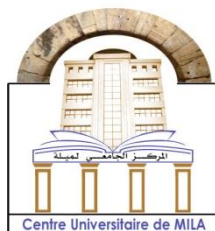


N° Ref :



Centre Universitaire Abdelhafid Boussouf-Mila

Institut des Sciences et de la Technologie

Département des Sciences de la Nature et de la Vie

Mémoire préparé En vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : Biochimie appliquée

Thème :

Étude de l'activité antibactérienne des polyphénols de la propolis de l'Est Algérien

Présenté par :

- BOUHAKA Aya.
- BOUKESSIRA Naila.
- ZEGROUR Fatih.

Devant le jury composé de :

- Présidente : M^{me}. BOUCHEKRIT Moufida (MCB).
- Examinateur : M^{eur}. MOUSSAOUI Bilal (MAA).
- Promoteur : M^{eur}. BOUTELLAA Saber (MCB).

Année Universitaire : 2020/2021

Remerciements

Avant toutes choses, nous remercions Dieu, le tout puissant pour nous avoir donné la force et la patience, pour achever ce mémoire.

De prime abord nous tenons à remercier très chaleureusement notre encadreur Docteur Saber Boutellaa Maître des conférences, qui nous a fait confiance à nouveau en s'engageant à nos côtés dans ce travail, nous faisant profiter de son savoir, et nous offrant sa présence tout au long de ces longs mois d'efforts.

Nos vifs remerciements vont également aux membres du jury :

- ***Madame Bouhekrit Moufida, nous sommes très honorés que vous ayez accepté la présidence du jury de ce mémoire. Trouvez ici l'expression de nos sincères remerciements et soyez assurée de notre profonde gratitude.***

- ***Monsieur Moussaoui Bilal, Merci pour avoir accepté de faire partie du jury de ce mémoire, pour l'intérêt que vous portez à notre travail et pour le temps consacré afin de l'évaluer et de l'enrichir par vos propositions.***

Nous remercions également Mr Bounamous Az Eddine directeur de laboratoire de recherche qui nous a ouvert de bonne volonté les portes de laboratoire, nous prodiguant conseils et aide, ainsi qu'à l'ensemble des ingénieurs du laboratoire pédagogique qui nous y ont épaulé, on nomme: Halima et Zineb.

Mr Noredline, l'apiculteur qui nous a donné des informations approfondies sur la propolis.

Nous profitons de cette dernière occasion pour exprimer notre gratitude à tout le corps enseignant et tout membre de notre université, côtoyés au court de ces cinq années.

Enfin nous tenons à remercier toutes personnes ayant contribué de près ou de loin à la réalisation de ce travail.

DÉDICACE



Avec l'aide de Dieu tout puissant, qui a tracé le

Chemin de ma vie, j'ai pu réaliser ce travail que je dédie à :

**La lumière de mes yeux, l'ombre de mes pas et le bonheur de ma
vie, ma mère qui m'a apporté son appui durant toutes mes années
d'étude, pour son sacrifice et soutien qui m'ont donné la
confiance, le courage et la sécurité.**

**Mon cher père qui m'a appris le sens de la persévérance tout au
long de mes études, pour Son sacrifice, ses conseils et ses
encouragements.**

A Toute ma famille : mes chères sœurs et mon frère

A mes chers amis et à tous ceux qui me sont chers.

AYA





Dédicace

**C'est avec un très grand honneur que je dédie ce
modeste travail à :**

**Mes chers parents : Kamel et Noura pour leurs patiences,
leurs soutiens et leurs encouragements tout au long de ma
vie.**

Mes protecteurs et mes yeux, mes frères Mahdi et Ayoub.

Mon marie Lotfi et ses parents : Ahmed et Habiba.

**L'ensemble de la famille : Boukessira et Mekhtout : oncles
tantes, cousin(e)s et à ma grand-mère, fatima et grande
père Taher.**

Mon binôme d'étude Bouhaka AYA.

Tous mes collègues et mes amies.

**En hommage à tous ceux qui nous ont brutalement quitté
cette vie : jadi Belkacem, nana thalja et aicha ,oncle Youssef
et Salim ; puisse Dieu les accueillir en son vaste Paradis.**

NAILA



DEDICACE

A Mes Très chers Parents

**Je dédie ce mémoire à mes parents, pour l'amour qu'ils m'ont toujours
donné, leurs**

encouragements et toute l'aide qu'ils m'ont apportée durant mes études.

**Aucun mot, aucune dédicace ne pourrait exprimer mon respect, ma
considération, et mon**

**amour pour les sacrifices qu'ils ont consentis pour mon instruction et mon
bien-être.**

**Trouvez ici, chère mère et cher père, dans ce modeste travail, le fruit de
tant de dévouements et de sacrifices ainsi que l'expression de ma gratitude et
de mon profond amour.**

Que Dieu leur accorde santé, bonheur, prospérité et longue vie.

A Mes Amis

**Nulle dédicace ne pourrait exprimer ma profonde affection et mon immense
gratitude pour**

tous les encouragements et soutiens qu'ils ont consentis à mon égard.

Zegrouir fatih

Table des matières

Résumé.....	i
Liste des Abréviations.....	iv
Liste des Figures.....	v
Liste des Tableaux.....	vii
Introduction.....	1

Partie I: Recherche Bibliographique

Chapitre 1: Description de la propolis

1. Définition de la propolis	3
2. Etymologie et historique de la propolis.....	3
3. Origine botanique de la propolis.....	4
3.1. Origine botanique de la propolis dans monde.....	4
3.2. Origine botanique de la propolis Algérienne.....	5
4. Propriétés physico-chimiques de la propolis.....	6
4.1. Propriétés physiques.....	6
4.2. Propriétés chimiques.....	7
5. Composition chimique de la propolis.....	7
6. Utilisation de la propolis.....	18
6.1. Utilisation par l'abeille.....	18
6.2. Utilisation par l'homme.....	18
7. Propriétés biologique de la propolis.....	19
7.1. Activité antibactérienne.....	19
7.2. Activité anti-inflammatoires.....	19
7.3. Activité antivirale.....	19
7.4. Activité antiparasitaire.....	19
7.5. Activité angiogénique.....	20
7.6. Activité immuno-modulateur.....	20
7.7. Activité cicatrisante.....	20
7.8. Activité anticancéreuse.....	20

Chapitre 2: Antibiotique et la résistance bactérienne

1. Antibiotiques.....	21
1.1. Définition des antibiotique.....	21
1.2. Classification des antibiotiques.....	21
1.2.1. Selon l'origine.....	21
1.2.2. Selon la structure chimique.....	21
1.2.3. Selon le spectre d'activité.....	21
1.2.4. Selon le mode d'action.....	21
2. Résistance bactérienne.....	27
2.1. Notion de la résistance bactérienne.....	27
2.2. Origine de la résistance bactérienne	27
2.2.1. Résistance naturelle.....	27
2.2.2. Résistance acquis.....	27
2.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques.....	27
2.3.1. Inhibition des antibiotiques.....	28
2.3.2. Modification des cibles des antibiotiques.....	28
2.3.3. Empêchement de l'entrée de l'antibiotique.....	28

Partie II: Recherche Expérimentale

Chapitre 01: Matériels et Méthodes

1. Matériel	29
1.1. Matériel chimique.....	29
1.2. Echantillonnage	29
1.3. Instruments utilisés.....	30
2. Méthodes	30
2.1. Présentation des extraits.....	30
2.1.1. Séchage et broyage.....	30
2.1.2. Extraction.....	31
2.1.3. Calcul des rendements.....	33

3. Analyses quantitatives.....	34
3.1. Dosage des polyphénols totaux.....	34
3.2. Dosage des flavonoïdes.....	35
4. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince CCM.....	36
5. Test de l'activité antibactérienne.....	37
5.1. Souches étudiées.....	37
5.2. Préparation des extraits.....	37
5.3. Préparation des disques.....	38
5.4. Préparation des milieux de cultures.....	38
5.5. Conservation des souches bactériennes.....	38
5.6. Réalisation du test antibactérien.....	38
5.7. Antibiogramme.....	39
5.8. Etude de synergie entre extraits et antibiotiques.....	39

Chapitre 02: Résultats et Discussion

1. Rendement des extraits bruts.....	40
2. Etude quantitative.....	41
2.1. Dosage des polyphénols totaux.....	41
2.2. Dosage des flavonoïdes.....	43
3. Etude qualitative.....	45
4. Evaluation de l'activité antibactérienne.....	48
4.1. Activité antibactérienne à la concentration de 100 mg/ml.....	48
4.2. Activité antibactérienne et association extrait/ATB.....	51
Conclusion.....	55
Référence.....	56

Résumé

L'objectif de cette étude est l'évaluation de l'activité antibactérienne de la propolis de deux régions de l'Est Algérien: Mila (prop1) et Guelma (prop2). L'extraction des polyphénols par l'éthanol 80% a donné un bon rendement. L'analyse quantitative par des méthodes colorimétriques a révélé une grande richesse en polyphénols et en flavonoïdes pour les deux extraits. L'analyse qualitative réalisée sur la prop2 par CCM a révélé l'existence de différentes classes de composés phénoliques notamment les flavonols, les flavones et les acides phénoliques. L'activité antibactérienne a été testée *in vitro* sur sept souches référenciés de Gram positif et Gram négatif selon la méthode de diffusion sur milieu solide. Les deux extraits ont montré une capacité d'inhiber la croissance de la majorité des souches testées. Une meilleure activité bactérienne a été obtenue contre *E. faecalis* avec l'extrait de Guelma. Les extraits en association avec les antibiotiques ont manifesté un effet clairement additif, par une amélioration allant jusqu'à 7 mm de différence dans le diamètre de la zone inhibitrice par l'extrait de Guelma en combinaison avec la Gentamicine contre *E.coli*.

Mots clés: propolis, polyphénols, activité antibacterienne, antibiotique, synergie.

الملخص

الهدف من هذه الدراسة هو تقييم النشاط المضاد للبكتيريا للعكبر من منطقتين في شرق الجزائر: ميلة (prop1) و قالمة (prop2). أعطى استخلاص البوليفينول بالإيثانول 80٪ مردودا جيدا. أظهر التحليل الكمي بطرق القياس اللوني وجود ثراء كبير في البوليفينول والفلافونويد لكلا المستخلصين. تم إجراء التحليل النوعي على prop2 بواسطة كروماتوغرافيا السطح الرقيق وكشف عن وجود فئات مختلفة من المركبات الفينولية بما في ذلك مركبات الفلافونول والفلافون والأحماض الفينولية. تم اختبار الفعالية المضادة للبكتيريا في المختبر على سبع سلالات موجبة الجرام وسالبة الجرام وفقا لطريقة الانتشار على وسط صلب. أظهر كلا المستخلصين القدرة على تثبيط نمو غالبية السلالات المختبرة. تم الحصول على فعالية بكتيرية أفضل ضد *E. faecalis* بمستخلص قالمة. أظهرت المستخلصات مع المضادات الحيوية تأثيرًا مضافًا واضحًا ، مع تحسن يصل إلى 7 مم في قطر المنطقة المثبطة ، عن طريق مستخلص قالمة بالاشتراك مع الجنتاميسين ضد *E. coli*.

الكلمات المفتاحية : العكبر، الفينولات المتعددة، النشاطية ضد البكتيرية، مضاد حيوي، التآزر.

Abstract

The objective of this study is the evaluation of the antibacterial activity of propolis from two regions of Eastern Algerien: Mila (prop1) and Guelma (prop2). The extraction of polyphenols by ethanol 80% gave a good yield. Quantitative analysis by colorimetric methods revealed a high richness in polyphenols and flavonoids for both extracts. The qualitative analysis was carried out on prop2 by TLC revealed the existence of different classes of phenolic compounds including flavonols, flavones and phenolic acids. The antibacterial activity was tested *in vitro* on seven Gram positive and Gram negative referenced strains according to the diffusion method on solid medium. Both extracts showed an ability to inhibit the growth of the majority of the tested strains. A better bacterial activity was obtained against *E. faecalis* with the Guelma extract. The extracts in combination with antibiotics showed a clear additive effect, with an improvement of up to 7 mm difference in the diameter of the inhibitory zone, by the Guelma extract in combination with Gentamicin against *E.coli*.

Key words: propolis, polyphenols, antibacterial activity, antibiotic, synergy.

Liste des abréviations

Al : Aluminium.

ATB : Antibiotiques.

DIC : Dénomination commune internationale.

DMSO : Diméthylsulfoxyde.

EAG : Equivalent d'acide Gallique.

EQ : Equivalent de la Quercétine.

NK : Cellules Natural killer.

TGF : Facteur de Croissance Transformant.

TNF : Facteur nécrose tumorale.

VEGF : Facteur de croissance de l'endothélium vasculaire.

Liste des figures

Figure 01 : Propolis brute	03
Figure 02 : Composition chimique de la propolis.....	07
Figure 03: Représentation photographique des échantillons de propolis	30
Figure04 : Broyage (a) et conservation (b) de propolis.....	31
Figure 05: Macération de propolis.....	31
Figure 06 : Filtration du macérat.....	32
Figure07 : Concentration des extraits.....	32
Figure 08 : Récupération(a) et séchage (b) des extraits.....	33
Figure 09 : Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération.....	33
Figure 10 : Rendements des extraits éthanoliques de la propolis.....	40
Figure 11 : Courbe d'étalonnage d'acide gallique.....	41
Figure 12: Courbe d'étalonnage de quercétine.....	44
Figure 13 : Photos représentant les diamètres des zones d'inhibition par prop 2 à la concentration 100mg/ml.....	49
Figure 14 : Photos représentant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne de prop1 et prop 2 et association extrait/ATB (A : extrait de prop2 ; B : ATB ; C : Ext1+ ATB ; D: extrait de prop1; E : Ext2+ATB).....	52

Liste des tableaux

Tableau 01 : Source botanique de la propolis selon les différentes régions.....	04
Tableau 02 : Comparaison entre la composition de <i>Peuplier</i> (<i>Populus nigra</i>) et celle de la propolis.....	06
Tableau 03: Composition de la propolis dans certains pays.....	08
Tableau 04 : Classification des antibiotiques selon le mode d'action.....	22
Tableau 05 : Teneur en polyphénols de différents extraits de propolis.....	42
Tableau 06 : Teneur en flavonoïdes de différents extraits de propolis.....	44
Tableau 07 : Composés phénoliques identifiés par CCM dans l'extrait Prop2.....	46
Tableau 08 : Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes	47
Tableau 09 : Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne (mm) de prop2 à la concentration 100mg/ml.....	48
Tableau 10 : Diamètres des zones d'inhibitions de la croissance bactérienne (mm) et association extrait/ATB.	51

CHAPITRE I

Description de la Propolis

1. Définition de la propolis

La propolis est une substance naturelle, visqueuse et résineuse recueillie par les abeilles ouvrières, principalement de l'espèce *Apis mellifera*, à partir de nombreuses sécrétions résineuses végétales : le mucilage, les gommes, les résines et les treillis, ainsi que des bourgeons de feuilles de différentes espèces végétales comme le palmier, le conifère, l'aulne, le peuplier, le bouleau, le pin et le hêtre. Ces sécrétions sont mélangées avec ses salives qui sont partiellement hydrolysée par ses enzymes. Ce composé complexe est utilisé par les abeilles pour se protéger contre les autres insectes et les micro-organismes (Santos et al, 2019).



Figure 01 : Propolis brute (www.propolia.com).

2. Etymologie et historique de la propolis

Le terme propolis signifie la substance défensive de la ruche, ce sens provient de l'étymologie grec qui compose de deux parties: le morphème "Pro" signifie "devant" ou "à l'entrée de" et le morphème "polis" signifie "communauté" ou "ville" (Anjum et al, 2018).

La substance résineuse a été utilisée par l'homme dans la médecine traditionnelle depuis l'antiquité (Sung et al, 2017). Les chercheurs ont déclaré que les activités de guérison de la propolis ont été identifiées par les romains ainsi que d'autres scientifiques tels que Dioscorides, Galen, Aristoteles et Plin. De même, les médecins ont utilisé efficacement la propolis pour le traitement des blessures pendant les batailles ainsi que pendant la seconde Guerre mondiale. Les premiers égyptiens utilisaient la propolis pour soigner les blessures, pour préserver leurs cadavres de la décomposition et pour momifier les morts. En outre, elle a

été reconnue comme un agent antibactérien au cours du 17ème et 20ème siècle en Europe. En Angleterre, la propolis est le meilleur médicament pour le traitement des blessures au cours du 17ème siècle (Anjum et al, 2018).

3. Origine botanique de la propolis

Depuis longtemps, les apiculteurs ont remarqué que les abeilles récoltaient la résine des bourgeons de divers arbres, notamment du peuplier (Debuyser, 1984).

3.1. Origine botanique de la propolis dans le monde

La substance gommeuse est recueillie principalement par les abeilles à partir de plantes, arbres, de bourgeons d'arbres (Kumazawa et al, 2008). Elle est divisée en deux types selon la végétation : la propolis des zones tempérées où les peupliers et les bouleaux présentent la principale source de la propolis et la propolis des zones tropicales où l'abeille utilise l'autre source pour produire cette matière telles que : Mahang, Plumeria, Clusia, etc... (Velikova et al, 2000 ; Kumazawa et al, 2008).

La provenance de la propolis dépend de la région, de la flore botanique qui se situe à proximité immédiate des ruches et aussi aux préférences de l'abeille (Toreti et al, 2013).

Tableau 01 : La source botanique de la propolis selon les différentes régions.

Nom Français	Nom Anglais	Nom arabe	Genre et espèces	Régions géographiques	Référence
Peuplier	Poplar	الحور	<i>Populus nigra</i>	Bulgarie	Kumazawa et al, 2008.
			<i>Populus italica</i>		
			<i>Populus tremula</i>		
			<i>Populus nigra</i>	Albanie	Meto et al, 2020.
			<i>Populus suaveolens</i>	Mongolie	Marcucci, 1995.
			<i>Populus fremontii</i>	USA	Toreti et al, 2013.
Bouleau	Birch	البتولا	<i>Betula sp</i>	Poland Hungary Uruguay	Marcucci, 1995. Burdock, 1998. Teixeira et al, 2005.

			<i>Betula Verrucosa</i>	Russie	Saliva, 2007.
Mahang	Mahang	ماهانج	<i>Macarang atanarius</i>	Okinawa	Kumazawa et al, 2008.
Plumeria	Plumeria	ياسمين هندي	<i>Plumeria acuminata</i> <i>Plumeria acutifolia</i>	USA (Hawaiian, Islands)	Marcucci, 1995
Clusia	Clusia	كلوزية	<i>Clusia sp</i> <i>Clusia minor</i> <i>Clusia major</i>	Region Equatorial Venezuela	Kumazawa et al, 2008. Rodrigues et al, 2019.
Châtaignier	Chestnut	كستناء	<i>Castanea sativa</i>	Turkie	Teixeira et al ,2005.
Eucalyptus	Eucalyptus	الكافور	<i>Eucalyptus sp</i>	Turkie	Teixeira et al 2005.
Saule	Willow	صفصاف	<i>Salix sp</i>	Uruguay	Teixeira et al ,2005.
Orme	Elm	دردار	<i>Ulmus sp</i>	chine	Burdock , 1998.
Pin	Pine	الصنوبر	<i>Pinus sp</i>	Amérique du nord	Marcucci, 1995.

3.2. Origine botanique de la propolis Algérienne

L'Algérie se caractérise par une couverture végétarienne variée, grâce à cette diversité, nous pouvons dire que la propolis algérienne est d'origine soit du pin (*Pinus sp*) qui occupe

les zones semi arides, le chêne (*Chêne-liège* et *Chêne zène*) qu'on trouve au Nord-Est du pays, châtaignier, cyprès (*Cupressus sp*), casuarina et le peuplier (*Populus sp*).

Une étude faite sur la propolis d'Algérie (échantillon de Tlemcen, Guelma, M'sila et Tizi-Ouzou) (tableau 02) a montré que : la propolis a comme source principale le Peuplier (*Populus nigra*) avec la participation d'autres espèces (**Moudir, 2004**).

Tableau 02 : Comparaison entre la composition de Peuplier (*Populus nigra*) et celle de la Propolis (**Moudir, 2004**).

Composés	Propolis standard de <i>Peuplier nigra</i>	Tlemcen	M'sila	Guelma	Tizi-Ouzou
Pinocembrin	4,2 – 12,4	5,9	1,9	6,9	0,2
Pinobanksin	1,7 – 6,2	3,9	3,5	3,0	0,6
Chrysin	5,9 – 12,2	7,5	1,9	6,9	0,4
Galangin	6,6 – 10,3	8,5	1,9	6,9	0,4
Pentenylcaféate	0,7 – 7,5	4,7	1,8	2,1	0,3
Benzylcaféate	1,7 – 5,3	4,9	1,2	1,4	1,2
Acide diterpenique	/	2,0	20,1	8,6	9,1

4. Propriétés physico-chimiques de la propolis

4.1. Propriétés physiques

- La consistance ; La consistance de la propolis varie suivant la température :
 - Elle est dure et fragile à une basse température (15C°).
 - Elle est molle et malléable à 30C°.
 - Elle est flexible, gommeuse et très collante à une température entre 30C° et 60C°.
- Le point de fusion: la propolis fond à 60 C° à 70 C° tandis que certaines de ses sortes fondent à 100 C°.
- La solubilité : la colle d'abeille est soluble dans l'éthanol, le méthanol, le chloroforme, l'éther et l'acétone, mais l'éthanol est le meilleur (**Anjum et al, 2018**). Elle est insoluble dans l'eau (**Marcucci, 1995**).
- Densité : Elle est de l'ordre de 1,2 en moyenne (**Tosi et al, 2006**).

4.2. Propriétés chimiques

- Saveur : Elle a un goût doux mais parfois amer (Wali et al, 2017).
- Odeur : Elle a une odeur aromatique très particulière et agréable (Anjum et al, 2018).
- Couleur : Sa coloration varie du jaune au rouge en passant par le brun foncé, selon la région et la plante d'origine. Il a même été rapporté qu'il y a de la propolis transparente (Anjum et al, 2018).

5. Composition chimique de la propolis

En général, la propolis brute est composée d'environ 50% de résines, 30% de cires, 10% d'huiles essentielles, 5% de pollen et 5% de divers composés organiques: des minéraux (fer, calcium, zinc, cuivre, manganèse), des vitamines (C, E et du groupe B), d'acides gras aliphatiques (acide oléique et stéarique), de composés terpéniques, des flavonoïdes (flavones, flavanones, flavonols, chalcones), de composés phénoliques (acide coumarique, acide acetylsalicylique) (Santos et al, 2019).

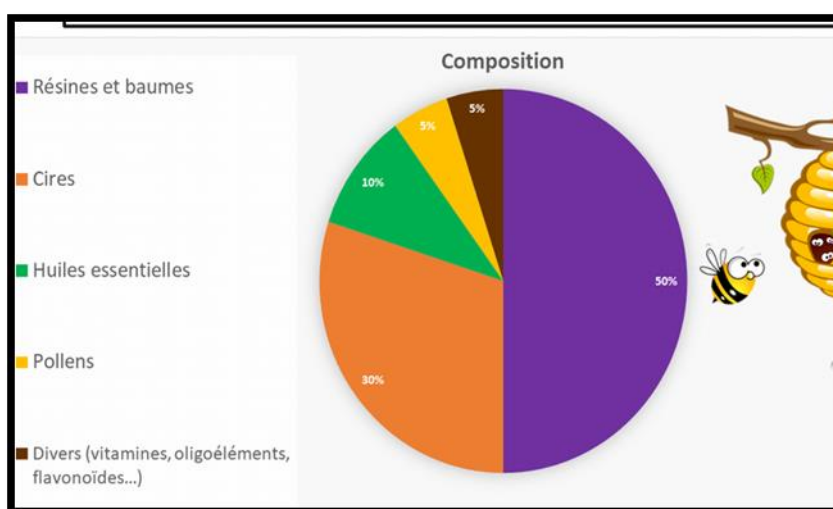


Figure 02 : Composition chimique de la propolis (www.naturatopia.fr).

Plus de composés ont été identifiés dans la propolis pour la première fois par des techniques de séparation et de purification telles que la chromatographie liquide à haute performance (HPLC), la chromatographie sur couche mince, la chromatographie en phase gazeuse (GC), ainsi que des techniques d'identification, telles que la spectroscopie de masse (MS), la résonance magnétique nucléaire (RMN), la chromatographie en phase gazeuse et

spectroscopie de masse (GC-MS) : elle regroupe les flavonoïdes, les terpènes, les phénoliques et leurs esters, les sucres, hydrocarbures et des éléments minéraux. En revanche, des composés phytochimiques relativement communs tels que les alcaloïdes et les iridoïdes n'ont pas été signalés. Deux cent quarante et un (241) composés ont été rapportés pour la première fois dans la propolis entre l'année 2000 et 2012 et jusqu'à présent 406 composés ont été identifiés (Huang et al, 2014 ; Oliveira et al, 2021).

La composition chimique de la propolis est variable selon le lieu géographique de la ruche, les espèces d'abeilles, les types de sources végétales, les espèces d'abeilles, le temps et la saison de collecte (Esposito et al, 2021).

Tableau 03: Composition de la propolis dans certains pays.

Régions	Conditions d'extraction de propolis	Composition Polyphénolique	Références
Algérie (Oumtboul, Taref, Ouad sabt, Ferdjiwa et Ain elhamra).	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 ml d'éther de pétrole, de chloroforme, d'acétate d'éthyle ou de méthanol à température ambiante.	Apigénine, acide caféique, catéchine, chrysine, 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, 3,4-dihydroxybenzoïque, acide ferulique, gallate, acide gentisique, génistéine, hespéridine, acide homogentisique, kaempférol, lutéoline, myricétine, naringénine, acide p-coumarique, acide p-hydroxy benzoïque, pyrocatechol, pyrogallol, quercétine, rutine, acide syringique, acide trans-2-hydroxy cinnamique, vanilline et acide vanillique.	Daikh et al, (2020).
Brésil	La propolis(2g) a été extraite dans 15 ml de solution d'éthanol à 80 % à 25 °C pendant 7 jours ou dans un bain à ultrasons à 50 C° pendant 5 minutes.	Acide caféique, catéchine, épicatechine, formononétine, acide gallique, kaempférol, acide p-coumarique, quercétine,hydrate de rutine et acide trans-férulique.	Oliveira et al, (2019).

Algérie (Tigzirt)	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 ml de solution d'éthanol à 95 % par extraction assistée par ultrasons pendant 1-3h.	Acacétine, apigénine, acide caféique, catéchine, acide chlorogénique, chrysine, acide ellagique, acide férulique, acide gallique, kaempférol, acide m-coumarique, pinocembrine, quercétine, acide rosmarinique, rutine et thymol.	Chaa et al, (2019).
Roumanie	La propolis (1 g) a été extraite dans 20 ml de solution d'éthanol à température ambiante pendant 1 heure.	Acide caféique, épicatechine, acide férulique, acide gallique, acide p-coumarique, kaempférol, acide protocatéchuique, quercétine, resvératrol, acide rosmarinique et rutine.	Duca et al, (2019).
Tunisie	La propolis (10 g) a été extraite dans 500 mL d'une solution d'éthanol à 80 % à 40 C° pendant 3 heures, ou la propolis (2 g) a été extraite dans 30 mL d'une solution d'éthanol à 80 % par extraction assistée par ultrasons pendant 20 min.	Apigénine, acide caféique, ester phénéthylique de l'acide caféique, catéchine, acide chlorogénique, chrysine, acide férulique, galangine, acide gallique, génistéine, isorhamnetine, isorhamnéine-3-O-rutinoside, kaempférol, lutéoline, naringénine, acide p-coumarique, acide p-coumaroyl-malique, pinobanksine, pinocembrine, quétine, rutine.	Gargouri et al (2019).

Maroc	La propolis (0,1 g) a été extraite dans 10 ml de solution d'éthanol à 70% par extraction assistée par ultrasons à 30 min.	Acide caféique, chrysine, acide férulique, galangine, naringénine, acide p-coumarique, pinobanksine, pinocembrine et quercétine.	Touzani et al, (2019).
Turquie	La propolis (1 g) a été extraite dans 15 mL d'une solution d'éthanol à 70 % à température ambiante pendant 3 min.	Apigénine, biochanine, acide caféique, ester phénéthylque de l'acide caféique, acide chlorogénique, cathechine, la daidzéine, l'acide ellagique, l'émodyne, l'acide ferrique, l'acide gallique, l'hespéridine, le kaempferol, la lutéoline, l'acide myristique, la naringénine, l'acide p-coumarique, la pinobanksine, la pinostrobine, l'acide protocathéolique, la quercétine, l'acide rosmarinique, l'acide sinapique, l'acide syringique et l'acide t-ferulique.	Ozdal et al,(2019).
Pologne	La propolis (5 ou 10 g) a été extraite dans 100 mL d'une solution d'éthanol à 70% à 28C° pendant 1 ou 7 j puis par extraction	Acide caféique, acide 3,4-dihydroxyphénylacétique, acide férulique, acide 4 hydroxybenzoïque, acide p-cinnamique, l'acide 2,3,4-trihydroxybenzoïque et la vanilline.	Pobiega et al, (2019).

	assistée par ultrasons pendant 20 min, ou seulement par extraction assistée par ultrasons pendant 10 à 30 min.		
Croatie	La propolis (0,03 g) a été extraite dans 2 mL de solution de méthanol par extraction assistée par ultrasons à 25 C° pendant 10 min.	Acacétine, apigénine, isorhamnétine, éther méthylique de lutéoline, acide p-coumarique, dérivé de l'acide p-coumarique, pinobanksin-3-O-hexanoate, pinobanksin-3-O-pentanoate, éther pinocembrin-5-méthylique, quercétine, quercétine-3-O-glucoside, éther de quercétine-3,7-diméthyle, éther de quercétine-3-méthyle et sakuranétine.	Saftić et al, (2019).
Italie	La propolis (2 g) a été extraite dans 50 ml de solution éthanolique à température ambiante pendant 24 heures.	Acacétine, apigénine, acide caféique, chrysine, acide csyringique, acide férulique, galangine, acide gallique, acide gentisiqueisoferulique, kaempheride, kaempherol, acide p-coumarique, acide m-coumarique, pinocembrine, pinostrobine, acide p-OH-benzoïque, quercétine, sakuranetine et acide vanillique.	Gardini et al, (2018).
Brésil	La propolis (2g) a été extraite dans 25 ml de solution d'éthanol à 80 % à 70 C°	Biochanine A, acide férulique, formononétine, isoliquiritigénine, liquiritigénine, néovestitol, quercétine, et vestitol.	Bueno et al, (2017).

	pendant 30 minutes.		
Lituanie	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 mL d'eau ou d'une solution d'éthanol à température ambiante pendant 5 heures, ou extraite dans 100 mL d'eau à 70 C° pendant 15 minutes.	Acide caféique, acide férulique, galangine, kaempférol, naringénine et acide trans-p-coumarique.	Kubiliene et al, (2015).
Égypte	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 ml de solution de méthanol pendant une nuit à la température ambiante.	Apigénine, acide caféique, catéchine, acide gallique, acide férulique, kaempférol, lutéoline, naringénine, acide p-coumarique, quercitrine, rutine, acide synringique et acide vanillique. quercitrine, rutine, acide synringique et acide vanillique.	Mohdaly et al, (2015).
Pologne		Acide caféique, acide férulique, acide gallique, acide gentisique, galangine, hespérétine, acide hydroxybenzoïque, kaempférol, naringénine, acide p-coumarique et quercétine.	Socha et al, (2015).

Chili (Région de Maule)	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 ml de solution de méthanol par extraction assistée par ultrasons à température ambiante pendant 3 min.	Apigénine, ester benzylique de l'acide caféique, ester cinnamylque de l'acide caféique, ester prénylique de l'acide caféique, ester phényléthylique de l'acide caféique ester phényléthylique, chrysine, acétate de coniféryle, ester phénéthylique de l'acide dihydroferulique, galangine, éther méthylique de galangine, pentanoate de galangine, kaempférol, éther méthylique de kaempférol, ester benzylique de l'acide p-coumarique, ester phénylique de l'acide p-coumarique, ester prénylique de l'acide p-coumarique, pinocembrine, éther méthylique de pinocembrine, pinobanksine, acétate de pinobanksine, butyrate de pinobanksine, cinnamate de pinobanksine, dihydrocinnamate de pinobanksine, hexanoate de de pinocembrine, pinobanksine.	Nina et al, (2015).
Chine	La propolis (1 g) a été extraite dans 10 mL de solution méthanolique par extraction assistée par ultrasons à température ambiante pendant 2 h.	Alpinetin, apigenin, benzylcaffeate, benzyl p-coumarate, acide caféique chrysin, 3,4-dihydroxybenzaldéhyde, acide férulique, galangine, acide isoferulique, isorhamnétine, kaempférol, 5-méthoxy pinobanksine, acide p-coumarique, phénylcaféate, pinobanksine pinobanksine-3-O-acétate, pinocembrine, pinostrobine, quercétine	Sun et al, (2015).
Brésil	La propolis (5 à 30 g) a été extraite dans 100 ml d'une solution d'éthanol de 60 à 94 % pendant 15 min.	Acacétine, apigénine, artepilline C, acide caféique, ester phénéthylique de l'acide caféique, acide chlorogénique, chrysine, galangine, acide p-coumarique et pinocembrine.	Aguiar et al, (2014).
France	La propolis (1 g) a été extraite	Acide caféique, ester phényléthylique de l'acide caféique, chrysine, acide férulique,	Boisard et

	dans 20 ml d'eau à 100 C° pendant 15 min ou dans 20 ml d'éthanol à 70 % ou dans 20 ml de solution éthanol 90% à température ambiante pendant 2 heure.	galangine, acide isoferulique, acide p-coumarique, pinocembrine, pinobanksin-3-acétate, pinostrobin, et caféate de prényle.	al, (2014).
Grèce	La propolis (10 g) a été extraite dans 100 mL de solutions de méthanol ou de méthanol à 80 % à température ambiante pendant 24 heures.	Apigénine, acide caféique, ester phénéthylique de l'acide caféique, acide férulique, galangine, lutéoline, acide p-coumarique et quercétine.	Lagouri, et al, (2014).
Turquie	La propolis (5 g) a été extraite dans 100 ml de solution de méthanol à température ambiante pendant 24 heures.	Acide caféique, catéchine, acide chlorogénique, acide o-coumarique, épicatechine, acide férulique, acide gallique, Acide p-coumarique, acide p-hydroxybenzoïque, acide protocatéchuïque, quercétine, rutine, acide protocatéchuïque, quercétine, rutine, acide syringique et vanilline.	Aliyazıcıoğlu et al, (2013)

Corée	La propolis (0,1g) a été extraite dans une solution d'éthanol de 3 mL à température ambiante pendant 24 heures.	Apigénine, caféate de benzyle, acide caféique, chrysine, acide cinnamylidène-acétique, caféate de cinnamyle, acide férulique, galangine, kaempférol, pinocembrine, acide p-coumarique, caféate de phénéthyle, pinobanksine, pinobanksine 3-acétate, pinobanksine 5-méthyl éther, pinostrobin et tectochrysine.	Choi et al, (2013).
Brésil, Italie et Russie	La propolis (10 g) a été extraite dans une solution d'éthanol à 3 C° pendant une nuit.	Apigénine, acide caféique, ester phényléthyl de l'acide caféique, 1,1-diméthylallyl caffeate, galangine, kaempférol, la naringénine, la pinocembrine et la quercétine.	Fabris et al, (2013).
Thaïlande	La propolis (3 g) a été extraite dans 100 mL d'une solution d'éthanol de 30 à 70 % à 30 C° pendant 24 heures.	Acacétine, baicaline, chrysine, galangine, kaempférol, naringénine, quercétine et rutine.	Siripatrawan, et al. (2013).
Pologne	La propolis a été extraite dans une solution d'éthanol à 95 % à 37 C° pendant 4 jours.	Apigénine, acide caféique, dérivé de l'acide caféique, chrysine, dérivé de l'acide coumarique, acide férulique, dérivé de l'acide férulique, galangine, kaempféride, acide p-coumarique.	Szliszka et al, (2013).

Serbe	La propolis (10 g) a été extraite dans 200 ml d'une solution d'éthanol à 96 % à température ambiante pendant 24 heures.	Apigénine, acide caféique, ester phényléthylrique de l'acide caféique, chrysine, acide férulique, galangine, hespérétine, acide isoferulique, isorhamnétine, lutéoline, kaempférol, myricétine, naringénine, acide p-coumarique, l'acide p-hydroxybenzoïque, la pinocembrine, la quercétine et la tectochrysine.	Žižić et al, (2013).
Brésil	La propolis a été extraite dans une solution d'éthanol de 80 % à 3 C°.	Apigénine, acide caféique, ester cinnamylique de l'acide caféique, ester phényléthylrique de l'acide caféique, chrysine, acide férulique, galangine, kaempférol, naringénine, acide p-coumarique, pinobanksine, pinobanksine-3-O-acétate, pinocembrine, pinostrobine et quercétine.	Papotti et al, (2012).
Chine	La propolis (1 g) a été extraite dans 10 mL de solution méthanolique par extraction assistée par ultrasons à température ambiante pendant 2 h.	Aapigénine, acide caféique, ester cinnamylique de l'acide caféique, ester isoprénylique de l'acide caféique, ester phényléthylrique de l'acide caféique chrysine, chrysine-7-méthyl-éther, acide férulique, galangine, galangine-5-méthyl-éther,	Shi et al, (2012).

Bosnie et Croatie	La propolis (1 g) a été extraite dans 10 mL d'une solution d'éthanol à 80 % à température ambiante pendant 1 heure.	Apigénine, chrysine, acide férulique, galangine, kaempférol, acide p-coumarique, pinocembrine, pinocembrine-7-méthyléther, et tectochrysine.	Barbarić et al, (2011).
Chine	La propolis (2kg) a été extraite dans 10 L de solution d'éthanol à 95 % par extraction assistée par ultrasons pendant 1,5 h.	-acétylpinobanksin-7-méthyl éther, caféate de benzyle, acide caféique, chrysine, caféate de cinnamyle, Cafféate de 3,3-diméthylallyle, galangine, éther de galangine-7-méthyle, acide isoferulique, le caféate d'isopent-3-ényle, le caféate de 2-méthyl-2-butényle, l'acide p-coumarique, le caféate de phénéthyle, la pinobanksine, l'éther de pinobanksine-5-méthyle, la pinocembrine, l'éther de quercétine-3,3'-diméthyle, la rhamnocitrine et la tectochrysine.	Yang et al, (2011).
Italie	La propolis (1 g) a été extraite dans 10 ml de solution d'éthanol à température ambiante pendant 24 heures.	Apigénine, kaempférol, pinocembrine, pinostrobine et quercétine.	Papotti et al, (2010).
Venetia	La propolis a été extraite dans une solution d'éthanol	Apigénine, acide caféique, ester phénéthylque de l'acide caféique, 1,1-diméthylallylcaffeate, galangine,	Gregoris et Stevanato (2010).

	de 60 à 100 % pendant une nuit à 3 C°.	kaempférol, la naringénine, la pinocembrine et la quercétine.	
--	--	--	--

6. Utilisation de la propolis

6.1. Utilisation par l'abeille

La propolis est utilisée pour colmater les trous et les fissures, lisser la surface intérieure et conserver la température interne de la ruche ainsi que pour prévenir l'altération (par exemple, elle est utilisée pour diminuer la taille de l'ouverture de sortie pendant les saisons fraîches). et l'invasion des prédateurs. En raison de son activité antimicrobienne, elle est contribué également à un environnement interne aseptique et utilisée pour momifier le corps des intrus afin d'éviter leur putréfaction à l'intérieur de la ruche (**Kocot et al, 2018**).

6.2. Utilisation par l'homme

La propolis est largement utilisée dans plusieurs domaines tel que :

➤ La médecine

La propolis est utilisée dans divers traitements tels que :

- Le cancer
- Les ulcères
- Les infections des muqueuses
- Les soins dentaires
- Les problèmes cardio-vasculaires (**Krell, 1996 ;Neumann et al, 1986**).

➤ La cosmétique

La propolis est largement utilisée dans les produits dermatologiques tels que les crèmes et les onguents. Son utilisation dans les produits de soins de la peau est basée sur ses propriétés anti-allergie, anti-inflammation, anti-microbiennes et l'action promotrice sur la synthèse du collagène cosmétique (**Pasupuleti et al, 2017**).

➤ Technologie alimentaire

De nombreuses expériences ont été réalisées pour l'utilisation des extraits de propolis dans le domaine d'alimentation, la propolis est utilisée dans la conservation de nombreux produits

comme, le jus de fruits, légumes, viande. Cependant, seulement très peu d'études ont été faites sur les effets secondaires possibles sur la plus grande consommation des propolis (**Bankova et al, 2016**).

7. Propriétés biologique de la propolis

La propolis possède un large spectre d'activité biologique.

7.1. Activité antibactérienne

L'activité antibactérienne de la propolis doit être considérée à deux niveaux. D'une part, elle est liée à l'action directe sur le micro-organisme, et d'autre part à la stimulation du système immunitaire, résultant ainsi l'activation des défenses naturelles de l'organisme avec l'action directe sur le micro-organisme et stimulation du système immunitaire. L'analyse des mécanismes de propolis permet de déduire son effet sur la perméabilité de la membrane cellulaire du micro-organisme, la perturbation du potentiel membranaire, la production d'adénosine triphosphate (ATP) ainsi que la diminution de la mobilité bactérienne. Généralement, il est observé que l'activité antimicrobienne de la propolis est plus élevée par rapport aux bactéries Gram-positif qu'aux bactéries Gram-négatif (**Przybyłek, 2019**).

7.2. Activité anti-inflammatoire

Encore une fois, ce sont les flavonoïdes qui jouent le rôle principal dans l'inflammation. En effet, ils inhibent la synthèse des prostaglandines, ainsi que la prolifération des lymphocytes B et T. On pourrait expliquer cela par le fait que les flavonoïdes ont la faculté d'inhiber l'action de protéines kinases (Protéine Kinase C ou encore protéine tyrosine kinase). Parallèlement, une stimulation des macrophages sera observée (**Mossalayi et al, 2013**).

7.3. Activité antivirale

Il est connu que la propolis a montré une activité antivirale, en inhibant l'entrée du virus dans les cellules, en créant une perturbation dans la réplication virale qui cause la destruction de l'ARN avant ou après sa libération dans les cellules (**Sforcin et al, 2017**).

7.4. Activité antiparasitaire

Quelques études ont montré que la propolis était efficace contre les trichomonas, les trypanosoma (responsable de la maladie du sommeil), les leishmania ou *Giardia lamblia* (parasitose intestinale) qui sont pour la plupart des parasites très répandus dans les pays

tropicaux et subtropicaux (**Cardinault et al, 2012**). La propolis du Portugal est active contre les *Trypanosomas brucei*, parasite responsable de la maladie africaine du sommeil (**Falcao et al, 2014**).

7.5. Activité angiogénique

La propolis et plus spécialement propolis verte et la propolis de Peupliers réduisent l'angiogenèse *in vitro* et *in vivo* via une limitation de la Néo-vascularisation, une inhibition de la prolifération et de la migration cellulaires, d'une manière dose-dépendante. Il semble que ces effets passent par une Modulation de l'expression de certains facteurs tels que le facteur de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF), le facteur nécrose tumorale (TNF) ou le facteur de croissance transformant (TGF) (**Cardinault et al, 2012**).

7.6. Activité immuno-modulateur

La propolis a une action immuno-modulatrice en inhibant *in vitro* et *in vivo* les macrophages murins péritonéaux. Elle stimule l'effet lytique sur les cellules natural killer (NK) contre les cellules tumorales et inhibe la lymphoprolifération induite par l'inflammation (**Cardinault et al, 2012**).

7.7. Activité cicatrisante

Les acides phénoliques et certains acides aminés sont des acteurs incontestables de la cicatrisation et de la régénération des cellules (**Gharbi, 2011**).

7.8. Activités anti cancéreuse

De nombreuses études *in vitro* et *in vivo* ont été entreprises sur l'activité antitumorale de la propolis ou de ses principaux constituants. Les résultats montrent un effet antiprolifératif vis-à-vis un très grand nombre de lignées tumorales (sang, peau, côlon, sein, prostate, poumon, foie, cerveau, rein) (**Cardinault et al, 2012**).

CHAPITRE II

Antibiotiques et résistance bactérienne

1. Antibiotiques

1.1. Définition des antibiotiques

On appelle un antibiotique toute substance naturelle, synthétique ou semi synthétique produite par un microorganisme (le plus souvent un champignon) susceptible d'empêcher le développement des microorganismes. Le mode d'action des antibiotiques(ATB) permet de tuer les bactéries sensible (bactéricide) ou d'empêcher la croissance (bactériostatique). Il existe des ATB à un large spectre d'activité ou de spectre étroit (**Plesiat, 2012; El Ghaffouli, 2020**).

1.2. Classification des antibiotiques

La classification des ATB peut se faire selon différents critères

1.2.1. Selon l'origine

Selon leurs origine, il existe des antibiotiques naturels, semi-synthétiques (antibiotiques ayant une origine naturelle s'ils sont extraits d'organismes vivants) ou synthétiques (obtenus par synthèse chimique totale ou partielle) (**Mohammedi, 2016**).

1.2.2. Selon la structure chimique

Les antibiotiques peut classer selon la structure chimique en plusieurs familles, à titre d'exemple le cycle β -lactame, dont le nom de la famille est β -lactamines est présent chez tous les antibiotiques de cette famille. Cette classification nous permet de classer les ATB en familles (**Rahal, 2013**).

1.2.3. Selon spectre d'activité

Liste des espèces sur lesquelles les ATB sont actifs, spectre large et étroit (**Mohammedie, 2016**).

1.2.4. Selon le mode d'action

Selon le site spécifique d'action, un antibiotique peut agir comme mentionné dans le tableau 04:

Tableau 04 : Classification des antibiotiques selon le mode d'action.

Cibles	Familles		DCI	Références		
Paroi	Bêta-lactamines	Pénicillines (Pénames)	Groupe A	Aminopénicillines	Amoxicilline	Lagacé et al. (2012); Anonyme (2018)
					Ampicilline	
					Bacampicilline	
					Pivampicilline	
					Métampicilline	
				Carboxypénicillines	Carbénicilline	
					Ticarcilline	
				Uréidopénicillines (Acyl-amino-pénicillines)	Azlocilline	
					Mézlocilline	
					Pipéracilline	
			Groupe G	Benzathine-benzylpénicilline		
				Benzathine-phénoxy méthylpénicilline		
			Groupe M (Antistaphylococciques)	Méthicilline		
				Oxacilline		
				Cloxacilline		
			Inhibiteurs de β-lactamases et associations avec bêta-lactamines	Acide clavulanique		
				Sulbactam		
				Tazobactam		
				Avibactam		
		Vaborbactam				
		Relebactam				
		Amoxicilline/Acide le clavulanique				
		Ticarcilline/Acide clavulanique				
		Ampicilline/Sulbactam				
		Pipéracilline/Tazobactam				
		Amidinopénicillines		Mécilliname		
			Pivmécilliname			
		Témocilline	Témocilline	Konate, (2005) ;; Anonyme(2018); Sheu et al.,(2019)		

		Carbapénèmes (Pénèmes)	Ertapénème	
			Faropénème	
			Imipénème/Cilastatine	
			Méropénème	
			Imipénème	
		Monobactames	Aztréonam	
		Céphalosporines (Céphèmes)	Céfalotine	Konate, (2005) ; Van Bambeke et Tulkens (2008); Calop et al, (2012); Khezar (2013); Anonyme (2018)
			Céfacétrile	
			Céfapirine	
			Céfadroxil	
			Céfalexine	
			Céfaclor	
			Céfradine	
			Céfazoline	
			Céfaloridine	
			Céfamandole	
			Céfotétan	
			Céfotiam	
			Céfoxitine	
			Céfuroxime	
			Céfixime	
			Cefpodoximeproxétil	
			Céfodiamhexétil	
			Latamoxef	
			Céfépime	
			Céftizoxime	
			Céfotaxime	
			Céfopérazone	
			Cefpirome	
			Céfsulodine	
			Cefménoxime	
			Ceftazidime	
			Ceftriaxone	

		Céphalosporines de 4ème génération (C4G)	Céfépime	
			Céfpirome	
		Céphalosporines de 5ème génération (C5G)	Ceftobiprole	
			Ceftaroline	
	Fosfomycine		Fosfomycine	
			Fosfomycinetrométamol	
	Glycopeptides		Teicoplanine	
			Vancomycine	
Membrane plasmique		Lipopeptides	Daptomycine	
		Polymixines	Polymixine B	
			Polymyxine E (Colistine)	
Synthèse des protéines		Aminosides	Spectinomycine	Van Bambeke et Tulkens (2008); Mohammedi (2016); Anonyme (2018)
			Gentamicine	
			Sisomycine	
			Nétilmicine	
			Paromomycine	
			Néomycine	
			Framycétine	
			Dihydrostreptomycine	
			Streptomycine	
			Amikacine	
			Dibékacine	
			Kanamycine	
			Tobramycine	
	Macrolides et apparentés	Macrolides vrais	Amphotéricine B	
			Dirithromycine	
			Oléandomycine	
			Roxithromycine	
			Clarithromycine	
			Érythromycine	
			Azithromycine	
			Josamycine	

		Linocosomalides	Midécamycine	
			Spiramycine	
			Clindamycine	
			Lincomycine	
		Kétolides	Télithromycine	
		Synergistines	Pristinamycine	
		Streptogramines	Dalfoprystine	
			Quinupristine	
			Virginiamycine	
			Pristinamycine	
		Phénicolés	Chloramphénicol	
			Thiamphénicol	
		Cyclines	Tétracycline	
			Oxytétracycline	
			Lymécycline	
			Méthylènegycline	
			Doxycycline	
			Minocycline	
			Tigécycline	
		Acide fusidique	Acide fusidique	
		Oxazolidinones	Linézolide	
			Tédizolide	
Synthèse des acides nucléiques	Quinolones	Quinolones 1ère génération	Acide nalidixique	
			Acide piromidique	
			Acide pipémidique	
			Fluméquine	
			Acide oxolinique	
			Cinoxacine	
		Quinolones 2ème génération	Norfloxacin	
			Énoxacin	
			Péfloxacin	
			Loméfloxacin	
			Ciprofloxacine	

			Ofloxacin	
		Quinolones 3 ^{ème} génération	Sparfloxacin	
			Moxifloxacin	
			Gatifloxacin	
			Lévofloxacin	
		Quinolones 4 ^{ème} génération	Trovafoxacin	
			Alatrofoxacin	
		Quinolones 5 ^{ème} génération	Ecinofoxacin	
			Prulifloxacin	
		Quinoléines	Hydroxyquinoléine	
		Mupirocines	Mupirocin	
		Autres	Rifamycin	
			Rifamycin SV	
Synthèse de l'acide folique		Sulfamides et associations	Sulfaméthizole	
			Sulfadiazine	
			Sulfadiazine/Pyriméthamine	
			Sulfafurazole/Érythromycine	
			Sulfaméthoxazole/Triméthoprie (Cotrimoxazole)	
Mécanismes complexes ou méconnus	Produits nitrés	Nitrofuranes	Nitrofurantoïne	
			Hydroxyméthyl-nitrofurantoïne	
			Furazolidone	
			Nifuroxazide	
		Nitroimidazoles	Métronidazole	
			Ornidazole	
			Tinidazole	
		Antituberculeux	Rifampicine	
			Isoniazide	
			Soniazide/Rifampicine	
			Pyrazinamide	
			Pyrazinamide/Isoniazide/Rifampicine	

		Rifabutine	
--	--	------------	--

2. Résistance bactérienne

2.1. Notion de la résistance bactérienne

Les antibiotiques ont constitué une découverte thérapeutique importante pour la santé humaine. Leur utilisation a permis de diminuer le taux de mortalité mondiale depuis longtemps. Cependant, le mauvais usage de ces agents antimicrobiens et leur utilisation accrue ont eu pour conséquence de faire apparaître certaines formes de résistances des souches microbiennes contrebalançant les effets des antibiotiques (**Bouyahya et al, 2017**).

2.2. Origine de la résistance

La résistance bactérienne aux antibiotiques a deux origines essentielles, naturelles et acquise. La première est programmée au niveau du matériel génomique alors que la seconde est développée en fonction des conditions métaboliques (**Julian, 2010**).

2.2.1. Résistance naturelle

C'est une résistance intrinsèque, due essentiellement à la présence de gènes spécifiques. Elle se caractérise par des modifications structurales dans le cas de la membrane externe des bactéries à Gram(-), et métaboliques dans le cas du bacille de la tuberculose insensible à un grand nombre d'antibiotiques en s'opposant à l'action des antibiotiques par le biais de son métabolisme original. Les gènes de résistance sont exprimés soit d'une manière constitutive ou bien induite en répondant à un signal enzymatique établi par la mise en oeuvre d'un processus d'échappement vis-à-vis de l'antibiotique (**Bouyahya et al, 2017**).

2.2.2. Résistance acquise

Contrairement à la résistance naturelle, la résistance acquise qui est due à des modifications dans le profil d'expression génique par des mutations ponctuelles ou acquises. Grâce à ce processus, les bactéries partagent entre elles des informations génétiques, ce qui leur confère un très grand pouvoir d'adaptation aux milieux environnementaux qu'elles habitent (**Springam et al, 2009**).

2.3. Mécanismes de résistance aux antibiotiques

Les mécanismes de résistance aux antibiotiques ont été largement étudiés, et de nombreuses cibles des fonctions cellulaires ont été impliquées dans ces mécanismes. Les sites de résistance sont variables entre les espèces bactériennes et ils sont classés en plusieurs voies. Dans certains cas, au sein de la même souche bactérienne, on peut trouver plusieurs mécanismes de résistance différents. Les mécanismes de résistance ont été décrits chez plusieurs souches bactériennes.

2.3.1. Inhibition des antibiotiques

Certaines bactéries synthétisent des enzymes qui inhibent l'action des antibiotiques en dégradant ou en modifiant ce dernier. La modification des antibiotiques peut se faire de différentes façons selon les réactions chimiques catalysées (l'acétylation, la glycosylation, la nucléotidylation, la substitution, la ribosylation et/ou la phosphorylation) (Dzidic et al, 2008).

2.3.2. Modification des cibles des antibiotiques

Le deuxième mécanisme de résistance est celui qui affecte les cibles des antibiotiques. Dans certaines situations, la bactérie modifie l'affinité de ses protéines de liaison à des antibiotiques spécifiques (Bouyahya et al, 2017).

2.3.3. Empêchement de l'entrée de l'antibiotique

Certaines souches bactériennes empêchent les antibiotiques de rentrer dans la cellule bactérienne, et cela grâce à un mécanisme de transport particulier dit pompe à efflux qui leur permet d'exporter les antibiotiques à l'extérieur (Bouyahya et al, 2017).

CHAPITRE I

MATERIEL

ET METHODES

Notre travail expérimental a été effectué au niveau des laboratoires pédagogiques du département des sciences de la nature et de la vie et au niveau du laboratoire de recherche des Sciences Naturelles et des Matériaux (LSNM) au centre universitaire Abdelhafid Boussouf (Mila). Le but est une analyse quantitative et qualitative des molécules bioactives et l'étude de leur activité antibactérienne.

1. Matériel

1.1. Matériel chimique

- Les solvants organiques utilisés dans les différents compartiments de cette étude (extraction, dosage et évaluation de l'activité antibactérienne) sont les suivants : éthanol 80%(ET-OH 80%), eau physiologique, eau distillée, DMSO, Ether de pétrole, Chloroforme, acide acétique, acétate d'éthyle, n-butanol et méthanol.
- Les réactifs chimiques sont: le Follin–Ciocalteu et l'ammoniaque (NH₃).
- Les sels sont: carbonate de sodium (Na₂CO₃) et trichlorure d'aluminium (AlCl₃).
- Les standards utilisés dans le dosage spectrophotométrique sont: l'acide gallique et le quercétine.

1.2. Echantillonnage

Deux échantillons de la propolis brute ont été fournis par deux apiculteurs de différentes régions géographiques : le premier échantillon est de la wilaya de Mila (36°11'12''N, Lat., 6°12'40''E long et 1047 m d'altitude) et le deuxième échantillon de la wilaya de Guelma (Djbel El Maouna) (36°22'42.61"N, Lat., 7°23'21.02"E long et 1040 m d'altitude).

Echantillons	Propolis 1	Propolis 2
Wilaya	Mila	Guelma
Zone de pollinisation	Chelghoum l'aïd	Djbel El Maouna
Alimentation d'abeille	Luzerne, Coquelicot	
Race d'abeille	<i>Apis mellifica intermissa</i>	
Méthode de récolte	Méthode des grilles	
Date de récolte	Octobre 2018	2019



Figure 03: Représentation photographique des échantillons de propolis.

1.3. Instruments utilisés

- Agitateur Vortex
- Bain-Marie
- Réfrigérateur
- Balance de précision
- Etuve
- Evaporateur rotatif
- Plaque chauffante agitatrice
- Spectrophotomètre à UV-Visible (SHIMADZU UV-1800).

2. Méthodes

2.1. Préparation des extraits

2.1.1. Séchage et broyage

Nos échantillons de la propolis ont été mis dans un réfrigérateur régler à une température de (-50 C°). Après une congélation, la propolis est broyé mécaniquement jusqu'à l'obtention d'une poudre. Cette dernière a été conservée dans un flacon en verre jusqu'à l'utilisation.

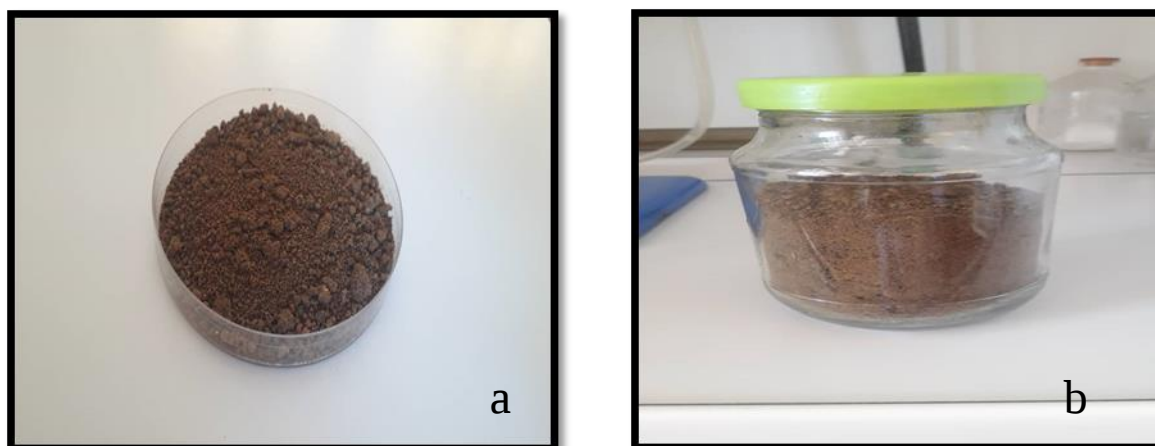


Figure 04: Broyage (a) et conservation (b) de propolis.

2.1.2. Extraction

L'extraction c'est la transformation de la matière première en un extrait, il sert à extraire le maximum de molécules chimiques contenant dans les échantillons de la propolis, en utilisant des solvants organiques qui accélèrent et augmente le rendement d'extraction.

Notre méthode d'extraction est une macération hydroalcoolique, elle a été effectuée à une température ambiante et à l'abri de la lumière. L'opération a été réalisée par macération de 20g de Propolis 1 et 50g de propolis 2 dans 100 ml d'éthanol en solution (80%) jusqu'à la saturation. Les macérats sont laissés sous agitation continue pendant 24 heures.



Figure 05: Macération de propolis.

Cette macération est répétée 3 fois en renouvelant à chaque fois le solvant après une filtration par papier filtre ordinaire (Whatman n°01).

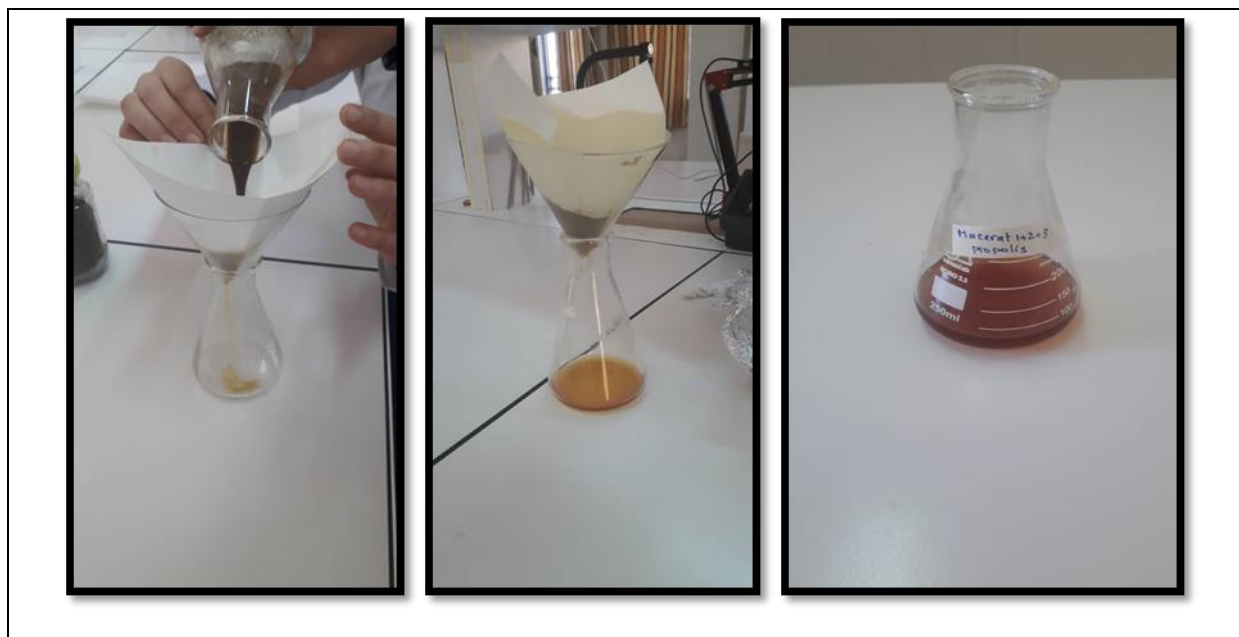


Figure 06: Filtration du macérat.

Dans un évaporateur rotatif, le solvant est éliminé du macérat par évaporation à 40C°.



Figure 07: Concentration des extraits.

Les extraits sont récupérés dans des boîtes de Pétri stériles en verre, puis séchés dans une étuve à température de 40C°, et stockés dans des petits flacons en verre jusqu'à leur utilisation.

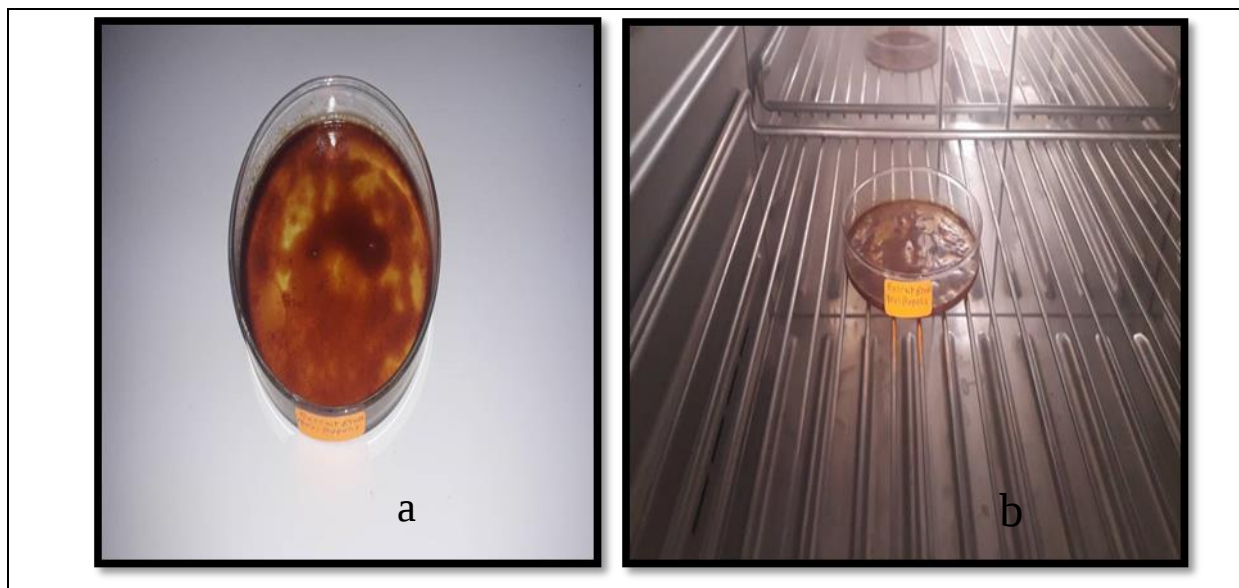


Figure 08: Récupération (a) et séchage (b) des extraits.

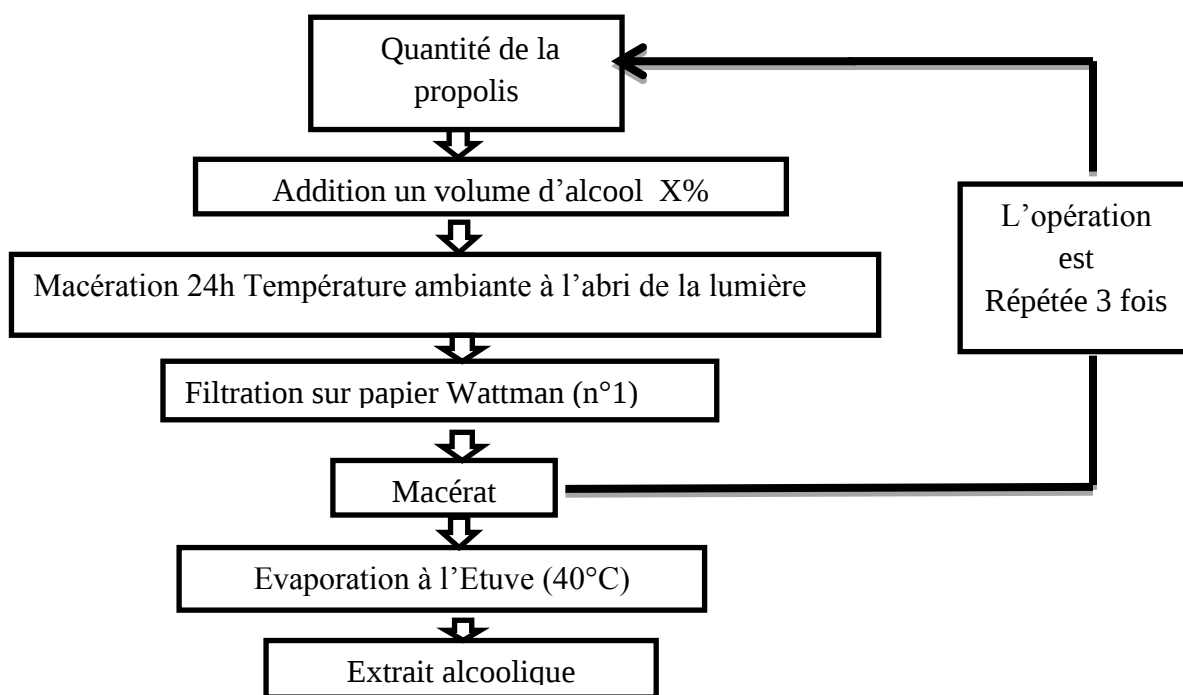


Figure 09: Protocole de préparation de l'extrait éthanolique par macération.

2.1.3 Calcul des rendements

Le rendement d'extraction a été exprimé en pourcentage et calculé selon la formule suivante :

$$\text{Rendement d'extraction (\%)} = \frac{p}{p'} \times 100$$

Où P : poids d'extrait sec exprimé en gramme.

P' : poids de la plante sèche exprimé en gramme.

3. Analyses quantitatives

3.1. Dosage des polyphénols totaux

➤ Principe

Selon la méthode citée par (**Singleton et Rossi, 1965**), le dosage des polyphénols totaux est effectué par le réactif colorimétrique Folin-Ciocalteu.

L'ensemble de ces composés est oxydé par le réactif de Folin Ciocalteu. Ce dernier, de couleur jaune, est constitué par un mélange d'acide phosphotungstique ($H_3PW_{12}O_{40}$) et d'acide phosphomolybdique ($H_3PMo_{12}O_{40}$) qui sont réduits lors de l'oxydation des phénols en mélange d'oxydes bleus de tungstène (W_8O_{23}) et de molybdène (Mo_8O_{23}). La coloration bleue produite est proportionnelle au taux de composés phénoliques, elle a une absorption maximale d'environ 760 nm.

➤ Mode opératoire

Une solution mère d'acide gallique est préparée par dissolution de 10 mg dans 1 ml de méthanol, avec une concentration de $100\mu g/ml$, ensuite des dilutions sont préparées à partir de celle-ci dans un volume final de 2ml.

Dans des tubes à essai, 2ml de carbonate de sodium (Na_2CO_3) à 7.5% est ajouté à 0.5ml de chaque dilution avec agitation. Après 10min, 2.5ml de Folin-Ciocalteu (FC 1/10 N) sont rajoutés. Après 90min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, les absorbances de la couleur bleue résultantes sont lues dans un spectromètre UV- visible à 760nm. Les résultats sont rapportés à une courbe étalon et exprimés en équivalent d'acide gallique.

-Le blanc est préparé de la même manière sauf l'extrait est remplacé par le solvant.

- Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

➤ Expression des résultats

Dans nos extraits le taux de polyphénols totaux a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) établie avec des concentrations précises d'acide gallique ($5-80\mu g/ml$) comme standard de référence.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}_{\text{ext}}$).

3.2. Dosage des flavonoïdes

➤ Principe

Le dosage des flavonoïdes a été effectué par la méthode de trichlorure d'aluminium (AlCl_3) cité par **Simirgiotis et al, (2013)**.

Les flavonoïdes possèdent un groupement hydroxyle (OH) libre, en position 5 qui est susceptible de donner avec le groupement CO, un complexe coloré avec le chlorure d'aluminium. Ils forment par chélation des métaux des complexes jaunâtres. Ceci traduit le fait que le métal (Al) perd deux électrons pour s'unir à deux atomes d'oxygène de la molécule phénolique agissant comme donneur d'électrons. (**Swain et al, 1959**).

➤ Mode opératoire

Une solution mère de quercitine est préparée par dissolution de 10mg dans 1 ml de méthanol, avec une concentration de $100\mu\text{g/ml}$, ensuite des dilutions sont préparées à partir de celle-ci dans un volume final de 2ml.

Dans des tubes à essai, 1 ml de trichlorure d'aluminium est ajouté à 1ml de chaque dilution avec agitation. Après 10 min d'incubation dans l'obscurité et à température ambiante, les absorbances de la couleur jaune résultante sont lues dans un spectromètre UV- visible à 430nm. Les résultats sont rapportés à une courbe étalon et exprimés en équivalent de quercitine.

-Le blanc est préparé de la même manière sauf l'extrait est remplacé par le solvant.

- Toutes les mesures sont réalisées en triplicata.

➤ Expression des résultats

Dans nos extraits le taux de polyphénols totaux a été calculé à partir d'une courbe d'étalonnage linéaire ($y = a x + b$) établie avec des concentrations précises de quercétine ($2,5\text{-}20\mu\text{g/ml}$) comme standard de référence.

Les résultats sont exprimés en microgrammes d'équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait ($\mu\text{g EAG/mg}_{\text{ext}}$).

4. Analyse qualitative par chromatographie sur couche mince CCM

- **Principe**

La chromatographie sur couche mince est la méthode analytique la plus simple, elle est basée sur le partage des solutés entre un adsorbant fixe insoluble (phase stationnaire) et une phase liquide (phase mobile). Chacun des solutés est soumis à une force de rétention par adsorption et une force d'entraînement par la phase mobile. L'équilibre résultant aboutit à une migration différentielle des solutés de l'échantillon à analyser, ce qui permet leur séparation (Richard et Thurston, 1986).

La chromatographie sur couche mince repose essentiellement sur des phénomènes d'adsorption : la phase mobile est un solvant ou un mélange de solvants (élans).

- **Calcul du rapport frontal (R_f)**

Appelé aussi facteur de rétention d'un composé, il est le rapport de la distance ligne de dépôt-composé sur la distance ligne de dépôt-front de solvant.

$$R_f = D_C / D_S$$

Où D_C : distance parcourue par le composé (mesuré au centre de la tache).

D_S : distance parcourue par le front du solvant.

- **Protocole expérimental**

Nous avons utilisé des plaques de CCM en aluminium dans notre étude.

➤ **Le choix de la phase mobile**

Cinq systèmes de solvants sont testés :

Système 1- Ether de pétrole /chloroforme /acide acétique (60/ 30/ 10).

Système 2-acétate d'éthyle/n- butanol (10/10).

Système 3-chloroforme/acétate d'éthyle/acide acétique/méthanol (10/6/6/4).

Système 4-Hexane/acétate d'éthyle/acide acétique/méthanol (4/1.5/1.5./1).

Système 5-chloroforme/acétate d'éthyle/acide acétique (50/50/10).

Deux systèmes de solvant donnent une meilleure séparation (migration), le système 1 et système 4.

➤ Le dépôt

Le dépôt des extraits a été réalisé sur la ligne de dépôt (1 cm du bord inférieur) des plaques CCM en aluminium à un diamètre de 3 mm à l'aide des embouts, puis les laissés sécher.

➤ Développement des plaques

Dans la chambre de migration (cuve) préalablement saturé par la vapeur de la phase mobile, les plaques sont introduites.

Les différents constituants de notre échantillon déposé migrent avec des vitesses différentes selon la polarité.

➤ Visualisation des taches

Après le développement, les plaques sont séchées dans l'étuve, puis visualisées. La visualisation se fait à l'œil nu et avec une lampe UV (254 et 365 nm) et révélation par NH_3 .

5. Test de l'activité antibactérienne

5.1. Souches étudiées

Nous avons choisis sept souches bactériennes. Toutes ces souches sont référencées :

Souches bactériennes		références
Gram positif	<i>Enterococcus faecalis</i>	14C1104
	<i>Bacillus cereus</i>	ATCC10876
	<i>Listeria monocytogenes</i>	ATCC15313
	<i>Micrococcus luteus</i>	ATCC4698
Gram négatif	<i>Proteus mirabilis</i>	ATCC35659
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	ATCC27853
	<i>Escherichia coli</i>	ATCC9738

5.2. Préparation des extraits

Les deux extraits éthanoliques ont été dilués avec le DMSO pour l'obtention des extraits de concentration 100mg/ml (100mg d'extrait est dilué dans 1ml de DMSO).

Les extraits préparés sont liquides de couleur marron.

5.3. Préparation des disques

Le papier filtre (Wattman n°3) est coupé par le perforateur en disques de 6mm. Ces disques sont regroupés dans des papiers aluminiums et autoclavés durant 10min à 120C°.

5.4.Préparation des milieux de cultures

- **Gélose nutritive (GN) et gélose Mueller Hinton(MH)**

Dissoudre une quantité de GN ou de MH poudre dans un volume d'eau distillée, selon leur mode de préparation suivant :

Pour la GN : 28 grammes de poudre par litre d'eau distillée.

Pour le MH : 38 grammes de poudre par litre d'eau distillée.

Ces milieux de cultures ont été mis dans des flacons et autoclavés durant 10min à 120C° pour l'utilisation ultérieure.

5.5. Conservation des souches bactériennes

Les souches bactériennes pures ont été conservées en les repiquant dans des tubes inclinés et dans des boîtes de Pétri coulées par la gélose et en les plaçant au réfrigérateur.

5.6. Réalisation du test antibactérien

Les souches bactériennes ont été repiquées dans la gélose nutritive, puis incubées à 37C° pendant 24heure afin d'obtenir des cultures jeunes et bien isolées dont le but de préparer l'inoculum. Des suspensions ont été préparées à partir de ces cultures dans l'eau physiologique stérile. La suspension a été bien homogénéisée, son opacité est dans l'intervalle de 0,08 à 0,1Mc Ferland.

Les boites de Pétri ont été coulées avec la gélose Mueller Hinton stérile préparée avec une épaisseur de 3mm. Ces boites doivent être séchées à la température ambiante du laboratoire avant leur utilisation.

À partir de la suspension bactérienne, l'ensemencement des boites de Pétri coulées se fait par écouvillonnage à l'aide d'un écouvillon pour le but de la distribution homogène des bactéries.

Les disques ont été déposés à la surface de la gélose inoculée à l'aide d'une pince stérile, ensuite ces disques sont chargés par 10µl d'extrait. Un disque de témoin négatif a été chargé par 10µl de DMSO.

Les boites de Pétri ont été séchées puis incubées à 37C° pendant 24h.

L'activité antibactérienne a été déterminée en mesurant le diamètre des zones d'inhibitions à l'aide d'une règle.

5.7. Antibiogramme

Ce test a été réalisé pour étudier la sensibilité des germes bactériens utilisés et la comparer avec l'effet de nos extraits.

Un antibiogramme a été réalisé suivant les mêmes étapes que la diffusion en milieu solide (celle décrite précédemment).

Les antibiotiques utilisés sont : Imipenème (**IPM₁₀**), Gentamicine (**GEN₁₀**), Amikacine (**AK₃₀**), Céphazoline (**CZ₃₀**), Ampicilline (**AMP₁₀**), Chloramphénicol (**C₃₀**).

5.8. Etude de synergie entre extraits et antibiotiques

Pour évaluer la présence ou l'absence de l'effet synergique des extraits de la propolis, des disques d'antibiotiques sont imprégnés avec 10µL de chaque extrait de concentration de 10 mg/ml. Ce test est effectué avec trois antibiotiques de différentes familles et mode d'action: Ampicilline (**AMP₁₀**), Céphazoline (**CZ₃₀**) et Gentamicine (**GEN₁₀**), sur quatre souches bactériennes (*Enterococcus faecalis* 14C1104, *Bacillus cereus* ATCC10876, *E.coli* ATCC9738 et *Listeria monocytogenes* ATCC15313).

CHAPITRE II

Résultats et discussion

1. Rendement des extraits bruts

A partir de 20 grammes de propolis de Mila (Prop1) et de 50 gramme de celle de Guelma (Prop2), le rendement a été déterminé.

Les résultats ont été exprimés en pourcentage massique. Les rendements d'extractions de la propolis par l'éthanol sont présentés dans la figure10.

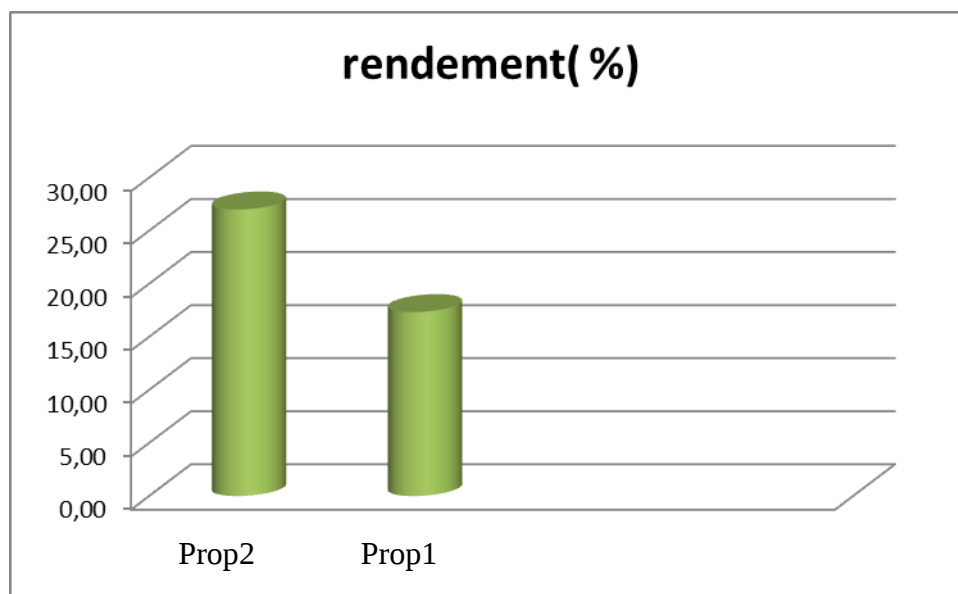


Figure 10: Rendements des extraits éthanoliques de la propolis.

Le rendement d'extraction de nos extraits de prop1 et de prop2 est de l'ordre de 17,33% et 27% respectivement, nous remarquons que l'extrait de prop2 présente un meilleur rendement (27%).

Nos résultats du rendement, particulièrement de prop2 sont très proches comparativement des rendements de propolis de la région de Sétif varie de (28,24% à 40,73%) (**Soltani ,2017**).

Les rendements de la propolis rapportés par **Bensaleh et Belhadj (2018)** concernant les régions de Mostganem et Chlef sont 5% et 8,2% respectivement, qui sont inférieur 2 à 5 fois de nos résultats.

Trusheva et al, (2007) ont trouvé un rendement de 55% pour la propolis d'Italie, qui est un rendement supérieur de nos rendements.

Toutes ces différences de rendement d'extraction pourraient être expliquées par les différentes méthodes d'extraction, le pH du milieu d'extraction, la température et aussi par les

espèces d'abeilles, la période de récolte et la flore spécifique de la région (Popava et al, 2010).

2. Etude quantitative

L'étude quantitative des extraits bruts de la propolis, avait pour l'objectif de la détermination de la teneur des polyphénols totaux et des flavonoïdes, au moyen des dosages spectro-photométrique.

2.1. Dosage des polyphénols totaux

Les polyphénols totaux ont été déterminés par la méthode de Folin-Ciocalteu. L'acide gallique a été utilisé comme standard et l'absorbance a été lue dans une longueur d'onde de 760 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une série de solution d'acide gallique de différentes concentrations soumis aux analyses de leur absorbance.

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations utilisées (Figure 11). Les analyses quantitatives des données ont été déterminées suite à une régression linéaire de la courbe ($y = 0,0062x - 0,0191$) et le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,9824$) de la courbe d'étalonnage exprimées en microgramme équivalent d'acide gallique par milligramme d'extrait de propolis ($\mu\text{g EAG/mg}$ de propolis).

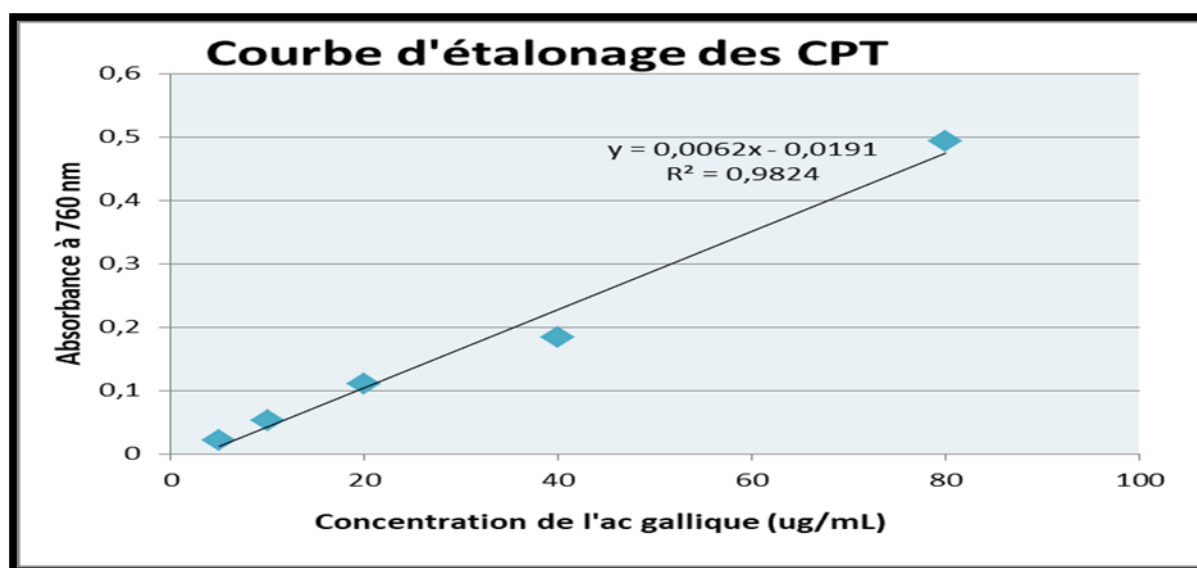


Figure 11: Courbe d'étalonnage d'acide gallique.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de propolis analysés sont présentés dans le tableau 05:

Tableau 05: Teneur en polyphénols des deux extraits de propolis.

Echantillons	[C] μg équivalent d'Ac gallique/mg d'extrait $\pm$ Ecartype
Prop1	154,58 $\pm$ 5,77
Prop2	156 $\pm$ 13,43

D'après les résultats obtenus, nous remarquons que la teneur en polyphénols totaux de nos extraits: Prop2 et prop1 sont proches. Prop2 présente la valeur la plus élevée qui est 156 $\pm$ 13,43 μg EAG/mg d'extraits et prop1 présente 154,58 $\pm$ 5,77 μg EAG/mg d'extraits.

Les investigations faites sur la détermination de la teneur en polyphénols totaux de la propolis d'abeille sont nombreuses, et les résultats sont différents d'une étude à l'autre, on peut citer quelques-unes:

L'étude de **Nadji et Loucif-Ayad (2014)** sur l'extrait de propolis provenant de la willaya d'Annaba, a montré un teneur de 100,90 $\pm$ 2,72 mg EAG/g Ext qui est proche aux résultats de notre étude.

Par ailleurs, dans d'autres études réalisées sur la propolis de Béjaia et Oued-ghir (nord-Est algérien) où les résultats sont compris entre 15 et 53,51 mg EAG/g d'extrait. Cette valeur est inférieure à celles trouvés dans la présente étude (**Mouhoubi-Tafinine et al, 2016**).

Tandis que d'autres travaux réalisés sur la propolis française dont les teneurs en polyphénols sont plus importantes, allant de 200 et 300 mg EAG/g d'extrait (**Rusheva et al, 2007**).

Ces résultats sont jugés satisfaisants si on se réfère à ceux trouvés dans l'étude réalisée sur la propolis du Portugal avec des taux de 151,00 $\pm$ 0,01 mg EAG/g de propolis pour la région de Fundão (**Leandro et al, 2008**).

L'étude réalisée sur la propolis Iranienne montre une teneur en polyphénols moins importante que les notre, qui est compris entre 30,8 à 84,6 mg EAG/g d'extrait (**Mohammadzadeh et al, 2007**).

Touzani et al (2018) ont rapporté que, la propolis récoltée dans la République Tchèque, présente une teneur en polyphénols de 129,83 mgEAG/g d'extrait.

La propolis brésilienne présente des teneurs en polyphénols de l'ordre de 25,867% ; 12,892% et 5,620% respectivement pour CaboVerde, Ponta Grossa et Picos (**Righi et al, 2013**).

Laskar et al (2010) ont trouvé une moyenne de teneur en polyphénols de $159 \pm 0,69 \mu\text{g}$ EAG /mg d'extrait de propolis Indian qui est un résultat très proche à notre résultat.

D'après ces études réalisées sur les échantillons de différentes régions, il paraît clairement que la teneur en polyphénols dépend de l'origine géographique et botanique, le moment et la méthode de la récolte, le solvant et la méthode utilisés pour l'extraction (**Ratajczak et al, 2019**).

2.2. Dosage des flavonoïdes

La détermination quantitative des flavonoïdes s'effectue par la méthode de Trichlorure d'Aluminium, celle-ci est la plus employée, elle se base sur la formation d'un complexe flavonoïde-ion d'aluminium ayant une absorbance maximale à 430 nm.

Une courbe d'étalonnage est réalisée à partir d'une série de solution de quercétine de différentes concentrations soumis aux analyses de leur absorbance.

La courbe montre une linéarité de l'absorbance en fonction des concentrations utilisées (figure 12). Les analyses quantitatives des données ont été déterminées suite à une régression linéaire de la courbe ($y = 0,044x - 0,0976$) et le coefficient de corrélation ($R^2 = 0,999$) de la courbe d'étalonnage exprimées en μg équivalent quercétine par mg d'échantillon de propolis ($\mu\text{g EQ/mg}$ d'extrait).

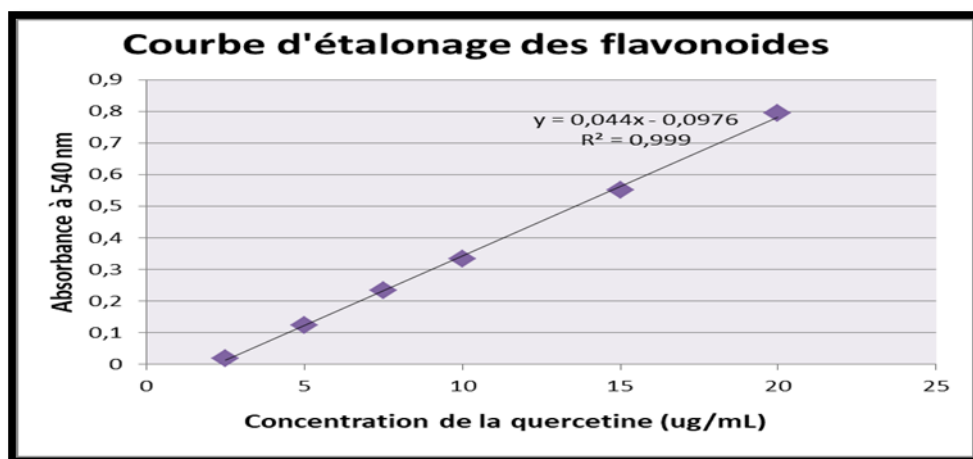


Figure12: Courbe d'étalonnage de quercétine.

Les résultats du dosage des polyphénols totaux dans les échantillons de propolis analysés sont présentés dans le tableau 06.

Tableau 06: Teneur en flavonoïdes des deux extraits de propolis.

Echantillons	[C] µg équivalent de quercétine d'extrait ± Ecartype
Prop1	17,30±0,016
Prop2	24,59±3,21

D'après les résultats obtenus, l'échantillon de prop2 contient une teneur en flavonoïdes de 24,59±3,21 µg EQ/mg d'extraits qui est plus importante en comparant avec celle de prop1 qui est de 17,30±0,016 µg EQ/mg d'extraits.

Belfar et al (2015) réalisent une étude sur quatre régions algériennes : Mostagane, Bejaia, Boumerdes et Ghardaïa. Les résultats de deux premières régions sont correspond avec nos résultats de 28,304±0,232 mg EQ/g et 19,626±0,301 mg EQ/g respectivement. Par contre les deux autres régions ne correspondent pas avec nos résultats qui présentent des teneurs élevées de 210,884±0,754 mg EQ/g et 74,827±0,995 mg EQ/g.

Alors que la teneur en flavonoïdes totaux de la propolis provenant de Sétif, Est de l'Algérie, varie de 132±0,016 ; 130,76 ±0,01 et 111±0,07 µg EQ/mg de propolis brute pour les régions de Sétif, Ain-Abbassa et Babbar qui ne sont compatibles avec nos résultats (**Soltani, 2018**).

En revanche, une autre étude de **Mohammadzadeh et ses collaborateurs (2007)** ont montré que la teneur en flavonoïdes totaux décelée dans les extraits éthanoliques de la propolis Iranienne était de $31,1 \pm 0,081$ et $12,2 \pm 0,33$ $\mu\text{gEG/mg}$ de propolis respectivement pour l'échantillons d'Isfahane et Khorsan.

Si on désire comparer ces résultats avec les études de **Wang (2016)** réalisées sur la propolis Kourienne, la teneur en flavonoïdes est satisfaisante avec un taux varie de 21 à 50 mgEQ/g de propolis.

Touzani et al (2018) ont rapporté que la propolis récoltée en Irlande a présenté 2,86 mgEQ/g de propolis en flavonoïdes. Ces résultats sont très inférieurs aux nos résultats.

La différence entre les anciens résultats et les résultats actuels peut revenir à différents facteurs: l'environnement, la période de récolte, la technique d'extraction, la région géographique et la végétation (**Kumazawa et al, 2004**).

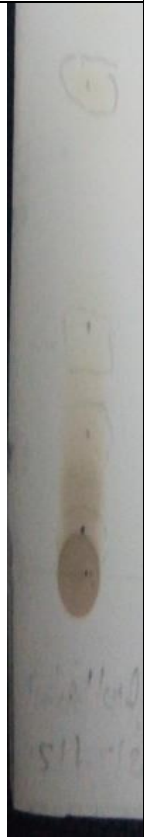
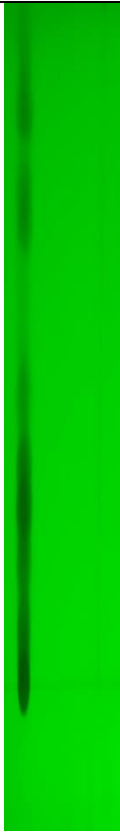
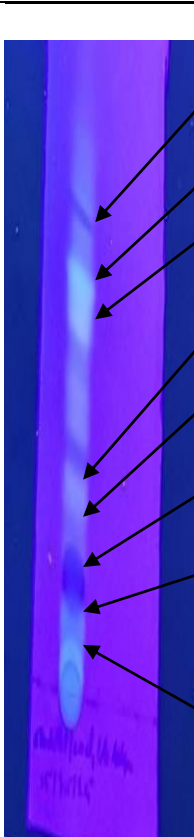
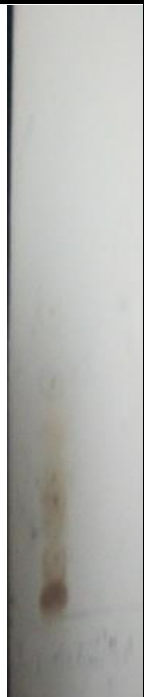
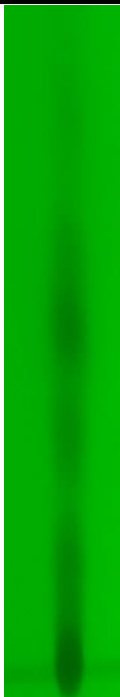
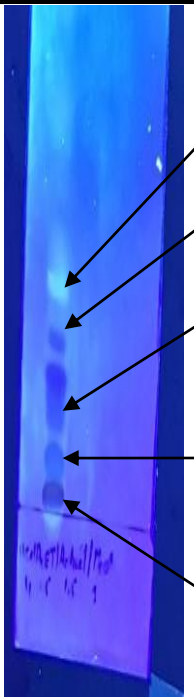
3. Etude qualitative

La chromatographie est une méthode simple d'utilisation et peu coûteuse utilisée dans l'analyse phytochimique d'extraits bruts ainsi que de produits isolés purs, et pour cela nous l'avons choisie dans notre étude afin d'identifier les différents composants présents dans l'extrait éthanolique de propo2.

Après plusieurs essais de systèmes de solvants, nous avons adopté les deux systèmes qui ont donnés des meilleures séparations. Le système 1 (60/ 30/ 10) qui a donné une bonne séparation et une visibilité acceptable des spots en indiquant la migration au moins de sept taches. Le système 2 (4/1,5/1,5/1) aussi a donné une migration et une visibilité bonne des spots et des taches au moins de quatre.

Afin d'identifier les composés, nous avons comparé les RF et les couleurs observées sous lampe UV 365 nm après une révélation avec le NH_3 des spots apparus en CCM avec ceux de la littérature, pour connaître les composés phénoliques et les types des flavonoïdes (tableau 07).

Tableau 07: Composés phénoliques identifiés par CCM dans l'extrait Prop2.

Système de solvant	Résultat à l'œil nu	Résultat sous UV		Couleur sous UV	Rf	Type de composé possible (Markhm, 1982)
		Lampe 250	Lampe 365			
Ether de pétrole /chloroforme /acide acétique				Mauve	0,75	Anthocyanidine.
				Bleu fluorescent	0,63	Acide phénolique, Coumarines.
				Jaune	0,54	Flavonols.
				Bleu	0,25	Acide phénolique, Coumarines.
				violet	0,21	Flavones
				Mauve	0,16	Anthocyanidine.
				Bleu	0,08	Acide phénolique, Coumarines.
				Bleu fluorescent	0,05	Acide phénolique, Coumarines.
Hexane/acétate d'éthyle/acide acétique/méthanol				Bleu fluorescent	0,43	Acide phénolique, Coumarines.
				Mauve	0,33	Anthocyanidine.
				Marron	0,15	Anthocyanidine, Flavonols, Flavones, Aurones.
				Bleu	0,08	Acide phénolique, Coumarines.
				Marron	0,02	Anthocyanidine, Flavonols, Flavones, Aurones.

La CCM de l'extrait prop2 dans le système1 donne 8 taches détectées sous la lampe UV à 250-365 nm. La fluorescence des spots était: Bleu fluorescent, jaune, violet et mauve, avec des Rf varie entre 0,05 à 0,75. Dans le système 4, nous avons obtenu 5 taches sous la lampe UV à 250-365 mn. La couleur des spots était: Bleu fluorescent, mauve et marron à des Rf déferentes qui varient entre 0,02 à 0,43.

D'après les résultats de **Markhm (1982)** sur l'identification des composés par chromatographie sur couche mince qui a montré que la fluorescence marron des taches sur le chromatogramme corresponde aux anthocyanidines, flavonols, flavones et aurones, la fluorescence mauve représente l'Anthocyanidine, la couleur jaune contient des flavonols, le violet contient des flavones et le bleu corresponde aux acides phénoliques et coumarines.

En effet, l'étude de **Lahouel (2005)** a confirmé la relation entre la couleur du composé, sa nature et son mode de substitution. Le Tableau ci-dessous résume cette relation.

Tableau 08: Relation entre la fluorescence sous UV et la structure des flavonoïdes (**Lahouel, 2005**).

Spot coloré	Types de flavonoïdes
Noir, Marron	Flavonols 5, 6, 7 tris-OH libres. Flavonols 5, 7, 8 tris-OH libres.
Violet	Flavones 5 – OH et 4' –OH. Flavones 3– OR et 5 –OH, 4' –OH. Flavones ou Flavonols 5 – OH avec 4' -OH absent ou substitué en3. Flavones 6 – ou 8 –OH. Chalcones, isoflavones, dihydroflavonals, flavanones.
Bleu clair (fluorescent)	Flavones sans 5 – OH libres. Flavones sans 5 – OH libres avec 3 –OH substitué.
jaune	Flavonols 3- OH libres avec ou sans 5 –OH substitué.
Jaune Fluorescent	Flavonols avec 3- OH libre.
Jaune pâle	Dihydroflavonols.

4. Evaluation de l'activité antibactérienne

La méthode de diffusion des disques nous a permis de vérifier le pouvoir antibactérien des extraits de propolis vis-à-vis les souches bactériennes choisies. Après incubation à 37°C pendant 24h.

4.1. Activité antibactérienne à la concentration de 100mg/ml.

Les résultats de l'activité antibactérienne de prop2 à la concentration 100 mg/ml sont présentés dans le tableau 09 et la figure 13:

Tableau 09: Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (mm) de prop2 à la concentration 100mg/ml.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de la croissance bactérienne (mm)				
	Extrait (100mg/ml)	ATB			
	Prop2	IPM ₁₀	AK ₃₀	C ₃₀	CZ ₃₀
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	9,25 ± 0,35	22,5±0,71	NT	NT	NT
<i>Bacillus cereus</i> ATCC10876	11,25 ± 0,35	NT	NT	22± 0	NT
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313	8,25 ± 0,35	NT	NT	NT	7,25± 0,35
<i>Enterococcus faecalis</i> 14C1104	13 ± 4,24	NT	NT	NT	25± 0
<i>Micrococcus luteus</i> ATCC4698	10,5 ± 0,71	NT	NT	40,5± 0,71	NT
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> ATCC27	8,5± 0,71	NT	21,5± 0,71	NT	NT

NT : Non testé

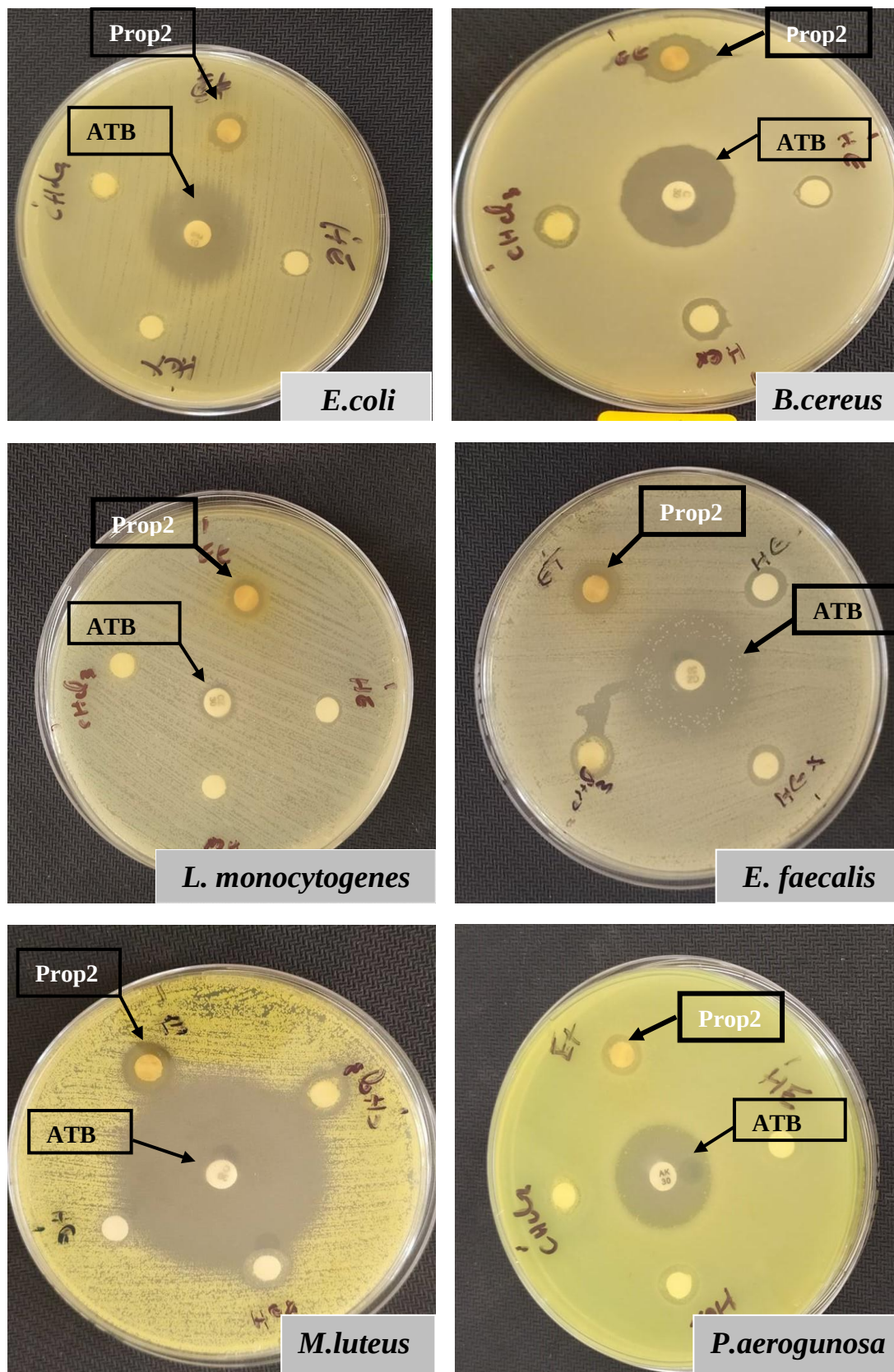


Figure 13: Photos représentant les diamètres des zones d'inhibition par prop 2 à la concentration 100mg/ml.

Les résultats de l'activité antibactérienne de prop 2 de concentration 100 mg/ml testée sur les six souches étudiées montrent que notre extrait a une activité antibactérienne considérable.

Une meilleure activité est obtenue contre *E.faecalis* et *B.cereus* avec des zones d'inhibitions de 13 mm et 11,25 mm respectivement, suivi par *M.luteus* avec (ZI=10,5 mm), et *E.coli* avec (ZI= 9,25 mm) et finalement *P.aeruginosa* et *L.monocytogenes* avec (ZI=8,5 mm et 8,25 mm), respectivement.

Notre résultat concernant la souche *E.coli* est confirmé par **(Boufadi et al, 2016 ; Segueni et Rhouati, 2011)** qui ont étudié l'activité antibactérienne de la propolis Algérienne: Tizi Ouzou, Mostaganem, Mila (ELmalha) et Jijel (Kaous) qui a donné des ZI= 11 mm, 11,5 mm, 10 mm et 14 mm, et par **(Graikou et al, 2016 ; Mohamed et al, 2016 ; Bayram et al, 2017 ; Béji –Srairi et al, 2020)** qui ont réalisé des études sur la propolis de la Grèce, l'Egypt, la Turquie et la Tunisie et ont obtenu des zones d'inhibitions respectivement de 17 mm ; 16 mm ; 10 mm et 7,3 mm.

Les échantillons de Mila (ELmalha) et Jijel (Benibalid) ont montré une meilleure activité contre *P.aeruginosa* avec des ZI =10 mm **(Segueni et Rhouati, 2011)**. Aussi Les échantillons de Grèce, Chypre et Croatie montrent une bonne activité de ZI=15 mm ; 15 mm et 12 mm contre la même souche **(Graikou et al, 2016)**.

Selon **Bayram et al, 2017 ; Mohamed et al, 2016**, les échantillons de la Turquie et l'Egypt présentent une bonne activité antibactérienne contre *B.cereus* de ZI=19 mm et 8 mm ce qui est confirmé par notre étude.

La propolis de Turquie (Izmir Foça) a montré une activité antibactérienne de ZI= 8 mm contre la souche *E.faecalis* **(Dogan et al, 2014)**.

L'extrait de Turquie (Manisa-Slihli) et d'Italie a donné une forte inhibition vis-à-vis *L. monocytogenes* de ZI= 7,8 mm et 12 mm **(Dogan et al, 2014 ; Pedonese et al, 2019)**.

L'étude de **(Dogan et al, 2014 ; Béji –Srairi et al, 2020)** sur la propolis de la Turquie et la Tunisie a montré une bonne activité remarquable contre *M.luteus* avec des zones d'inhibition de 9,9 mm et 9,33 mm, respectivement.

Pendant des années, l'effet antibactérien de la propolis a également été testé. **Anjum et al (2018)** ont montré que cette dernière est due à l'interaction entre les composés actifs et d'autres composés tels que: pinostrobin, galangine, pinocembrine...etc. Nous avons obtenu des

résultats important, ces résultats sont expliquées par la corrélation entre les polyphénols et d'autre composés phénoliques notamment les flavonoides qui ont été déjà déterminés dans nos extraits par les analyse qualitatives et quantitatives.

4.2. Activité antibactérienne et association extrait/ATB

Le tableau 10 et la figure 14 représentent les résultats de l'activité antibactérienne des deux extraits à la concentration 10 mg/ml sur les quatre souches bactériennes et l'association de ces extraits avec les antibiotiques (gentamicine, ampicilline et céfazoline).

Tableau 10: Diamètres d'inhibitions de la croissance bactérienne (mm) et association extrait/ATB.

Souches bactériennes	Diamètres des zones d'inhibition de croissance bactérienne (mm)						
	Extraits(10mg/ml)		ATB			Association	
	Prop2	Prop1	GEN ₁₀	AMP ₁₀	CZ ₃₀	Prop2+ ATB	Prop1 +ATB
<i>Escherichia coli</i> ATCC25922	6,75±0,35	7,75±0,35	21±2,12	NT	NT	28	27,75± 3,18
<i>Enterococcus faecalis</i> 14C1104	9,25±1,06	8,75±0,35	NT	19,25± 0,35	NT	23	20,25± 0,35
<i>Listeria monocytogenes</i> ATCC15313	NI	NI	NT	NT	NI	NI	NI
<i>Bacillus Cereus</i> ATCC10876	7	8,75±0,35	NT	19,5± 0,71	NT	23,75± 0,35	23,25± 0,35

NI = pas d'inhibition.

NT = non testé.

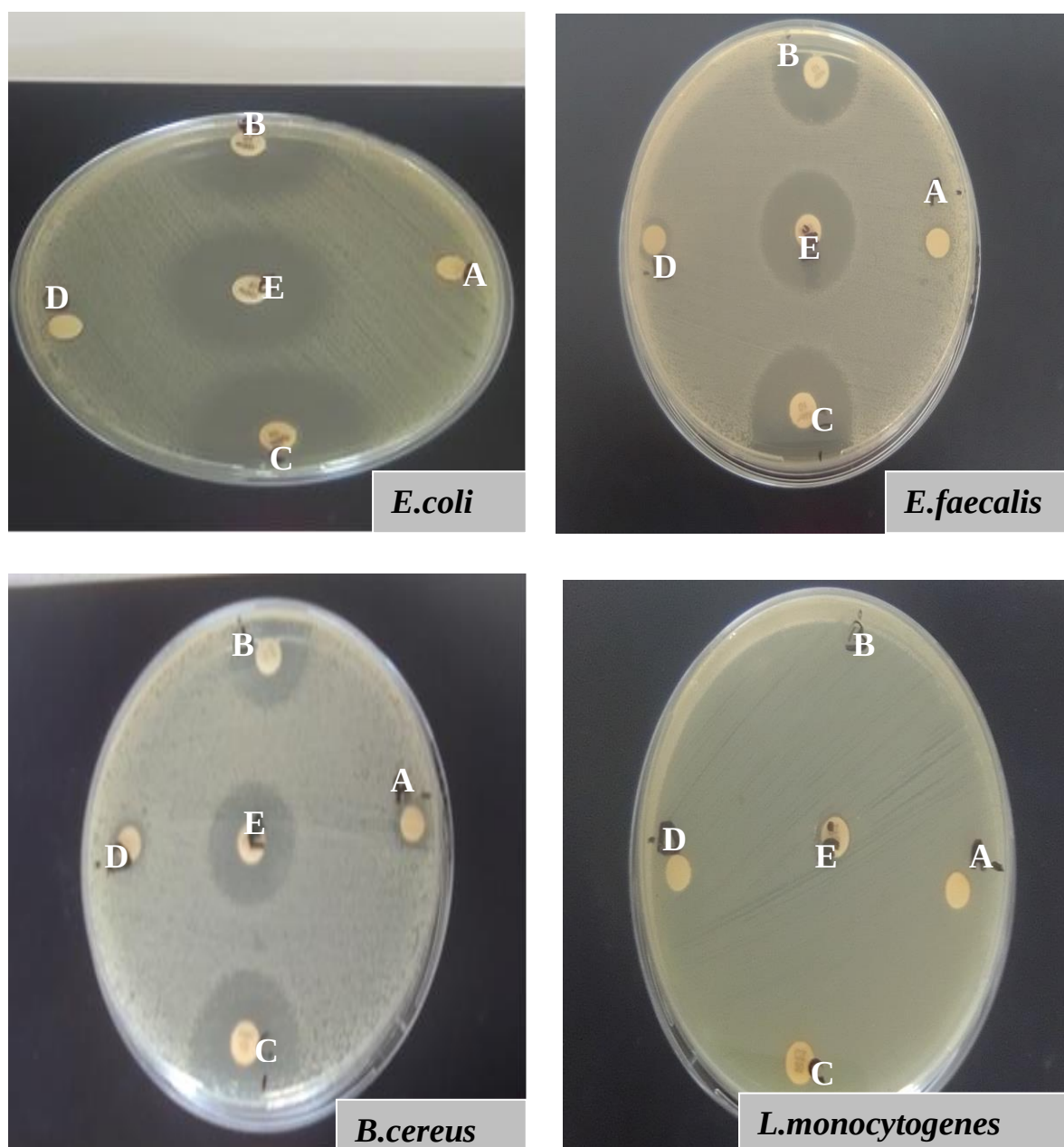


Figure 14: Photos représentant les zones d'inhibition de la croissance bactérienne de prop1 et prop 2 et association extrait/ATB (A: extrait de prop2 ; B: ATB ; C: Ext1+ ATB ; D: extrait de prop1; E: Ext2+ATB).

Les résultats de l'activité antibactérienne des extraits éthanoliques de la propolis à la concentration de 10 mg/ml testée vis-à-vis les quatre souches bactériennes (*E. coli*, *B. cereus*, *E. faecalis* et *L. monocytogenes*) ont montré que les deux extraits ont inhibé leurs croissance à l'exception de *L. monocytogenes* qui n'a pas présenté aucune activité.

Les extraits de propolis sont plus actifs sur les bactéries à Gram positif (*B.cereus* et *E.faecalis*) avec des zones d'inhibitions allant de 7 mm à 9,25 mm. Les valeurs enregistrées contre les souches à Gram négatif ne dépassent pas 6,75 mm de diamètre.

Ces résultats se concordent avec ceux obtenus par plusieurs chercheurs qui ont montré que les bactéries à Gram positif sont plus sensibles que les bactéries à Gram négatif aux extraits de propolis (**Pobiega et al, 2017**).

Velazquez et al (2007) ont étudié l'activité antibactérienne des extraits de propolis de la région de Mexique contre *E.faecalis* et *E.coli*. Leurs résultats se concordent avec les nos en ce qui concerne la souche *E.faecalis*. En revanche, ils ont trouvé que la souche *E.coli* était résistante vis-à-vis leurs extraits de propolis, ce qui est en désaccord avec notre résultats.

Une autre étude a rapporté que *B.cereus*, *E. faecalis* et *E.coli* étaient sensibles aux extraits de la Turquie en enregistrant des valeurs ZI de 19mm ; 14mm et 10mm repectivement, et qui accord avec nos résultats (**Bayram et al, 2017**).

Nos résultats concernant la souche *L.monocytogenes* s'opposent avec celles de **Shahbazi et al, 2018 et Skowron et al, 2020** qu'ils ont montré que cette souche possède une activité antibactérienne modérée avec une CMI de 0,2 mg/ml.

La propolis possède une activité antibactérienne en particulier contre les bactéries à Gram positif, cette activité est due aux flavonoïdes et acides aromatiques et aux esters présents dans la résine. La faible sensibilité des bactéries à Gram négatif à l'égard de l'extrait éthanolique de la propolis serait due à leur membrane externe qui empêche le passage de la propolis (**Bayram et al, 2017; Tegos et al, 2002**).

D'autre part, nos extraits de la propolis à concentration de 10 mg/ml ont été combinés avec la gentamicine, ampicilline et céfazoline afin de déterminer d'une manière quantitative la capacité éventuelle des composés phénoliques à améliorer l'effet antibactérien.

La synergie est définit par **Rani et al (2009)** comme la combinaison entre deux composés différents pour améliorer leurs activités individuelles. Si la combinaison déclinant on parle de l'antagonisme.

La gentamicine en association avec chaqu'un des deux extraits prop1 et prop2 a montré une amélioration de l'activité antibactérienne contre *E.coli* par une valeur de 6,75 mm et 7 mm de diamètre, respectivement. En plus, nos extraits ont prouvé un effet additif en se combinant

avec l'ampicilline contre *E.faecalis* et *B.cereus* en enregistrant des valeurs d'amélioration allant de 1 mm à 4,25 mm de diamètre d'inhibition. Par contre aucun effet additif n'a été enregistré contre *L.monocytogenes* en associant nos deux extraits avec céfazoline.

Nos résultats de l'action synergique des extraits avec les antibiotiques ont montré la capacité de la propolis à renforcer l'action des antibiotiques ce qui est confirmé par des études précédentes (Stepanović et al, 2003).

La présente étude a été la première des genres où nos extraits de propolis ont été utilisés en synergie avec gentamicine, ampicilline et céfazoline contre *E.coli*, *E.faecalis*, *B.cereus* et *L.monocytogenes*.

Une étude antérieure a rapporté l'effet synergique de la propolis d'Inde à concentration 40mg/ml combinée avec céfixime contre *Salmonella Typhimurium* de CMI égal 0,02 µg/ml (Kalia et al, 2017).

Fernandes Junior et al (2005) ont réalisé une étude sur l'association de propolis brésilienne avec des antibiotiques: ampicilline, gentamicine et tétracycline contre *Staphylococcus aureus*. Ils ont montré que leur extrait a un effet synergétique significatif estimé à 25 mm ; 26 mm et 27,5 mm de diamètre respectivement aux antibiotiques.

La propolis irakienne à la concentration de 100mg/ml en combinant avec la gentamicine et l'ampicilline contre *Salmonella Typhi* a manifesté un effet additif de ZI= 27 mm et 40 mm de diamètre (AL-safi, 2013).

L'effet synergique est dû à l'interaction entre les principes actifs de l'antibiotiques et les polyphénols de l'extrait. Cette interaction permet la formation d'un complexe plus efficace dans l'inhibition des souches bactérienne, soit par l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire ou en provoquant la lyse ou la mort de ces microorganismes (Chanda et Rakholiya, 2011).

Conclusion

Dans la recherche d'une meilleure médication, les chercheurs utilisent des substances naturelles qui occupent de plus en plus une place importante dans la thérapie. La propolis est l'une de ces substances qui est constituée de véritable usine chimique grâce à sa composition et aussi c'est une alternative efficace de plusieurs maladies et troubles. Ce produit est choisis grâce à sa facilité dans la récolte et ne présente aucun effet secondaire.

Le présent travail a porté sur la quantification des composés phénoliques totaux et flavonoïdes et évaluation de l'activité antibactérienne de deux extraits obtenus par extraction éthanolique. La détermination des rendements a montré que nos extraits ont des rendements importants. Les extraits obtenus subissent des dosages des composés phénoliques totaux et flavonoïdes par les méthodes colorimétriques en utilisant le Folin-Ciocalteu et le chlorure d'aluminium comme réactifs, ils se sont montrés riches en polyphénols et flavonoïdes. Ces derniers ont été séparés par CCM pour l'identification.

Les composés phénoliques sont principalement reconnus pour leur importante activité antibactérienne. Cette activité a été testée contre sept souches référencées de Gram positif et Gram négatif selon la méthode de diffusion sur milieu solide d'où nos extraits possèdent une activité antibactérienne puissante. L'association extraits/antibiotiques qui est réalisée sur quatre souches de différent Gram montre que nos extraits ont des effets additifs remarquables.

À la fin de cette étude, nous perspectives d'approfondir ce thème de propolis par :

- L'inclusion de la propolis dans nos rations alimentaires.
- L'étude de l'activité antibactérienne sur des bactéries pathogène et résistant pour valoriser l'utilisation des substances naturelles dans le traitement de différentes maladies.
- L'encouragement des gens à la récolte de propolis.
- L'étude des interactions de propolis avec tous les antibiotiques.
- La combinaison de la propolis avec les autres produits de la ruche dans la recherche d'optimiser leurs effets.
- La favorisation de l'utilisation de propolis dans les établissements sanitaires.

Références bibliographiques

1. **Aguiar S. C., Cottica S. M., Boeing J. S., Samensari R. B., Santos G. T., Visentainer J. V., Zeoula L. M. (2014):** Effect of feeding phenolic compounds from propolis extracts to dairy cows on milk production, milk fatty acid composition, and the antioxidant capacity of milk. *Animal Feed Science and Technology*, 193, 148–154.
2. **Aliyazıcıoglu R., Sahin H., Erturk O., Ulusoy E., et Kolayli S. (2013):** Properties of phenolic composition and biological activity of propolis from Turkey. *International Journal of Food Properties*, 16, 277– 287.
3. **AL-safi S. M. (2013) :** Synergistic effect of propolis and antibiotics on the *Salmonella typhi* TY21. *Kufa Journal For Veterinary Medical Sciences*, 4(1), 118-127.
4. **Anjum S.U., Amjad U., Khan K.A ., Attaullah M; Khan H ., Hussain A., Bashir M.A, Tahir A ., Ansari M.J., Ghramh H.A ., Adgaba N ., Dash C.K. (2018):** Composition and functional properties of propolis (bee glue): A review. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
5. **Anonyme.(2018):** <https://www.antibioresponsable.fr/antibiotherapie/-/media/5387F321-0D8B-4DA2-AF07-7EA899E69F37.ashx>.
6. **Bankova V., Popova M., et Trusheva B. (2016):** New emerging fields of application of propolis. *Macedonian Journal of Chemistry and Chemical Engineering*, 35(1), 1-11.
7. **Barbarić M., Mišković K., Bojić M., Lončar M. B., Smolčić-Bubalo A., Debeljak Ž., Medić-Šarić M. (2011):** Chemical composition of the ethanolic propolis extracts and its effect on HeLa cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 135, 772– 778.
8. **Bayram S., Bayram N E., Gercek Y C., Aydogan M N., Oz GC. (2017):** Chemical Analysis and Antimicrobial Effect of Propolis from Hakkari Province of Turkey Against Some Pathogenic Microorganisms ,*Eur J Biol.* 76(2):74-78.
9. **Béji-Srairi R., Younes I., Snoussi M., Yahyaoui K., Borchard G., Ksouri R, Frachet V., Wided M K. (2020):** Ethanolic extract of Tunisian propolis: chemical composition, antioxidant, antimicrobial and anti-proliferative properties. *Journal of Apicultural Research*: 1-11.
10. **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, *International Journal of Electrochemical Science* 2015;10.
11. **Bensalah N., et Belhadj A. (2018):** Etude comparative du contenu en polyphénols totaux et de l'activité antimicrobienne de trois traits de propolis locale. *Mémoire de maîtrise*. Algérie : Université Abdelhamid Ibn Badis-Mostaganem.

12. **Boisard S., Le Ray A. M., Gatto J., Aumond M. C., Blanchard P., Derbré S., Richomme P. (2014):** Chemical composition, antioxidant and anti-AGEs activities of a French poplar type propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 62, 1344–1351.
13. **Boufadi Y M., Soubhye J., Nève J., Van Antwerpen P., Riazi A.(2016)**
:Antimicrobial effects of six Algerian propolis extracts. *International Journal of Food Science and Technology*, 51(12):2613–2620.
14. **Bouyahya A., Bakri Y. ET- Touys A. (2017):** Résistance aux antibiotiques et mécanismes d'action des huiles essentielles contre les bactéries : photothérapies : 1-2.
15. **Bueno-Silva B., Marsola A., Ikegaki M., Alencar S. M., et Rosalen P. L. (2017):** The effect of seasons on Brazilian red propolis and its botanical source: Chemical composition and antibacterial activity. *Natural Product Research*, 31, 1318– 1324.
16. **Burdock G.A. (1998):** *Food Chem. Toxicol.* 36 -347-363.Cairo 8th-9th March, 1997.
17. **Cardinault N., Cayeux M. O., et du Sert P. P. (2012):** La propolis: origine, composition et propriétés. *Phytothérapie*, 10(5), 298-304.
18. **Carle S. (2009):** La résistance aux antibiotiques: un enjeu de santé publique important. *Pharmactuel. Centre Universitaire de santé Mc Gill.* 42: 6-21.
19. **Chaa S., Boufadi M. Y., Keddari S., Benchaib A. H., Soubhye J., Van Antwerpen P., et Riazi A. (2019):** Chemical composition of propolis extract and its effects on epirubicin-induced hepatotoxicity in rats. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 29, 294– 300.
20. **Chanda S., Rakholiya, K. (2011) :** Combination therapy: Synergism between natural plant extracts and antibiotics against infectious diseases. *Microbiol Book Series*, 1, 520-529.
21. **Choi S. J., Shimomura K., Kumazawa S., et Ahn R. (2013):** Antioxidant properties and phenolic composition of propolis from diverse geographic regions in Korea. *Food Science and Technology Research*, 19, 211– 222.
22. **Daikh A., Segueni N., Dogan N. M., Arslan S., Mutlu D., Kivrak I., Rhouati S. (2020):** Comparative study of antibiofilm, cytotoxic activity and chemical composition of Algerian propolis. *Journal of Apicultural Research*, 59, 160– 169.
23. **Debuyser Eric. (1984):** La propolis. Thèse pour le diplôme d'état de docteur en pharmacie. Université de Nante,faculté de pharmacie.

24. **Dogan N., Doganli G., Ülger G., Habesoglu D., Güzel S., Yasar Y., Arar D., Şensoy T., et Bozbeyoglu N. (2019):** Antibiofilm Effect of Two Propolis Samples from Turkey. *Journal of Applied Biological Sciences*, 8(2), 27-31.
25. **Duca A., Sturza A., Moacă E. A., Negrea M., Lalescu V. D., Lungeanu D., Alexa E. (2019):** Identification of resveratrol as bioactive compound of propolis from western Romania and characterization of phenolic profile and antioxidant activity of ethanolic extracts. *Molecules*, 24, 3368.
26. **Džidić S., Šušković J., et Kos B. (2008):** Antibiotic resistance mechanisms in bacteria: biochemical and genetic aspects. *Food Technology et Biotechnology*, 46(1).
27. **El Ghafouli S. (2020):** déterminer l'effet de certains antibiotiques sur la biosynthèse de peptidoglycane. Thèse de doctorat en Médecine Mohammed V de Rabat.
28. **Esposito C., Garzarella E.U., B. Bocchino., M.D'Avino c., G.Caruso c., A.R. R. Sacchi., Galeotti F., Tenore a f C., Zaccariag V., Daglial M. (2021):** A standardized polyphenol mixture extracted from poplar-type propolis for remission of symptoms of uncomplicated upper respiratory tract infection (URTI): A monocentric, randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial.
29. **Fabris S., Bertelle M., Astafyeva O., Gregoris E., Zangrando R., Gambaro A., Stevanato R. (2013):** Antioxidant properties and chemical composition relationship of Europeans and Brazilians propolis. *Pharmacology et Pharmacy*, 2013(4), 46– 51.
30. **Falcao S. I. D. M. (2014):** Chemical composition of Portuguese propolis bioactive properties (Doctoral dissertation, Universidade do Porto (Portugal)).
31. **Fernandes Júnior A., Balestrin E. C., Betoni J. E. C., Orsi R. D. O., Cunha M. D. L. R. D. S. D., Montelli A. C. (2005):** Propolis: anti-Staphylococcus aureus activity and synergism with antimicrobial drugs. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 100, 563-566.
32. **Gardini S., Bertelli D., Marchetti L., Graziosi R., Pinetti D., Plessi M., et Marazzan G. L. (2018):** Chemical composition of Italian propolis of different ecoregional origin. *Journal of Apicultural Research*, 57, 639– 647.
33. **Gargouri W., Osés S. M., Fernández-Muiño M. A., Sancho M. T., Kechaou N. (2019):** Evaluation of bioactive compounds and biological activities of Tunisian propolis. *LWT*, 111, 328– 336.
34. **Gharbi M. (2011):** Les produits de la ruche : origines - fonctions naturelles - composition propriétés thérapeutiques api thérapie et perspectives d'emploi en médecine vétérinaire. Thèse de Doctorat, Université Claude-Bernard Lyon1.

35. **Graikou K., Popova M., Gortzi O., Bankova V., Chinou I. (2016):** Characterization and biological evaluation of selected Mediterranean propolis samples. Is it a new type?, *LWT - Food Science and Technology*, 65:261–267.
36. **Gregorist E., et Stevanato R. (2010):** Correlations between polyphenolic composition and antioxidant activity of Venetian propolis. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 76– 82.
37. **Hargraves S., Greub G., Jacquier N. (2020):** Peptides antimicrobiens: une alternative aux antibiotiques? *PIPETTE – SWISS LABORATORY MEDICINE* : 14-16.
38. **Huang S., Zhang C. P., Wang K., Li, G., et Hu, F.-L. (2014):** Recent Advances in the Chemical Composition of Propolis. *Molecules*, 19(12), 19610–19632.
39. Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. *Food Research International*, 122, 528– 536.
40. **Julian D., Dorothy D. (2010):** Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiol Mol Biol Rev* 74:417–33.
41. **Kalia A., Preeti N.R., Kumar., Kusum H. (2017):** Synergistic effect of propolis with cefixime against *Salmonella enterica* serovar Typhimurium: An in vitro study : 140-145.
42. **Khezar H. (2013):** Classification of cephalosporin antibiotics. <http://www.medimon.com>.
43. **Kocot J., Malgorzata K., D.L Kocot., J Kurzepa., and I Musik. (2018):** Antioxidant Potential of Propolis, Bee Pollen, and Royal Jelly: Possible Medical Application. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity* ;1-29.
44. **Konate N. A. (2005):** Etude de la prescription et de la dispensation des antibiotiques à l'hôpital Gabriel Touré (Doctoral dissertation, thèse de pharmacie, 2004-2005).
45. **Krell R. (1996):** Value-Added products from beekeeping food and Agriculture Organization of the United Nations. Rome, Italy, FOA Agricultural services, Bulletin: 124.
46. **Krol W., Scheller S., Shani J., Pietsz G., Czuba Z. (1993):** Synergistic effect of ethanolic extract of propolis and anti biotics on the growth of *Staphylococcus aureus*. *Arzneimit tel-forsch.* 43, 607–609.
47. **Kubiliene L., Laugaliene V., Pavilonis A., Maruska A., Majiene D., Barcauskaite K., Savickas A. (2015):** Alternative preparation of propolis extracts: Comparison of

- their composition and biological activities. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15, 156.
48. **Kumazawa S., Nakamura J., Murase M., Miyagawa M., Ahn M.-R., et Fukumoto S. (2008):** Plant origin of Okinawan propolis: honeybee behavior observation and phytochemical analysis. *Naturwissenschaften*, 95(8), 781–786.
 49. **Lagacé-wiens., Rubinstein E. (2012):** Adverse reactions to beta-lactam antimicrobials. *Expert Opinion opinion, on Drug Safety*, 11 (3): 381-399.
 50. **Lagouri V., Prasianaki D., et Krysta F. (2014):** Antioxidant properties and phenolic composition of Greek propolis extracts. *International Journal of Food Properties*, 17, 511– 522.
 51. **Lahouel M. (2005):** Interaction flavonoïdes mitochondrie et rôle de la propolis dans la prévention de l'appose induite par certains médicaments anticancéreux, Thèse de doctorat de l'université Mentouri de Constantine.
 52. **Laskar R.A., Sk I., Roy N., Begum N.A. (2010):** Antioxidant activity of Indian propolis and its chemical constituents. *Food Chem*, 122, 233-237.
 53. **Leandro M., Luis G., Diase, J.A Pereira., L Estevinho. (2008):** Antioxydant properties, total phenol and pollen anlysis of propolis samples from Portugal. *Food and Chemicaltoxicology* 4, 3482 – 3485.
 54. **Marcucci M.C. (1995):** Propolis: chemicalcompostion, biologicalproperties and
 55. therapeuticactivity. *Apidologie*, 26, 83 – 99.
 56. **Marcucci M.C., Ferreres F .,Garcia-Viguera C., Bankova V.S .,De Castro S.L., Dantas A.P., Valente P.H.M., Paulino N. (2001):** Phenolic compounds from Brazilian propolis with pharmlological activities.*Journal of Ethnopharmacology*, 74,105-112.
 57. **Markham K.R. (1982):** Techniques of Flavonoid identification. *Biological Techniques Series*. Ed. Treherne J. E. et Rubery P. H. AcademicPress. 113.
 58. **Meto A., Colombari B., BoarettoG., Pinetti D., Marchetti L.,Benvenuti S.,Pellati F., Blasi E. (2020):** Propolis Affects *Pseudomonas earuginosa* Growth,Biofilm Formation ,DNA Release and Phenazine production :Potential Involvement of Polyphénols *Microorganism*,8(2) :243.
 59. **Mirzoeva O. K., Grishanin R. N., Calder P. C. (1997):** Anti microbial action of propolis and some of its components:the effects on growth, membrane potential and motility of bacteria. *Microbiol. Res.* 152, 239–246.

60. **Mohamed W F. Abu Shad y H M., Sayed - Ahmed E F ., Amer S B A. (2016):** Antibacterial Activity Of Egyptian Propolis And Pollen Extracts And Their Synergistic/Antagonistic Effect With Lactic Acid Bacteria (Lab) Against Food Borne Pathogenic Bacteria.Egypt. J. Exp. Biol. (Bot.), 12(1): 31 – 43.
61. **Mohammadi D. (2016) :** Classification et mode d'action des antibiotiques
62. **Mohammadzadeh S., Shariatpanahi M., Hamed M., Ahmadvaniha R., Samadi N., et Ostad S. N. (2007):** Chemical composition, oral toxicity and antimicrobial activity of Iranian propolis. Food Chemistry, 103(4), 1097–1103.
63. **Mohdaly A. A., Mahmoud A. A., Roby M. H., Smetanska I., et Ramadan M. F. (2015):** Phenolic extract from propolis and bee pollen: Composition, antioxidant and antibacterial activities. Journal of Food Biochemistry, 39, 538– 547.
64. **Mossalayi M. D., Merillon J. M., Micoulet M., Rambert J., et Renouf E. (2013):** P057 Raisin et propolis: activité anti-inflammatoire. Nutrition clinique et métabolisme, (27), S85.
65. **Moudir N. (2004):** Les polyphénols de la propolis algérienne. . Thèse de magister en chimie. Université Mohamed Boudiaf,M'sila.
66. **Mouhoubi-Tafnine Z; Ouchemoukh S; Tamendjari A. (2016):** Antioxydant activity of some algerian honey and propolis .Industrial Crops and Products ,88,85-90.
67. **Nedji N., Loucif-Ayad 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.
68. **Neumann D., Gotze G., et Binus W. (1986):** Clinical study of the testing of the inhibition of plaque and gingivitis by propolis. Stomatologie der DDR: 677-681.
69. **Nina N., Quispe C., Jiménez-Aspee F., Theoduloz C., Feresín G. E., Lima B., Schmeda-Hirschmann G. (2015):** Antibacterial activity, antioxidant effect and chemical composition of propolis from the Región del Maule, Central Chile. Molecules, 20, 18144– 18167.
70. **Oliveira M. S., Cruz J. N., Ferreira O. O., Pereira D. S., Pereira N. S., Oliveira M. E. C., et Andrade E. H. D. A. (2021):** Chemical Composition of Volatile Compounds in Apis mellifera Propolis from the Northeast Region of Pará State, Brazil. Molecules, 26(11), 3462.
71. **Oliveira R. J. H., de Abreu Barreto G., Cerqueira J. C., dos Anjos J. P., Andrade, L. N., Padilha F. F., Souza Machado B. A. (2019):** Evaluation of the antioxidant profile and cytotoxic activity of red propolis extracts from different regions of

- northeastern Brazil obtained by conventional and ultrasound-assisted extraction. PLoS ONE, 14, e0219063.
72. **Ozdal T., Ceylan F. D., Eroglu N., Kaplan M., Olgun E. O., et Capanoglu E. (2019):** Investigation of antioxidant capacity, bioaccessibility and LC-MS/MS phenolic profile of Turkish propolis. Food Research International, 122, 528– 536.
 73. **Papotti G., Bertelli D., Bortolotti, L., et Plessi M. (2012):** Chemical and functional characterization of Italian propolis obtained by different harvesting methods. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 60, 2852– 2862.
 74. **Papotti G., Bertelli D., Plessi M., et Rossi M. C. (2010):** Use of HR-NMR to classify propolis obtained using different harvesting methods. International Journal of Food Science et Technology, 45, 1610– 1618.
 75. **Pasupuleti V R., Sammugam L., Ramesh N., Hua Gan S. (2017):** Honey, Propolis, and Royal Jelly.: A Comprehensive Review of Their Biological Actions and Health Benefits .Oxidative Medicine and Cellular Longevity.
 76. **Pedonese F., Verani G., Torracca, B., Turchi B., Felicioli A., et Nuvoloni R. (2019):** Effect of an Italian propolis on the growth of *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus* and *Bacillus cereus* in milk and whey cheese. Italian Journal of Food Safety, 8(4).
 77. **Plesiat P. (2012):** Biochimie de la résistance. ANTIBIOGRAMME.2: 17-35.
 78. **Pobiega K., Kraśniewska K., Derewiaka D., et Gniewosz M. (2020):** Comparison of the antimicrobial activity of propolis extracts obtained by means of various extraction methods. Journal of Food Science and Technology, 56, 5386– 5395.
 79. **Pobiega K.,Gniewosz M., Kraśniewska K. (2017):** Antimicrobial And Antiviral Properties Of Different Types Of Propolis, Zeszyty Problemowe Postępów Nauk Rolniczychnr, 589:69–79.
 80. **Popova M P., Graikou K., Chinou I., Bankova V S. (2010):** GC-MS Profiling of Diterpene Compounds in Mediterranean Propolis from Greece, Journal of Agricultural and Food Chemistry 2010;58(5).
 81. **Przybulek I., Karpinski T.M. (2019):** Antibacterial Properties of Propolis .Molecules : 44(11);2047.
 82. **Rahal K. (2013):** Les antibiotiques. Office de publications universitaires. Alger. P: 15-47.
 83. **Rani A., Jain S., Dureja P., Kumar A. (2009):** Synergistic interaction between synthetic and natural products: a promising tool for the development of

- environmentally safe potent antimicrobial agents. World Appleid Sciences Journal,(Special Issue Environment): 59-63.
84. **Ratajczak I., Waskiewicz A., Wozniak M., Mrowczynska L., Rogozinski M. (2019):** The role of seasonnality on the chemical composition, antioxydant activity and cytotoxicity of polish propolis in human erythrocytes .Revista Brasileira de Farmacognosia. Res. Int. 54, 532–543.
 85. **Righi A. A., Negri G., Salatino A. (2013):** Comparative chemistery of propolis from Eight Brazilian localities. Evidence-based complementary and alternative medicine.1-14.
 86. **Rodrigues D.M., De Souza M C., Arruda C., Pereira R.A.S., Bastos J .K. (2019):** The Role of Baccharisdracunculifolia and its Chemical Profile on Green Propolis production by apismellifera.Journal of Chemical Ecology,46(2) :150-162.
 87. **Rusheva B., Trunkova D., Bankova V. (2007):** Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. 10.1186/1752-153X-1-13.
 88. **Šabanović M., Saltović S., Avdić-Mujkić A., Jašić M., Bahić Z (2019):** Impact of Propolis on the Oral Healt .Balk J Dent Med : 23(1):1-9.
 89. **Saftić L., Peršurić Ž. Fornal E., Pavlešić T., et Pavelić S. K. (2019):** Targeted and untargeted LC-MS polyphenolic profiling and chemometric analysis of propolis from different regions of Croatia. Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 165, 162–172.
 90. **Saliva B.B., Rosalen P.L., Cury J. A., MasaharuIlkegaki., . Souza V.C., Alencar A. E. M. (2007):** Chemical Composition and Botanical Origin of Red Propolis, a New Type of Brazilian Propolis. Evidence-based Complementary and Alternative Medvine.
 91. **Santos L. M., Fonseca M. S., Sokolonski A. R., Deegan K. R., Araújo R. P. C., UmszaGuez M. A., Machado B. A. S. (2019):** Propolis: Types, composition, biological activities and veterinary product patent prospecting. Journal of the Science of Food and Agriculture.
 92. **Segueni N et Rhouati S. (2011):** Contribution à l'étude de la composition chimique etdes Propriétés biologiques de la propolis. Thèse de Doctorat en Chimie pharmaceutique.Université Mentouri de Constantine.
 93. **Sforcin J. M., Bankova, V., et Kuropatnicki A. K. (2017):** Medical benefits of honeybee products.

94. **Shahbazi Y., et Shavisi N. (2018):** A novel active food packaging film for shelf-life extension of minced beef meat. *Journal of Food Safety*, 38, e12569.
95. **Sheu C.C., Chang Y.T., Lin S.Y., Chen Y.h., Hsueh P.R. (2019):** Infections Caused by Carbapeneme-Resistant Enterobacteriaceae: An Update on Therapeutic Options. *Front. Microbiol.* 10:80.
96. **Shi H., Yang H., Zhang X., et Yu L. (2012):** Identification and quantification of phytochemical composition and anti-inflammatory and radical scavenging properties of methanolic extracts of Chinese propolis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60, 12403– 12410.
97. **Siripatrawan U., Vitchayakitti W., et Sanguandeekul R. (2013):** Antioxidant and antimicrobial properties of Thai propolis extracted using ethanol aqueous solution. *International Journal of Food Science and Technology*, 48, 22– 27.
98. **Skowron K., Kwiecińska-Piróg J., Grudlewska K., Gryń G., Wiktorczyk N., Balcerek M., Gospodarek-Komkowska E. (2020):** Antilisterial activity of polypropylene film coated with chitosan with propolis and/or bee pollen in food models. *BioMed Research International*, 2019(136), 7817063.
99. **Socha R., Galkowska D., Bugaj M., et Juszczak L. (2015):** Phenolic composition and antioxidant activity of propolis from various regions of Poland. *Natural Product Research*, 29, 416– 422.
100. **Soltani E.K., Zerroug M-M. (2017):** Caractérisation et activités biologiques de substances naturelles [ressource textuelle, sauf manuscrits] : cas de la propolis. Thèse de doctorat.Algerie. Université Ferhat Abbas-Setif-1.
101. **Springman AC., Lacher DW., Milton GWN. (2009):** Selection, recombination, and virulence gene diversity among group B streptococcal genotypes. *J Bacteriol* 191(17), 5419-5427.
102. **Stepanović S., Antić N., Dakić I., et amp., Švabić-Vlahović M. (2003):** In vitro antimicrobial activity of propolis and synergism between propolis and antimicrobial drugs. *Microbiological Research*, 158(4), 353–357.
103. **Sun C., Wu Z., Wang Z., et 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, 595393.
104. **Sung S-H., Choi G-H., Lee N-W et Shin B-C. (2017):** External Use of Propolis for Oral, Skin, and Genital Diseases: A Systematic Review and Meta-Analysis.

105. **Surek M., Fachi M. M., Fátima Cobre A., Oliveira F. F., Pontarolo R., Crisma A.R., Felipe K. B. (2021):** Chemical composition, cytotoxicity, and antibacterial activity of propolis from Africanized honeybees and three different Meliponini species. *Journal of Ethnopharmacology*, 269, 113662.
106. **Szliszka E., Sokół-Lętowska A., Kucharska A. Z., Jaworska D., Czub Z. P., et Król W. (2013):** Ethanolic extract of polish propolis: Chemical composition and TRAIL-R2 death receptor targeting apoptotic activity against prostate cancer cells. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 757628.
107. **Tegos G., Stermitz F.R., Lomovskaya O., Lewis K. (2002):** Multidrug pump inhibitors uncover remarkable activity of plant antimicrobials. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 46 (10), 3133-3141.
108. **Teixeira E.W., G Negri., R. M. S. A. Meira., A. Salatino. (2005):** Plant origin of grin propolis : Bee Behavior, Plant Ana Chemistry. *Evidence-based Complementary and Alternative Medvine*.1: 85 – 92.
109. **Toreti V C.,Sato H H., Pastor G M., Park Y K. (2013):** Recent Progress of Propolis for Its biological and Chemical Composition and Its Botanical Origin.*Evidence- Based complementary and alternative Medecine* :1-13.
110. **Tosi E.A.,Ciappini M. C.,Cazzollia A. F .,Tapiz L.M. (2006):** Physico chemical characteristics of propolis collected in santa Fe (argentine).*APIACTA* 41 P.110-120.
111. **Touzani S., Al-Waili N., El Menyiy N., Filipic B., Pereyra A., El Arabi I., Al-Waili W et Lyoussi B. (2018):** Chemical analysis and antioxidant content of various propolis samples collected from different regions and their impact on antimicrobial activities. *Asian Pacific Journal of Tropical Medecine*, 1,634.
112. **Touzani S., Al-Waili N., El Menyiy N., Filipic B., Pereyra A., EL Arabi I., Al-Waili W., Lyoussi B. (2018):** Chemical analysis and antioxidant content of various propolis samples collected from different regions and their impact on antimicrobial activities.*Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*,11(7) :436-442.
113. **Touzani S., Embaslat W., Imtara H., Kmail A., Kadan S., Zaid H., Saad B. (2019):** In vitro evaluation of the potential use of propolis as a multitarget therapeutic product: Physicochemical properties, chemical composition, and immunomodulatory, antibacterial, and anticancer properties. *BioMed Research International*, 4836378.

114. **Trusheva B., Trunkova D., Bankova V. (2007):** Different extraction methods of biologically active components from propolis: a preliminary study. 10.1186/1752-153X-1-13.
115. **Valenzuela-Barra G., Castro C., Figueroa C., Barriga., Silva X., Heras B., Hortelano S., Delporte C. (2015):** Anti inflammatory activity and phenolic profile of propolis from two location in Region Metropolitana de Santiago, Chile .Journal of Ethnopharmacology : 168 :37-44.
116. **Van Bambeke F., Tulken. (2008):** Pharmacologie et Pharmacothérapie Anti-infectieuse.Unité de Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire Université catholique de Louvain: 202p.
117. **Velazquez C., Navarro M., Acosta A., Angulo A., Dominguez Z., Robles R, Robles-Zepeda R., Lugo E., Goycoolea F.M .,Velazquez E.F., Astiazaran H et Hernandez J. (2007):** Antibacterial and free-radical scavenging activities of Sonoran propolis. Journal of Applied Microbiology, 103, 1747–1756.
118. **Velikova M., Bankova V., Sorkunb K., Houcinec S., Tsvetkovad L., A kujumgiev. (2000):** Propolis from the Mediterranean Region :Chemical Composition and Antimicrobial Activity.Z.Naturforsch,55(9-10) :790-793.
119. **Wali A.F., Mushtaq A., Rehman M.U., Akbar S., Masoodi M.H. (2017):** Bee propolis (Bee’s Glue) :A Phytochemistry Review .Journal of Critical Reviews , 4(4) :9-13.
120. **Wang X., Sankarapandian K., Cheng Y., Kwon H.W., Perumalsamy H., Ahn Y.J. (2016):** Relationship between total phenolic contents and biological properties of propolis from 20 different regions in South Korea. BMC Complementary and Alternative Medicine, 16, 65.
121. **Yang H., Dong Y., Du H., Shi H., Peng Y., et Li X. (2011):** Antioxidant compounds from propolis collected in Anhui, China. Molecules, 16, 3444– 3455.
122. **Žižić J. B., Vuković N. L., Jadranin M. B., Andelković B. D., Tešević V. V., Kacaniova M. M., Marković S. D. (2013):** Chemical composition, cytotoxic and antioxidative activities of ethanolic extracts of propolis on HCT-116 cell line. Journal of the Science of Food and Agriculture, 93, 3001– 3009.

Références webographie

1. www.propolia.com
2. www.naturatopia.fr

3. www.antibioresponsable.fr/antibiotherapie/-/media/5387F321-0D8B-4DA2-AF07-7EA899E69F37
4. www.medimon.com