'étalonnage des polyphénols totaux

Synthèse bibliographique

Matériel et méthodes

Résultats et discussion

Conclusion et perspective

Introduction

Références bibliographiques

Annexe

Résumé

Dans le présent travail, l'extraction des composés phénoliques a été effectuée à partir de quatre produits de la ruche (miel, gelée royale, pollen, propolis), en utilisant l'éthanol pur. Le dosage des polyphénols a montré que la propolis est la plus riche en polyphénols totaux avec une teneur de 11,83mg EAG /100g. D'après les résultats d'aromatogrammes, l'extrait éthanolique des quatre produits montre que la propolis et le pollen possèdent une activité antibactérienne sur *B.subtilis* ATCC 6633, *S.aureus* ATCCA29213 et *SARM RMA34*. La plus forte zone d'inhibition de 22mm est obtenue avec l'extrait éthanolique de la propolis à la concentration de 100mg/ml sur la souche *B.subtilis* ATCC 6633. Par contre l'extrait éthanolique de la gelée royale et du miel ne possèdent aucune activité antibactérienne. Les tests réalisés avec les produits purs (miel, la gelée royale) montrent qu'ils possèdent un effet antibactérien contre les Gram(+).

L'étude de la synergie entre les deux extraits éthanolique (pollen et propolis) et les extraits avec l'antibiotique ne montre pas une augmentation significative de l'action contre les souches étudiées. L'étude de l'activité bactéricide et/ou bactériostatique des extraits éthanoliques a montré que les extraits de la propolis étaient bactéricides, par contre ceux du pollen étaient plutôt bactériostatique vis-à-vis des souches testées. La meilleure CMI est observée avec l'extrait éthanolique de la propolis contre *SARM RMA 34* et *S.aureus* ATCC29213 avec une valeur de 0.62mg/ml.

Mots clés : propolis, pollen, miel, gelée royale, activité antibactérienne, souches bactériennes.

Abstract

In the present work, the extraction of phenolic compounds was carried out from four products of the hive (honey, royal jelly, pollen, propolis), using pure ethanol. The dosage of polyphenols showed that propolis is the richest in total polyphenols with a content of 11.83 mg EAG / 100g. Based on the chromatogram results, the ethanolic extract of the four products showed that propolis and pollen had antibacterial activity on *B. subtilis* ATCC 6633, *S. aureus* ATCCA29213 and *SARM RMA34*. The highest inhibition zone of 22 mm is obtained with the ethanolic extract of propolis at the concentration of 100 mg / ml on *B. subtilis* strain ATCC 6633. On the other hand, the ethanolic extract of royal jelly and honey has no antibacterial activity. The tests carried out with pure products (honey, royal jelly) show that they have an antibacterial effect against Gram (+).

The study of the synergy between the two ethanolic extracts (pollen and propolis) and the extracts with the antibiotic do not show a significant increase in the action against the strains studied. The study of the bactericidal and / or bacteriostatic activity of the ethanolic extracts showed that the extracts of propolis were bactericidal, whereas those of the pollen were rather bacteriostatic with respect to the strains tested. The best MIC is observed with the ethanol extract of propolis against *MRSA RMA 34* and *S.aureus* ATCC29213 with a value of 0.62 mg / ml.

Key words: propolis, pollen, honey, royal jelly, antibacterial activity, bacterial strains.

